

REPUBLIQUE Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCCEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de BIOLOGIE



MÉMOIRE

Présenté par

**Lakehali Ikram
Ould Ali Fatiha**

En vue de l'obtention du diplôme de master

En Nutrition et Diététique

Thème

**Etude in silico des propriétés biologiques de quatre stéroïdes
identifiés dans la plante *Anabasis articulata***

Soutenu le 26/06/2023, devant le jury composé de :

| | | | |
|--------------|---------------------------------|---------|-----------------------|
| Président | Mr. Cherrak Sabri | MCA | Université de Tlemcen |
| Co-Encadrant | Mr. Nehar Benameur | MCA | Université de Tlemcen |
| Examinatrice | Mme Mansouri Hadjer | Docteur | Université de Tlemcen |
| Encadrant | Mme Belyagoubi-Benhammou Nabila | Pr. | Université de Tlemcen |

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

*Nous remercions tout d'abord **Allah** tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé, la volonté et le courage durant ces longues années d'études et pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer nos profonds respects et nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Mme **Belyagoubi-Benhammou Nabila**, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour la confiance qu'elle nous a accordées et son aide lors de la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à remercier le président du jury monsieur **Cherrak Sabri**, Maître de Conférences Classe A à l'Université de Tlemcen qui m'a fait l'honneur d'avoir bien accepté de juger notre travail.*

*Nous exprimons nos remerciements les plus chaleureux et fraternels à l'examineur Mme **Mansouri Hadjer**, Docteur à l'Université de Tlemcen, pour m'avoir dirigé tout le long de la réalisation de ce travail. Ainsi que pour les remarques constructives qu'elle nous adresse à fin d'améliorer notre domaine de recherche.*

*Nous tenons aussi à remercier Mr **Nehar Benameur**, Maître de Conférences Classe A à l'Université de Tlemcen, pour votre bienveillance envers nous tout au long de l'élaboration de ce mémoire.*

*Ainsi que **nos enseignants**, espérons que vous allez voir, dans ce manuscrit, les fruits du dévouement avec lequel vous avez fait preuve durant les enseignements que vous nous avez prodigué.*

Dédicace

Merci Allah de m'avoir donnée la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et dire

« الحمد لله »

Je dédie ce travail :

À mes parents qui m'ont soutenue dans mes études pour leurs encouragements, amour, sacrifices, tendresse, la confiance et la sécurité.

A ma chère sœur khira et mon cher frère Abdellah de m'avoir supportée tout au long de mes études.

À toute ma famille

À toutes mes amies

Je présente mes remerciements à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin tout au long de mon cursus.

Ikram

Dédicace

C'est grâce à dieu « الله » le tout puissant qui m'a donné le courage et la volonté

Pour achever ce travail que je dédie :

A mes parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour,

Leurs précieux conseils, leur tendresse, leur soutien et leurs prières

*Tout au long de mes études pour toute leur assistance et leur présence dans ma
vie.*

A mon très cher époux « AMAR » qui m'a soutenu.

J'espère qui sera fière de moi.

A mes sœurs AMINA, ZINEBE EL-BATOUL et FATIMA EL-ZOHRA, Merci

pour votre soutien sans faille et permanent

*A mes frères SIDI MOHAMED EL-AMINE et ABD SAMAD mes petits-
enfants. Que dieu vous protège.*

Mes grands-parents, à tous mes amies et ma famille.

Fatiha

ملخص

من أجل التحايل على حدود الفحص التجريبي ، تم النظر في طريقة بديلة جديدة تعتمد بشكل أساسي على تكنولوجيا الكمبيوتر: الفحص الافتراضي عن طريق الالتحام الجزيئي. يمكن لهذه الطريقة نمذجة التفاعلات بين البروتينات وآلف الجزيئات المرشحة. في عملنا ، كنا مهتمين بدراسة السيليكو لأربعة أنشطة مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات ومضادة للسرطان والتتكس العصبي بواسطة أربعة جزيئات من نوع الستيرول تم تحديدها في نبات *Anabasis articulata* (Forsk.) Moq. ، وهي كوليستانول وبيتا سيتوستيرول وستيغماستيرول و 26 هيدروكسي كوليسترول لوحظت نتائج جيدة للمركبات الأربعة على الأساليب النظرية التالية: محاكاة الالتحام الجزيئي ، التحليل البصري ، التنبؤ بمعلمات حركية الدواء والخصائص الفيزيائية والكيميائية TADME ، وتطبيق قواعد الميل للدواء

الكلمات المفتاحية

Anabasis articulata ، ستيرول ، الالتحام الجزيئي ، الأنشطة البيولوجية ، ADMET .

Résumé

Afin de contourner les limites du criblage expérimental, une nouvelle méthode alternative basée principalement sur la technologie informatique a été envisagée le criblage virtuel par docking moléculaire. Cette méthode peut modéliser les interactions entre les protéines et des milliers de candidats moléculaires. Dans notre travail, nous nous sommes intéressées par l'étude *in silico* de quatre activités antioxydante, anti-inflammatoire, anti-cancéreuse et neurodégénérative par quatre molécules types stérols identifiées dans la plante *Anabasis articulata* (Forssk) Moq., qui sont le cholestanol, le β -sitostérol, le stigmastérol et le 26-hydroxycholestérol.

Des bons résultats ont été observés pour les quatre composés sur les approches théoriques suivantes : la simulation docking moléculaire, l'analyse visuelle, la prédiction des paramètres pharmacocinétique ADMET et des propriétés physico-chimiques, et application des règles drug-likeness.

Mots clés : *Anabasis articulata*, Stérols, Docking moléculaire, Activités biologiques, ADMET.

Abstract

In order to circumvent the limits of experimental screening, a new alternative method based mainly on computer technology has been considered virtual screening by molecular docking. This method can model the interactions between proteins and thousands of molecular candidates. In our work, we were interested in the in-silico study of the four activities antioxidant, anti-inflammatory, anti-cancer and neurodegenerative of four sterol-type molecules identified in the plant *Anabasis articulata* (Forssk) Moq., namely cholestanol, β -sitosterol, stigmasterol and 26-hydroxycholesterol.

Good results were observed for all four compounds on the following theoretical approaches: Molecular docking simulation, visual analysis, prediction of ADMET pharmacokinetic parameters and physicochemical properties, and application of drug-likeness rules.

Keywords: *Anabasis articulata*, Sterols, biological activities, Molecular docking, ADMET.

Table des matières

| | |
|--|----|
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des abréviations | |
| Partie 1 : Généralité | 1 |
| Partie 2 : Matériel et méthodes | 6 |
| 1. Matériel | 7 |
| 1.1. Matériel biologique | 7 |
| 1.2. Microordinateur..... | 7 |
| 1.3. Outils informatiques | 8 |
| 1.4. Les banques des données..... | 9 |
| 1.5. Admetlab 2.0 | 10 |
| 2.Méthode..... | 10 |
| 2.1. Préparation des récepteurs..... | 10 |
| 2.1.1. Xanthine oxydase (XO)..... | 10 |
| 2.1.2. Le Cyclooxygenase-2 (COX-2) | 11 |
| 2.1.3. Estrogène | 11 |
| 2.1.4. L'acétylcholinestérase (AChE) | 12 |
| 2.2. Préparation des ligands..... | 13 |
| 2.3. Grid Box | 14 |
| 2.4. Analyse visuelle | 15 |
| 2.5. Méthodes d'évaluation in silico des propriétés ADMET | 16 |
| 2.5.1. Propriétés physico-chimiques | 16 |
| 2.5.2. Les paramètres pharmacocinétiques ADMET | 17 |
| Partie 3 : Résultats et discussion | 22 |
| 1. Résultats | 23 |
| 1.1. Docking moléculaire | 23 |
| 1.1.1. Étude des interactions Ligands-Xanthine oxydase..... | 23 |
| 1.1.2. Étude des interactions Ligands-COX-2..... | 28 |
| 1.1.3. Étude des interactions Ligands-Estrogène | 33 |
| 1.1.4. Étude des interactions Ligands-Acétylcholinestérase | 37 |
| 1.2. Etude des propriétés ADMET | 41 |
| 1.2.1. Propriété physico-chimique..... | 41 |

| | |
|--|-----------|
| 1.2.2. Les propriétés pharmacocinétiques | 42 |
| 2. Discussion | 46 |
| Partie 4 : Conclusion et perspectives | 47 |
| Références bibliographiques | 49 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 01 : Structure des stérols identifiée dans l'extrait riche en stérols de <i>A. articulata</i> | 2 |
| Figure 02 : Représentation schématique des étapes du docking moléculaire | 4 |
| Figure 03 : La plante <i>Anabasis articulata</i> (Forssk.) Moq..... | 7 |
| Figure 04 : Capture d'écran de UCSF Chimera | 8 |
| Figure 05 : Capture d'écran de logiciel BIOVIA Discovery studio..... | 8 |
| Figure 06 : Capture d'écran de la page web de la base de données RCSB..... | 9 |
| Figure 07 : Capture d'écran de la page web de la base de données PubChem | 9 |
| Figure08 : Capture d'écran de la page web de ADMETlab.2.0..... | 10 |
| Figure09 : Structure 3D de 1FIQ | 11 |
| Figure 10 : Chaîne C du la 1FIQ..... | 11 |
| Figure 11 : Structure 3D de 1CVU | 11 |
| Figure 12 : Chaîne B de1CVU | 11 |
| Figure 13 : Structure 3D de 3CBM | 12 |
| Figure 14 : Chaîne A de 3CBM | 12 |
| Figure 15 : Structure 3D de 1EVE | 12 |
| Figure 16 : Chaîne A de 1EVE..... | 12 |
| Figure 17 : Structure 3D des stérols | 14 |
| Figure 18 : GRID BOX de 1FIQ..... | 15 |
| Figure 19 : GRID BOX de 1CVU..... | 15 |
| Figure 20 : GRID BOX de 3CBM | 15 |
| Figure 21 : GRID BOX de 1EVE | 15 |
| Figure 22 : Différents paramètres ADMET | 16 |
| Figure 23 : Les interactions entre le site actif de la 1FIQ et le ligand de référence (MTE)..... | 25 |
| Figure 24 : Les interactions entre le site actif de la 1FIQ et le cholestanol | 26 |
| Figure 25 : Les interactions entre le site actif de la 1FIQ et le 26-hydroxycholesterol | 27 |
| Figure 26 : Les interactions entre le site actif de la 1FIQ et le Stigmastérol | 27 |
| Figure 27 : Les interactions entre le site actif de la 1CVU et le ligand référence (ACD) | 30 |
| Figure 28 : Les interactions entre le site actif de la 1CVU et le cholestanol | 31 |
| Figure 29 : Les interactions entre le site actif de la 1CVU et le β Sitostérol | 31 |
| Figure 30 : Les interactions entre le site actif de la 1CVU et le 26-hydroxycholesterol | 32 |

| | |
|---|----|
| Figure 31 : Les interactions entre le site actif de la 3CBM et le ligand de référence (SAH)..... | 34 |
| Figure 32 : Les interactions entre le site actif de 3CBM et le 26-hydroxycholesterol..... | 35 |
| Figure 33 : Les interactions entre le site actif de 3CBM et le stigmastérol | 36 |
| Figure 34 : Les interactions entre le site actif de 3CBM et le β Sitostérol | 36 |
| Figure 35 : Les interactions entre le site actif de 3CBM et le cholestanol..... | 37 |
| Figure 36 : Les interactions entre le site actif de 1EVE et le ligand référence (E20)..... | 40 |
| Figure 37 : Les interactions entre le site actif de 1EVE et le β Sitostérol..... | 40 |
| Figure 38 : Les interactions entre le site actif de 1EVE et le stigmastérol | 41 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 01 : Les caractéristiques des cibles affirmées par la base de données PDB | 13 |
| Tableau 02 : les identifiants des ligands testés | 13 |
| Tableau 03 : Paramètres de GRID Box..... | 14 |
| Tableau 04 : Formes Canonique Smilles des ligands testées..... | 17 |
| Tableau 05 : Les critères des règles drug-likness | 17 |
| Tableau 06 : Les paramètres pharmacocinétiques correspondant à l'absorption..... | 19 |
| Tableau 07 : Les paramètres pharmacocinétiques correspondant à la distribution | 20 |
| Tableau 08 : Les paramètres pharmacocinétiques correspondant au métabolisme | 20 |
| Tableau 09 : Les paramètres pharmacocinétiques correspondant à l'excrétion..... | 21 |
| Tableau 10 : Les paramètres pharmacocinétiques correspondant à la toxicité..... | 21 |
| Tableau 11 : Résultats de docking moléculaire des inhibiteurs avec 1FIQ | 23 |
| Tableau 12 : les liaisons établissent par le ligand de référence, et les meilleurs inhibiteurs avec le site actif de la 1FIQ..... | 24 |
| Tableau 13 : Résultats de docking moléculaire des inhibiteurs avec 1CVU | 28 |
| Tableau 14 : les liaisons établissent par le ligand de référence et les meilleurs inhibiteurs avec le site actif de la 1CVU | 28 |
| Tableau 15 : Résultats de Dockings moléculaires des inhibiteurs avec l'estrogène..... | 32 |
| Tableau 16 : les liaisons établissent par le ligand de référence et les meilleurs inhibiteurs avec le site actif de la 3CBM..... | 33 |
| Tableau 17 : Résultats de Dockings moléculaires des inhibiteurs avec l'acétylcholinestérase.. | 38 |
| Tableau 18 : les liaisons établissent par le ligand de référence, stigmastérol et le β Sitostérol avec le site actif de la 1EVE..... | 38 |
| Tableau 19 : Résultats des propriétés physico-chimiques | 42 |
| Tableau 20 : Résultats de l'absorption..... | 42 |
| Tableau 21 : Résultats de la distribution..... | 43 |
| Tableau 22 : Résultats de Métabolisme | 44 |
| Tableau 23 : Résultats de l'excrétion..... | 45 |
| Tableau 24 : Résultats de Les résultats de la toxicité | 45 |

Liste des abréviations

2D : Deux dimensions.

3D : Trois dimensions.

Å : Angström.

AA : Acide amine.

AChE : l'acétylcholinestérase.

ADMET : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité.

AO : les agents oxydants.

BBB : La barrière hémato-encéphalique.

Caco-2 : Adénocarcinome du côlon humain.

CYP : Cytochrome P.

COX-2 : cyclooxygénase-2.

ER : récepteurs d'œstrogènes.

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

HERG : Le gène humain lié à l'éther-a-go-go.

F% : La biodisponibilité orale.

HIA : Absorption intestinale humaine.

Kcal : Kilocalorie.

LogP : Coefficient de partage.

MW : Poids moléculaire.

NCBI : National Center for Biotechnology Information.

PDB : Protein Data Bank.

PPB : La liaison aux protéines plasmatiques humaines.

PM: Poids moléculaire.

RCSB: Research Collaboratory for Structural Bioinformatics.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

RMSD : RootMean Square Deviation.

SDF : Surface Data File.

SNC : Système nerveux central.

SERD : dégradateurs sélectifs des récepteurs d'œstrogènes.

SERM : modulateurs sélectifs des récepteurs d'œstrogènes.

TPSA: Topological polar surface area.

VD : Volume de distribution.

Partie 1

« Généralités »

L'Algérie est un pays reconnu pour ses ressources naturelles, notamment sa flore extrêmement riche et variée. Avec environ 3000 espèces de plantes provenant de différentes familles botaniques, dont 15% sont endémiques, elle dispose d'une biodiversité exceptionnelle (**Naili, 2016**). Les recours fréquents des études ethnobotaniques en Algérie mentionnent de nombreuses plantes dont les plus citées sont les Astéracées, les Lamiacées, Amaranthacées (**Hamza et al., 2019**). Cette dernière comprend plus de 800 espèces réparties en, environ, 75 genres, généralement leurs espèces contiennent des annuelles, des arbustes et des plantes vivaces (**Kadereit et al., 2003**), ils sont parmi les familles représentées au Sahara septentrional algérien et plus précisément dans la région du Sud-Est (**Houari et al., 2013**). *Anabasis articulata* et *Artemisia herba-alba-asso* sont parmi les plantes qui présentent les meilleures preuves d'utilisation et d'activité (**hamza et al., 2019**).

A. articulata (Forssk) Moq nommée localement comme «Ajrem» se trouve principalement dans le désert algérien et dans les régions de l'est du pays (**Belyagoubi-Benhammou et al., 2019**). Elle représente un moyen efficace de traitement de plusieurs maladies chez l'homme, telles que le diabète, les infections rénales, la fièvre, les maux de tête et les maladies de la peau telles que l'eczéma (**Hammiche et Maiza, 2006**). Elle est consommée par voie orale, après avoir été décoctée dans de l'eau, soit comme une seule plante, soit en combinaison avec d'autres plantes médicinales (**Ben Menni et al., 2022**).

Le criblage phytochimique d'*A. articulata* a montré l'existence des métabolites secondaires notamment les saponines, les coumarines, les flavonoïdes, les composés phénoliques, les alcaloïdes ou composés azotés, les tanins (**Eman 2011 ; Benhammou et al., 2013 ; Mohammed et al., 2013 ; Ghembaza et al. 2016**). Par ailleurs, 49 alcaloïdes appartenant à 16 classes ont été isolés et identifiés (**Belyagoubi-Benhammou et al., 2019**). Cependant, les saponines sont les plus abondantes (1.3%) dans cette espèce végétale, qui ont été détectées dans cette halophyte pour la première fois il y a plus de cinquante ans (**Segal et al., 1969 ; Eman, 2011 ; Mroczek, 2015**). À cet égard, (**Metwally et al., 2012**) ont démontré que les fractions de saponine de l'extrait éthanolique de cette plante ont un effet bénéfique sur le contrôle de la glycémie et jouent un rôle de principe dans la prévention de différents troubles métaboliques et des lésions hépatiques causés par l'hyperglycémie. Par ailleurs, **Mohammed et al. (2013)** ont rapporté que les parties aériennes d'*A. articulata in vivo* ont des effets hépatoprotecteurs et thérapeutiques contre les lésions hépatiques induites par le DMN, en supprimant le stress oxydatif grâce à sa teneur élevée en saponines.

L'étude menée par **Ben Menni et al. (2022)** ont démontré que cette espèce végétale contient quatre stérols (cholestanol, β -sitostérol, stigmastérol et 26-hydroxycholestérol) (**Figure 01**),

qui jouent un rôle important dans les processus et développement cellulaires. Ils sont aussi de précurseurs à une grande variété de métabolites secondaires, notamment les glycoalcaloïdes et les saponine (Benveniste, 1986).

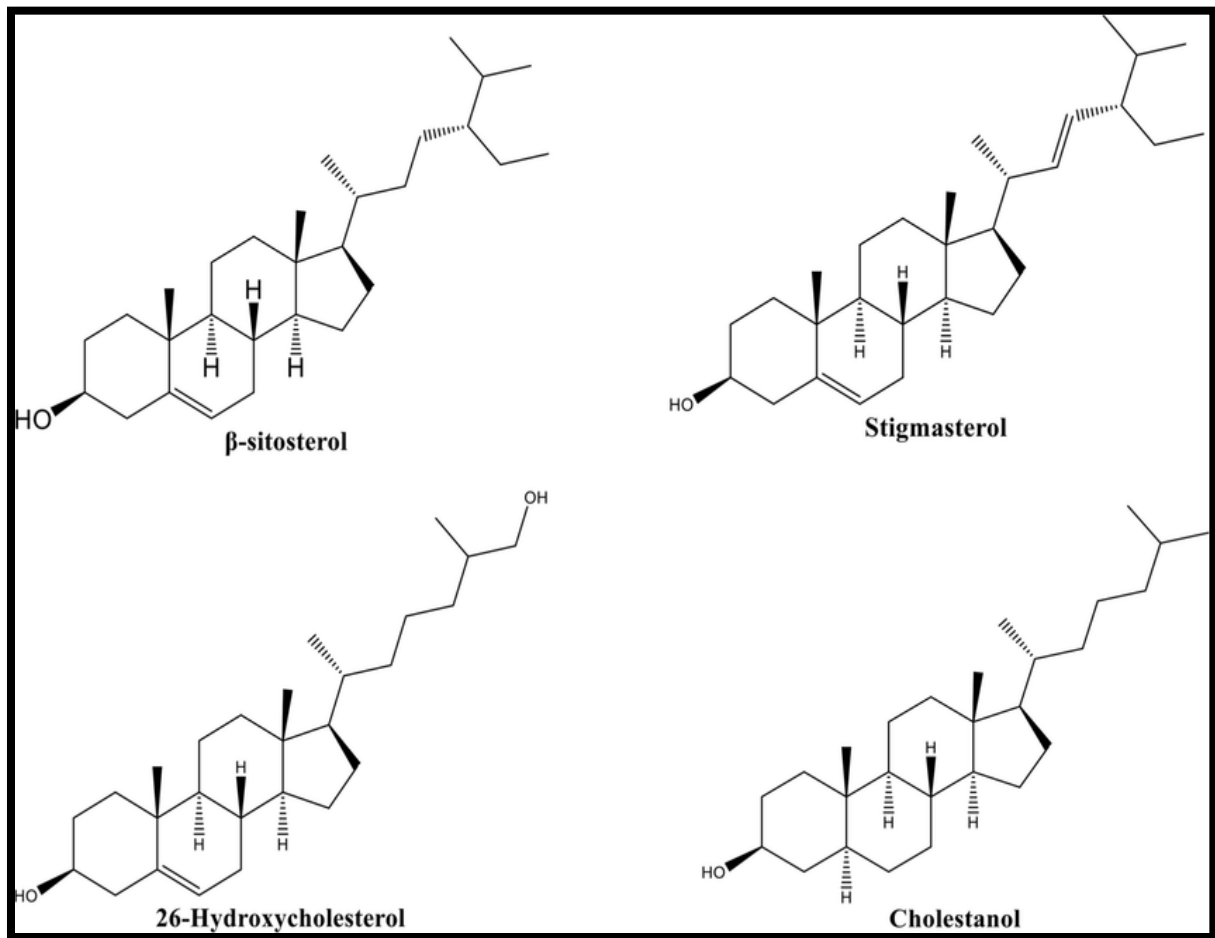


Figure01 : Structure des stérols identifiée dans l'extrait riche en stérols d'*A. articulata* (Ben Menni, 2022).

Les phytostérols peuvent exercer un grand nombre de propriétés pharmacologiques y compris les effets anti-obésités, antidiabétiques, antimicrobiens, anti-inflammatoires, immunomodulateurs et contre la maladie d'Alzheimer. De plus, des effets anticancéreux ont été fortement suggérés, car les régimes riches en phytostérols peuvent réduire le risque de cancer de 20 % (Li et al., 2022 ; Nattagh-Eshtivani et al., 2022).

Comme antioxydant, il s'agit d'un agent qui ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation en neutralisant des radicaux libres (Hadri, 2015). Dans l'organisme, la respiration cellulaire génère des espèces réactives de l'oxygène qui peuvent être à l'origine de radicaux libres. L'excès de ces espèces est responsable de dommages cellulaires, notamment sur l'ADN en produisant l'apparition de plusieurs maladies (Valko et al., 2007). À l'inverse, les antioxydants luttent contre le stress oxydatif responsable du vieillissement cellulaire. Ils

auraient donc un effet anti-âge (**Chidi et al., 2020**). Les nombreuses thérapies ont proposé l'inhibiteur de la xanthine oxydase (XO) qui a été identifié pour la première fois par Schardinger en 1902 dans le lait bovin (**Pacher et al., 2006**). Cette enzyme est importante dans la voie du catabolisme des purines. Elle a été associée directement à la pathogenèse de la goutte et indirectement à de nombreuses conditions pathologiques comme le cancer et le diabète (**Malik et al., 2019**).

Concernant l'inflammation, elle est impliquée dans de nombreux processus pathologiques de différentes maladies, mais les thérapies actuelles ont des effets indésirables. Il existe donc un grand intérêt pour la découverte de saponine en tant qu'alternative valable aux agents analgésiques et anti-inflammatoires classiques avec une double action inhibitrice, en particulier sur la Cyclooxygénase-2(COX-2), qui peut minimiser ou surmonter ce problème (**Muhd et al., 2022**).

A propos du cancer particulièrement le cancer du sein, il possède des récepteurs d'œstrogènes positifs (ER+) formant approximativement 75 % de la totalité des cancers du sein diagnostiqués (**Patel et Bihani, 2018**). Le traitement du cancer de sein consiste le plus fréquemment à l'utilisation d'un certain nombre de méthodes complémentaires pour assurer la guérison ou contrôler la tumeur, cela montre que le traitement dépend du type de cancer (**Clere, 2016**). Dans le cas des récepteurs hormonaux du cancer du sein sont positif (+), on administre l'antagonisation directe de l'ER par l'utilisation de modulateurs sélectifs des récepteurs d'œstrogène (SERM) sont de nouveaux ligands des récepteurs aux œstrogènes cela veut dire entrent en compétition avec les œstrogènes en prenant place au niveau récepteurs hormonaux (**Sweety et al., 2022**). Et de dégradateurs sélectifs des récepteurs hormonaux d'œstrogènes (SERD), agissent sur les récepteurs hormonaux des cellules les inhibent et empêchent de cette façon les œstrogènes d'exercer leur effet sur les cellules cancéreuses (**Fanning et al., 2018**).

Une autre pathologie, l'Alzheimer présente une maladie neuro-dégénérative constituant un large éventail de troubles neurologiques, avec des expressions pathologiques et cliniques hétérogènes. Elle se caractérise par une perte progressive et inexorable de neurones, provoquée par des raisons inconnues (**Castellani et al., 2010**). Les nombreuses thérapies proposées à l'heure actuelle dans cette maladie, telles que les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE) permettraient d'améliorer de façon modérée les performances cognitives chez des patients atteints de formes légères à moyennement graves de la maladie d'Alzheimer (**Serseg, 2021**).

Les études menées ces dernières années dans le domaine de la biologie ont suscité un intérêt particulier pour la modélisation moléculaire *in silico*, qui permet à la recherche de nouvelles molécules biologiques thérapeutiques plus rapide et pour un coût bien moindre que les criblages expérimentaux (Sellami, 2022). Elle est basée sur l'outil informatique, de la bio-informatique et particulièrement d'amarrage moléculaire « Docking » (Hoffer, 2013). Le but essentiel de cette dernière détermine le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur (Bou-Salah, 2021). Le récepteur macromoléculaire étant généralement une protéine et le ligand est une petite molécule (Grosdidier, 2007).

Il existe trois types de docking : rigide (la cible et le ligand sont traités comme des objets rigides), semi-flexible (une seule molécule est considérée comme flexible) (Agarwal et Ranjana, 2016), et flexible (les deux molécules sont considérées comme flexibles) (Mokrani, 2012).

La simulation de docking comprend deux étapes fondamentales (Figure 02), la première est celle de docking, est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la cible et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables. Le scoring est la deuxième étape de classement, qui estime la puissance d'interaction et l'affinité de liaison entre deux molécules après avoir été passées par l'étape de docking (Kitchen et al., 2004).

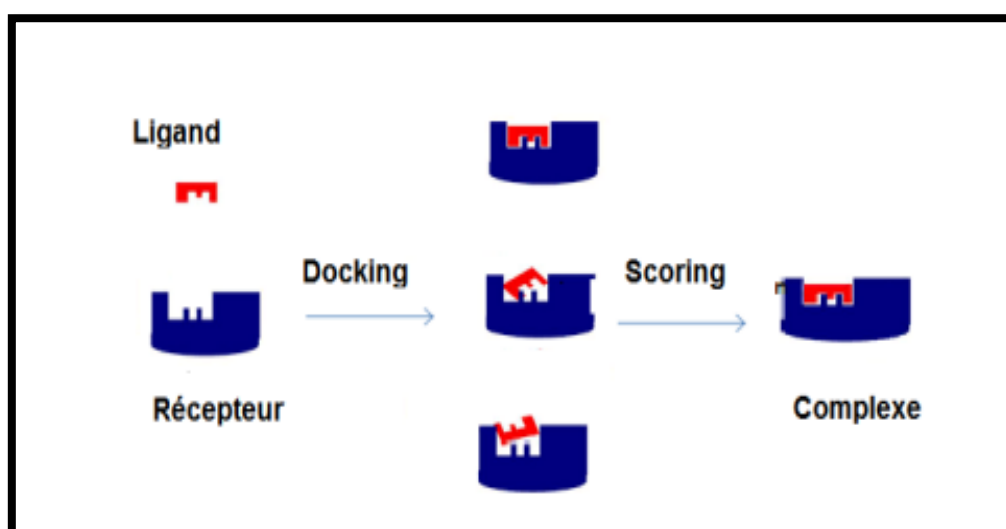


Figure 02 : Représentation schématique des étapes du docking moléculaire (Dekkiche et Benaïche, 2018).

Au cours de la recherche et du développement des nouveaux médicaments, il faut tenir compte de tous les processus que le nouveau médicament (dans une formulation spécifique) subira après administration aux patients. La discipline qui étudie les processus d'ADMET est la pharmacocinétique (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et la toxicité), elle s'occupe de décrire le devenir d'un médicament au cours du temps, à travers le suivi de sa concentration dans l'organisme, depuis son administration jusqu'à son élimination (**Fontana, 2005**).

Dans ce contexte, notre objectif de cette étude est d'identifier des molécules inhibitrices des quatre cibles choisies afin de sélectionner un algorithme de recherche et une fonction de score pour un éventuel criblage virtuel basé sur le docking. Les ligands retenus sont des molécules de type stéroïdes à savoir le cholestanol, le β -sitostérol, le stigmastérol et le 26-hydroxycholestérol, et les activités biologiques sélectionnées sont antioxydante, anti-inflammatoire, anti-cancéreuse et neurodégénérative.

Notre travail est divisé en trois parties, présentées comme suit :

- La première partie concerne les informations relatives à notre thème, sous le titre généralités.
- La deuxième partie de ce document intitulée matériel et méthodes présente les méthodes choisies pour l'étude *in silico* ainsi que le matériel utilisé.
- La troisième partie qui présente et traite les résultats qui ont été obtenus au cours de cette recherche intitulée résultats et discussion, suivie par une conclusion générale et les perspectives.

Partie 2

« Matériel et méthodes »

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

La plante étudiée dans ce travail est celle d'*A. articulata* (**Figure 03**). C'est un arbuste saharienne sauvage, endémique et halophile. Elle mesure 20 à 40cm et est reconnaissable à sa couleur vert bleuté très clair. Les rameaux articulés et presque sans feuilles, pendant les périodes de grande sécheresse, sont morts et tombent au pied de la plante. Les feuilles opposées, ont une partie libre très courte, obtuse ou terminée par une pointe blanchâtre. Les fleurs blanches rosées sont isolées à l'aisselle de chaque feuille. Le fruit est entouré de trois ailes dues à la dilatation de trois de ces sépales (**Ozenda, 2004**).



Figure 03 : La plante *Anabasis articulata* (Forssk.) Moq (**Hadri, 2015**).

1.2. Microordinateur

Dans notre étude, nous avons utilisé deux micro-ordinateurs. Les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 10.

1.3. Outils informatiques

Nous avons utilisé les logiciels suivants

- **UCSF Chimera (1.14)** : est un logiciel très évolutif pour la visualisation et pour l'analyse interactive de structures des molécules et de leurs données. Il comprend une documentation complète et plusieurs tutoriels (**Rao et al., 2022**).

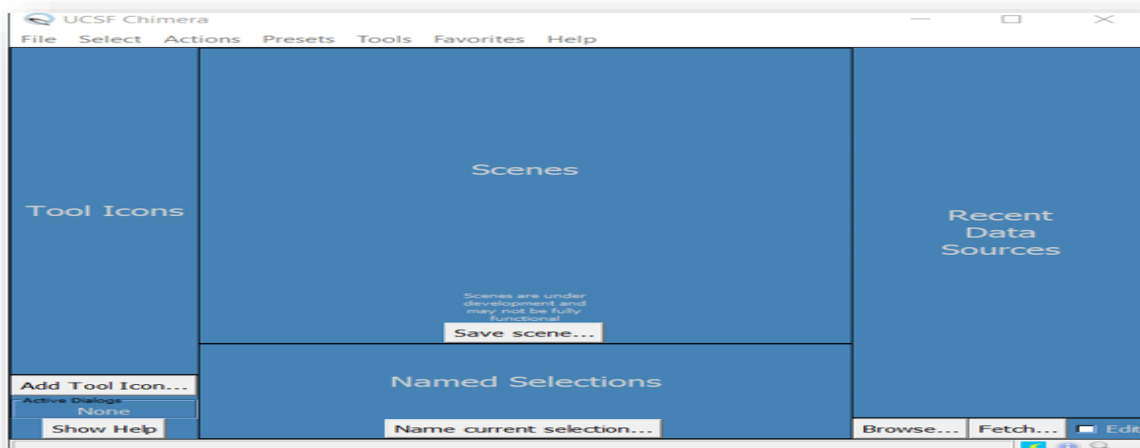


Figure 04 : Capture d'écran de UCSF Chimera.
 (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>)

- **AutoDock vina :** est une nouvelle version du logiciel d'accueil du MGL (Molecular Graphics Laboratory). Il ne nécessite pas de choisir des types d'atomes et de précalculer les cartes de grilles pour ceux-ci. Au lieu de cela, il calcule les grilles en interne, pour les types d'atomes requis, et ce pratiquement instantanément (**Martz, 2014**).
- **Discovery Studio Visualizer :** est un logiciel de solution de conception moléculaire biologique pour les chimistes et les biologistes computationnels qui simplifie l'examen des propriétés des molécules. De plus, il a été utilisé pour générer les diagrammes 2D des interactions de chaque ligand avec la cible enzymatique (**Jamel et al., 2012**).

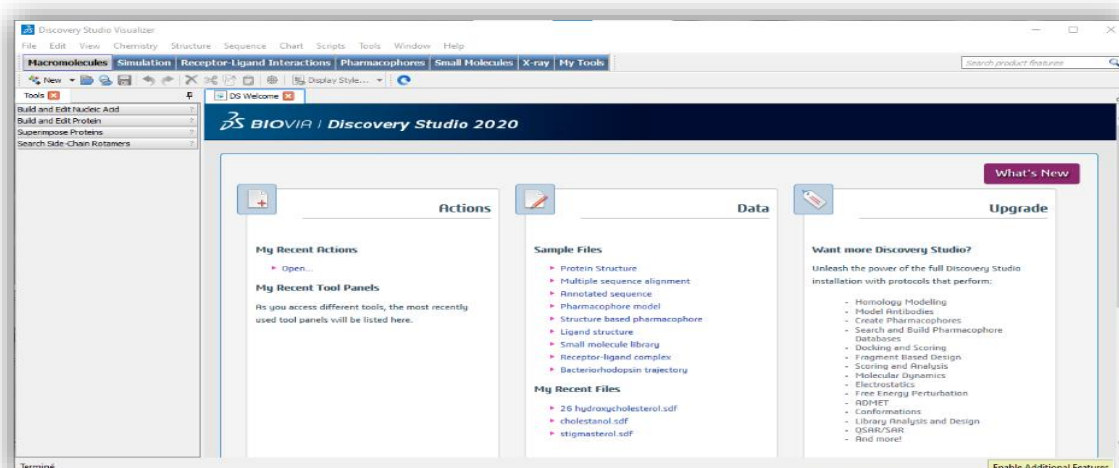


Figure 05 : Capture d'écran de logiciel BIOVIA Discovery Studio.

1.4. Banques des données

➤ La banque de données protéiques (PDB)

La banque de données protéiques RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics), plus communément appelée PDB (Protein Data Bank). Cette base de données est un répertoire mondial de dépôt d'informations sur la structure tridimensionnelle des protéines (enzymes) cibles. Ces structures sont principalement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN (Gore *et al.*, 2017)

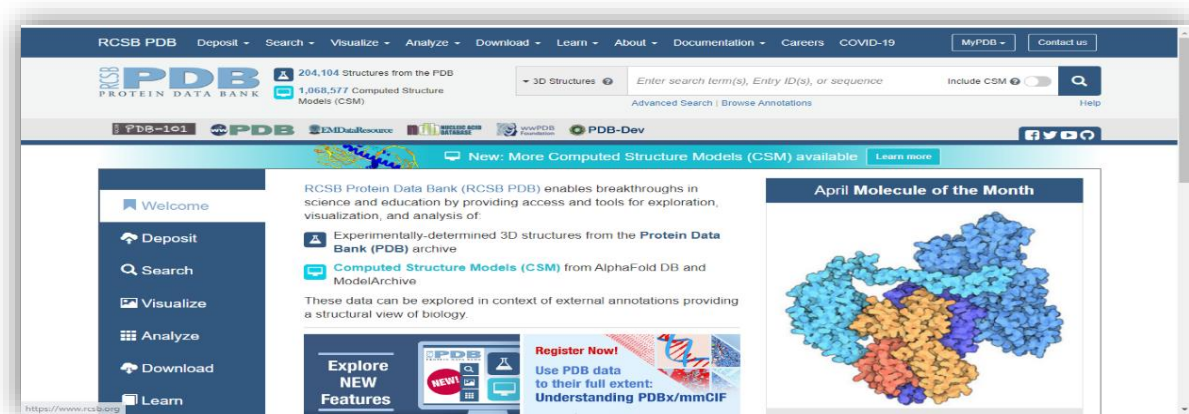


Figure 06 : Capture d'écran de la page web de la base de données RCSB. (<https://www.rcsb.org/>).

➤ Pubchem

Pubchem est une base de données créée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI) qui contient principalement plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques sont gratuitement accessibles. Cette banque a été utilisée pour faire ressortir des similaires structuraux du ligand utilisé dans cette étude de petites molécules (Capecech *et al.*, 2019).

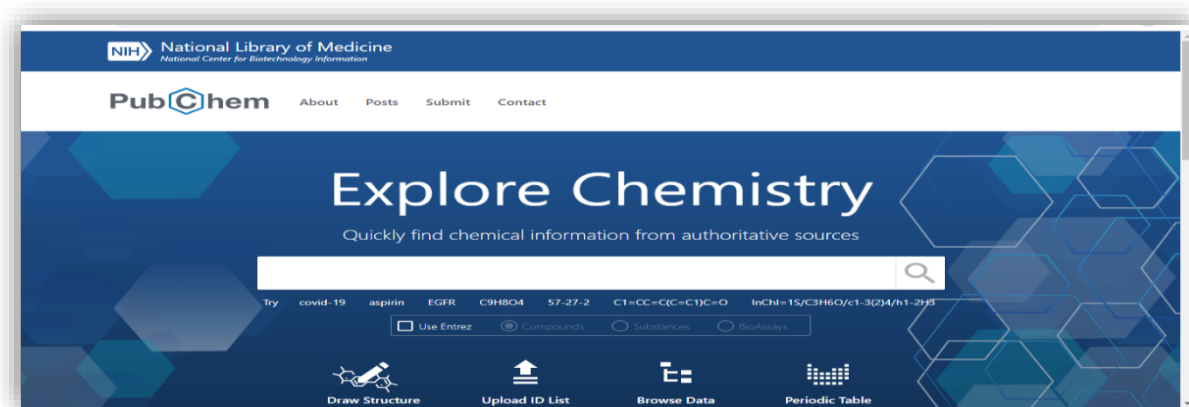


Figure 07 : Capture d'écran de la page web de la base de données. PubChem. (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

1.5. ADMETLAB 2.0

Admetlab est une plateforme d'accès ouvert et en ligne pour un dépistage rapide des propriétés physicochimiques, médico-chimiques, pharmacocinétiques (absorption, distribution, métabolisme et élimination) et toxicologiques des composés à partir du format smiles (**Dong et al., 2018**).

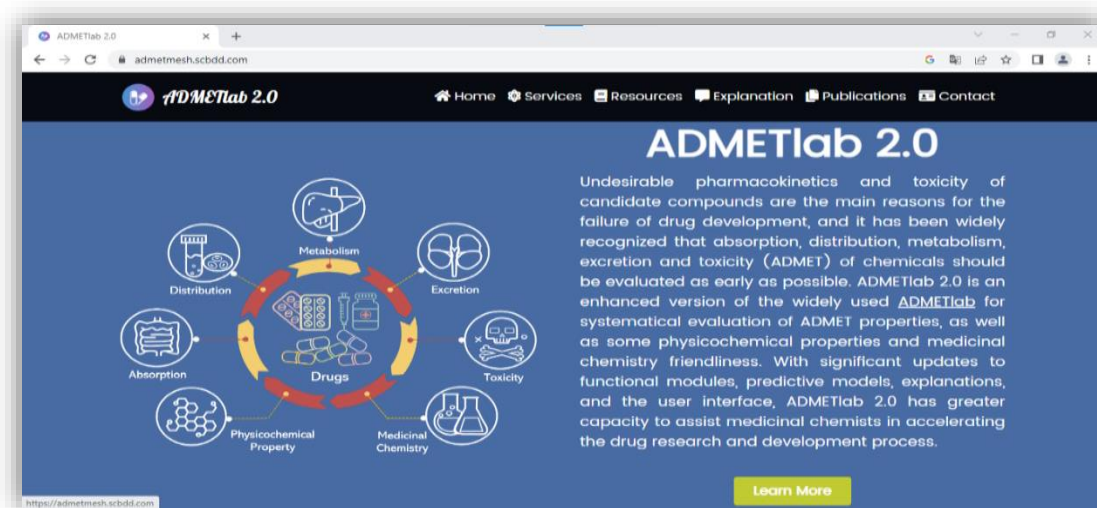


Figure 08 : Capture d'écran de la page web de ADMETlab.2.0.

2.Méthode

2.1. Préparation des récepteurs

Pour évaluer les quatre propriétés thérapeutiques : antioxydante, anti-inflammatoire, anti-cancéreuse et neurodégénérative nous avons choisi quatre enzymes qui ont été admis comme cibles pharmacologiques pour le développement de nouveaux médicaments pour guérir certaines maladies (**Tableau 01**). Ces enzymes sont :

2.1.1. Xanthine oxydase (XO)

Xanthine oxydase est téléchargé sous format PDB à partir de la banque de donnée protéine. Cette dernière nous a proposé plusieurs structures cristallographiques 3D, parmi lesquelles nous avons choisi le code 1FIQ (**Figure 09**). Il s'agit d'une structure définie à une résolution de 2.50 Å. Contenant trois chaînes, seule la chaîne C a été retenue parce qu'elle a la meilleure énergie par rapport les autres chaînes (**Figure 10**).

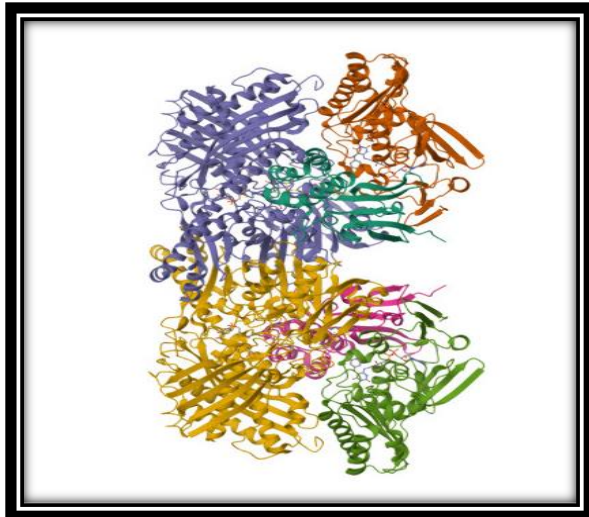


Figure 09 : Structure 3D de 1FIQ.



Figure 10 : Chaîne C du la 1FIQ.

2.1.2. Cyclooxygenase-2 (COX-2)

Le Cyclooxygenase-2 est téléchargé sous format PDB à partir de la banque de donnée Protéine sous le code 1CVU (**Figure 11**). Il s'agit d'une structure définie à une résolution de 2.40 Å. Contenant deux chaînes, seule la chaîne B a été gardée parce qu'elle a la meilleure énergie par rapport les chaînes A (**Figure 12**).

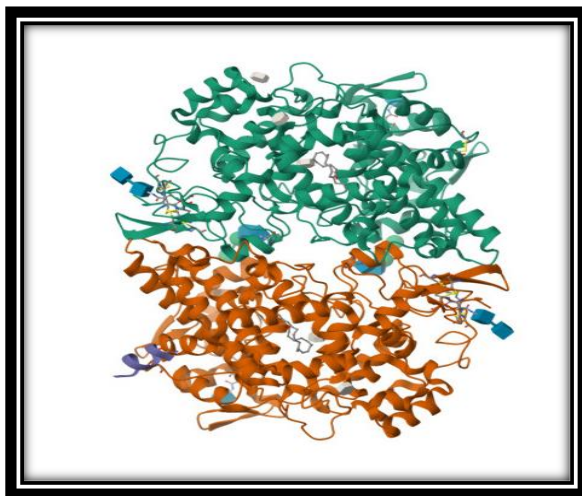


Figure 11 : Structure 3D de 1CVU.

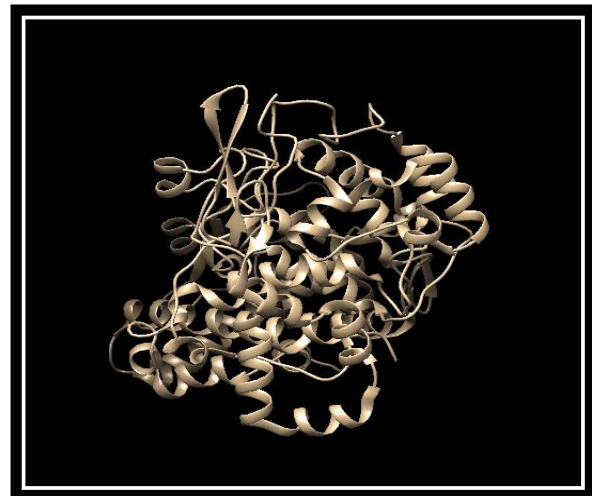


Figure 12 : Chaîne B de 1CVU.

2.1.3. Estrogène

L'estrogène est téléchargé sous format PDB via la même banque de donnée. Plusieurs structures ont été proposées où la 3CBM a été retenue (**Figure 13**), c'est une structure qui est résolue à 1.69 Å avec une seule chaîne A (**Figure 14**).



Figure 13 : Structure 3D de 3CBM.



Figure 14 : Chaîne A de 3CBM.

2.1.4. Acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholinestérase est disponible dans PDB sous le code ID : 1EVE (**Figure 15**). Il s'agit d'une structure définie à une résolution de 2.50Å avec une seule chaîne A (**Figure 16**).



Figure 15 : Structure 3D de 1EVE.

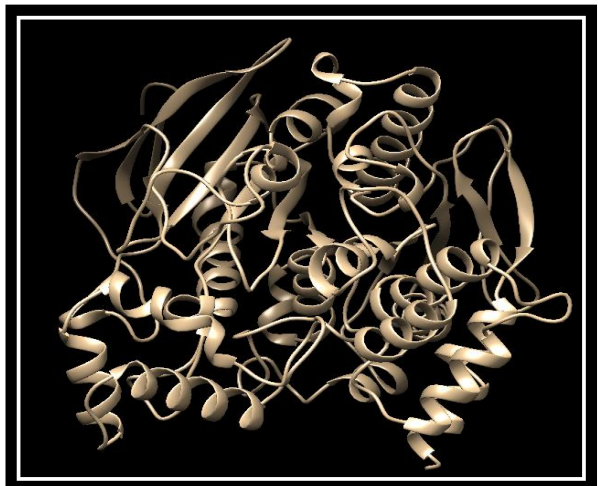


Figure 16 : Chaîne A de 1EVE.

Les caractéristiques de ces enzymes sont résumées dans le **tableau 01**.

Tableau 01 : Les caractéristiques des cibles affirmées par la base de données PDB.

| Protéine (Cible) | ID PDB | Ligand Réf | Classification | Résolution (Å) | Les Chaines | Date de dépôt |
|----------------------|--------|------------|----------------------------------|----------------|-------------|---------------|
| Xanthine oxydase | 1FIQ | MTE | Oxidoreductase | 2.50 | ABC | 04.10.2000 |
| Cyclooxygenase-2 | 1CVU | ACD | Oxidoreductase/Peptide | 2.40 | AB | 16.05.2000 |
| Estrogène | 3CBM | SAH | Transférase/Transféraserecepteur | 1.69 | A | 13.05.2008 |
| Acétylcholinestérase | 1EVE | E20 | Sérine Hydrolase | 2.50 | A | 20.01.1999 |

Réf : référence.

2.2. Préparation des ligands

Les quatre structures tridimensionnelles (3D) des ligands utilisés dans cette étude sont disponibles à partir de la base des données PubChem (**Tableau 02**) (**Figure 17**) sous format SDF. Cette dernière ouvre sur le Chimera et enregistre la structure PDB après lancer le calcul docking et voir le résultat.

Tableau 02 : Les identifiants des ligands testés.

| Ligands | Type | ID PubChem | Formule |
|------------------------------|--------|------------|--|
| Cholestanol | Stérol | 6665 | C ₂₇ H ₄₈ O |
| Stigmastérol | Stérol | 5280794 | C ₂₉ H ₄₈ O |
| β-sitostérol | Stérol | 222284 | C ₂₉ H ₅₀ O |
| 26-hydroxycholesterol | Stérol | 99470 | C ₂₇ H ₄₆ O ₂ |

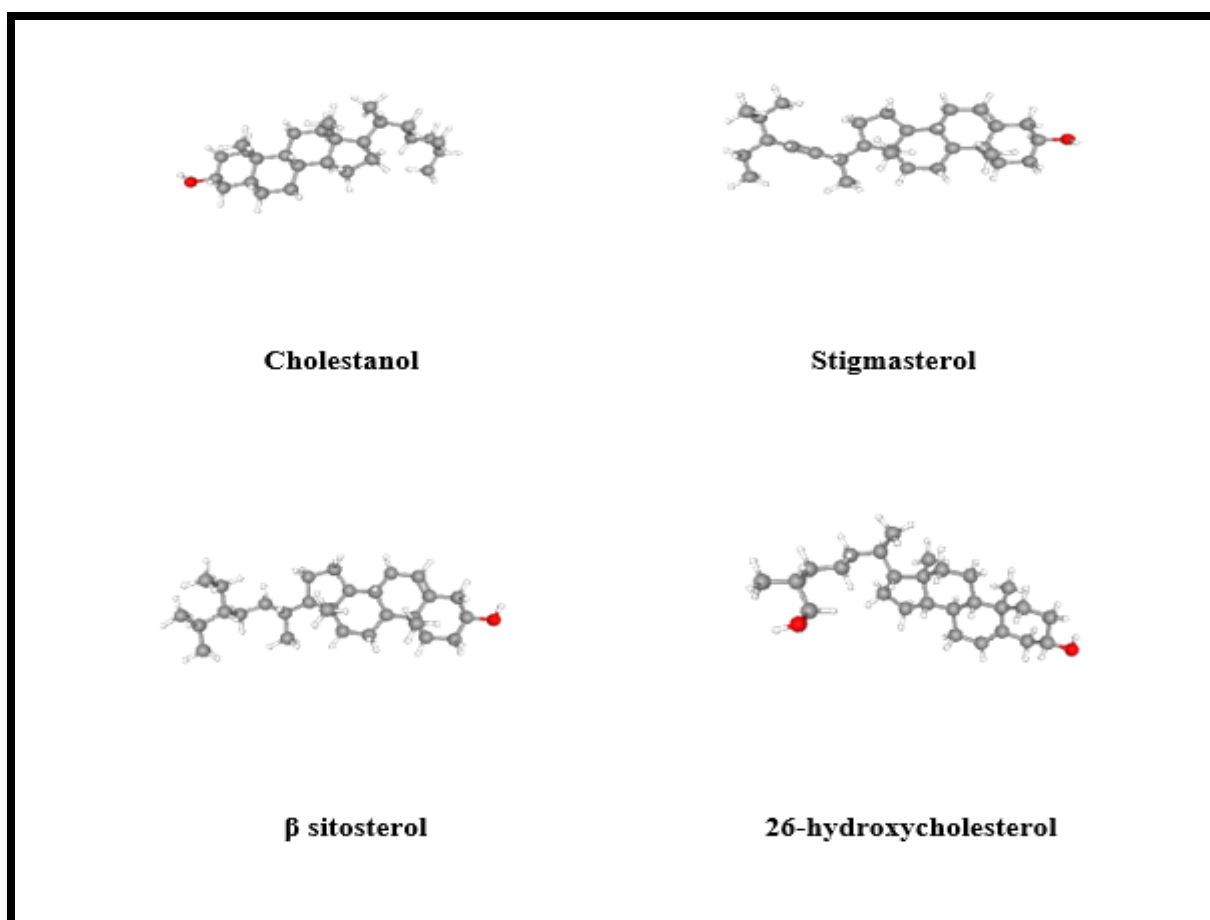


Figure 17 : Structure 3D des stérols (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

2.3. Grid Box

Pour réaliser une étude conformationnelle du ligand au sein du site actif d'une structure protéique, les codes de docking moléculaires définissent cet espace. C'est ce qu'on appelle le GRID BOX. A partir du ligand de référence, la boîte est définie avec un volume où le centre est déterminé par des coordonnées. Les figures et le tableau ci-dessous montrent bien la boîte Grid box de chaque cible.

Tableau 03 : Paramètres de GRID Box.

| ID PDB | Centre de Grid box X*Y*Z | Taille de Grid box X*Y*Z |
|--------|--------------------------|--------------------------|
| 1FIQ | 20.56*15.65*102.58 | 25*25*30 |
| 1CVU | 67.45*20.85*40.25 | 30*30*35 |
| 3CBM | 10.65*-1.45*15.36 | 25*20*25 |
| 1EVE | 5.25*61.45*65.14 | 25*22*34 |



Figure 18 : GRID BOX de 1FIQ.

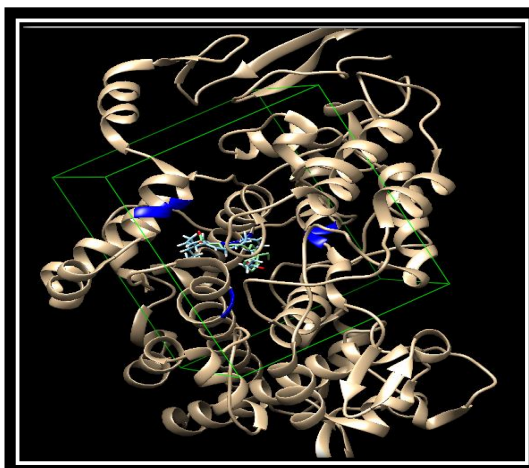


Figure 19 : GRID BOX de 1CVU.

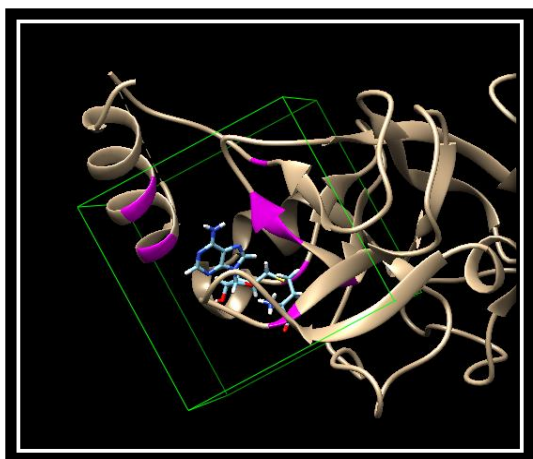


Figure 20 : GRID BOX de 3CBM.

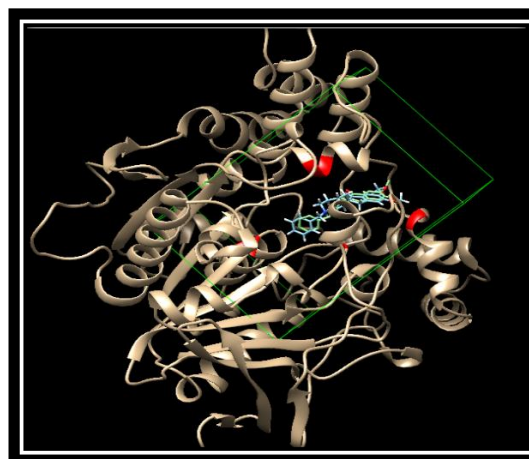


Figure 21 : GRID BOX de 1EVE.

2.4. Analyse visuelle des interactions établies entre le ligand et les acides aminés du site actif

À partir de BIOVIA Discovery Studio Visualizer, nous avons observé et dénombré les différentes interactions réalisées entre les composés obtenus et les résidus du site actif des cibles.

- **Liaisons d'hydrogène**

La liaison hydrogène est une force attractive qui s'opère entre deux groupes d'atomes donneurs et accepteurs impliquant un atome d'hydrogène. Elle opère sur une très petite distance (0.8 à 2.8 Å). Les liaisons hydrogène sont peu nombreuses et résistent très bien à la flexibilité (Renvez, 2010).

- **Interactions de Van Der Waals**

Elles proviennent de l'interaction des nuages électroniques de deux atomes adjacents, conduisant à la mise en place d'une attraction pour des distances de 3 à 4 Å. Les interactions de Van Der Waals sont habituellement faibles, leur ampleur dépend du nombre cumulatif de liaisons établies (Hui et al, 2023).

- **Interactions hydrophobiques**

Les interactions hydrophobes sont générées par le regroupement des molécules non polaires qui ne peuvent pas établir de liaisons hydrogène et ne peuvent donc pas s'hydrater. Ces molécules ont une très faible affinité pour le solvant où elles sont dissoutes. Ce type d'interactions est le plus souvent utilisé dans les études d'interactions protéine-ligand pour augmenter l'affinité du ligand (Hoffer, 2013).

- **Interactions ioniques**

Les liaisons ioniques, aussi appelées liens salins, elles résultent d'une force attraction électrostatique entre deux atomes de charges opposées (Boucharga, 2018).

2.5. Méthodes d'évaluation in silico des propriétés ADMET

Nous avons utilisé le serveur web ADMETlab pour la vérification des règles drug-likeness, la prédiction des propriétés physico-chimiques, et des paramètres pharmacocinétiques ADMET à partir de la structure chimique (SMILE) (Figure 22, Tableau 04).

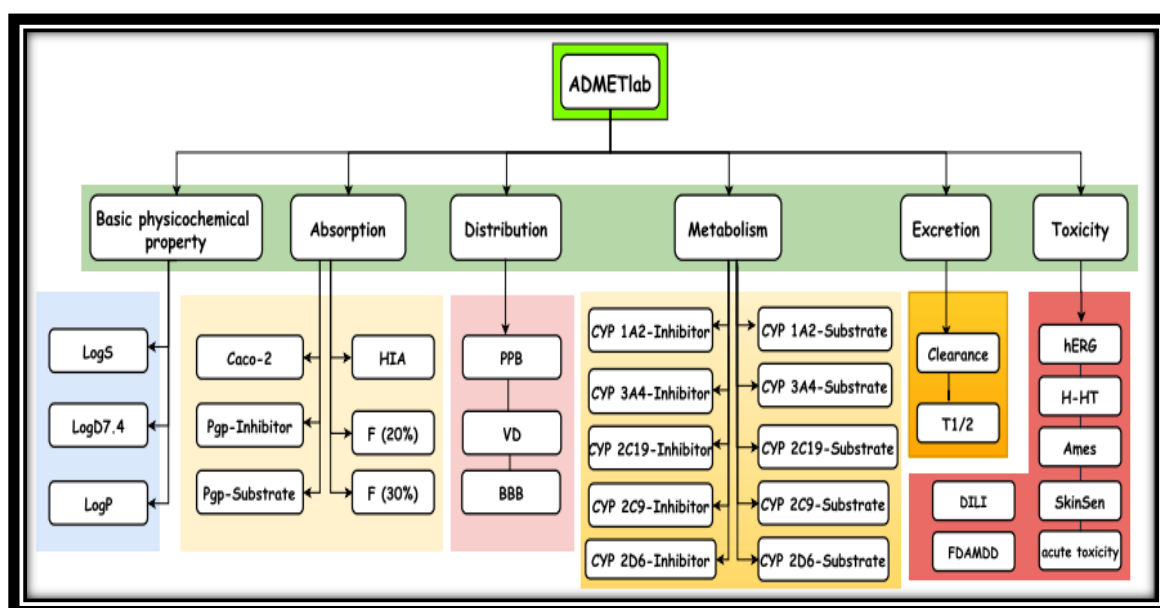


Figure 22 : Différents paramètres ADMET (Dong et al., 2018).

Tableau 04 : Formes canonique Smilles des ligands testées.

| Ligands | Canonique Smilles |
|-----------------------|---|
| Cholestanol | <chem>CC(C)CCCC(C)C1CCC2C1(CCC3C2CCC4C3(CCC(C4)O)C)C</chem> |
| Stigmastérol | <chem>CCC(C=CC(C)C1CCC2C1(CCC3C2CC=C4C3(CCC(C4)O)C)C)C(C)C</chem> |
| B-sitostérol | <chem>CCC(CCC(C)C1CCC2C1(CCC3C2CC=C4C3(CCC(C4)O)C)C)C(C)C</chem> |
| 26-hydroxycholesterol | <chem>CC(CCCCC(C)C1CCC2C1(CCC3C2CC=C4C3(CCC(C4)O)C)C)CO</chem> |

2.5.1. Propriétés physico-chimiques

Le serveur ADMETlab contient le module de prévision de drug-likeness à partir des cinq règles : Lipinski (1996), Ghose (1998), Oprea (1999), Veber (2002) et Varma (2009) qui basées sur l'observation des propriétés physicochimiques. Ces règles sont largement utilisées comme filtres pour déterminer si un composé chimique est susceptible d'être un médicament probablement actif par voie orale (**Charly, 2017**). Dans notre travail, nous avons prédit deux règles : Lipinski et Veber.

- **Règle de Lipinski** : La règle de Lipinski permet d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale. Selon cette règle, un composé possède toutes les chances d'être absorbé par voie orale s'il respecte leurs critères (**Navea et al., 2006**) (**Tableau 05**).
- **Règle de Veber** : En plus des travaux de Lipinski, des études par **Veber et al.** en (**2002**) ont suggéré que les composés qui valident les deux critères (**Tableau 05**), présentaient généralement une bonne biodisponibilité orale (**Veber et al., 2002**).

Tableau 05 : Critères des règles drug-likeness (<https://admet.scbdd.com/home/interpretation/>).

| Règles | Lipinski | Veber |
|-----------------|--|---|
| Critères | MW ≤ 500 Log P ≤ 5 n.Hacc ≤ 10 n.Hdon ≤ 5 | n.LF ≤ 10 TPSA ≤ 140 Où n.Hacc ≤ 12 n.Hdon ≤ 12 |

• **MW (Poids moléculaire)** : Le poids moléculaire d'un médicament ou d'une substance chimique est par la suite la somme totale de l'addition des poids atomiques de tous les atomes élémentaires qui composent le médicament ou la substance (**Biganska, 2010**).

• **Log P (Coefficient de partition)** : il est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanol et dans l'eau. Cette valeur permet d'appréhender le

caractère hydrophile (aimant l'eau) ou hydrophobe (craignant l'eau) d'une molécule (**Wan et al., 2020**).

• **n.Hacc (Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogènes)** : Un atome accepteur a toujours une ou plusieurs paires d'électrons solitaires capables d'établir une liaison hydrogène (**Ouilia, 2010**).

• **nLF (Nombre de liaisons rotatives)** : Le nombre de liaisons flexibles ou nombre de liaisons rotatives permettent un déplacement relatif limité. La position relative des atomes est fonction de l'intensité des agitations extérieures. Ce type de liaison permet d'amortir les chocs et de réduire les vibrations provoquées par des agitations variables dans le temps (**Boucharga, 2018**).

• **n.Hdon (Nombre de donneurs de liaisons hydrogènes)** : La somme des atomes de la molécule qui ont les caractéristiques nécessaires d'être donneur d'hydrogène (**Ouilia, 2010**).

• **TPSA (La surface polaire topologique)** : Elle est représentée par la somme des surfaces des atomes polaires de la molécule (calcul basé sur la topologie de la molécule ou TPSA) et permet de prédire l'absorption intestinale et le passage de la barrière hématoencéphalique (**Parsanna et Doerksens, 2009**).

2.5.2. Paramètres pharmacocinétiques ADMET

➤ Absorption

L'absorption ou résorption correspond au passage à travers les membranes biologiques du médicament de son site d'administration jusqu'à la circulation systémique (**Lakshmi, 2012**). Dans notre travail, nous avons prédit trois paramètres pharmacocinétiques correspondant à l'absorption, à savoir : Caco-2 (Adénocarcinome du côlon humain), HIA (Absorption intestinale humaine) et F% (La biodisponibilité orale) (**Tableau 06**).

- **Caco-2 (Adénocarcinome du côlon humain)** : il fait référence aux cellules cancéreuses épithéliales du côlon humain qui sont utilisées comme modèle d'absorption intestinale humaine de médicaments. Ces cellules sont utilisées en raison du fait que lorsqu'elles sont cultivées, elles forment des jonctions serrées entre les cellules, ce qui les fait ressembler au mouvement paracellulaire des composés à travers la monocouche (**Breemen et al, 2005**).
- **HIA (Absorption intestinale humaine)** : La propriété HIA fait référence au processus par lequel les médicaments administrés par voie orale sont absorbés du système gastro-intestinal dans la circulation sanguine du corps humain (**Chedik, 2017**).

- **F% (La biodisponibilité orale) :** La biodisponibilité prédite d'une molécule est une détermination mathématique de la probabilité qu'elle présente une biodisponibilité orale (Geldenhuis et *al.*, 2006).

Tableau 06 : Paramètres pharmacocinétiques correspondant à l'absorption (Wang et *al.*, 2016).

| Paramètres | Mauvaise Absorption | Bonne Absorption |
|---------------|---------------------|------------------|
| Caco-2 | < -5.15 cm/s | > -5.15 cm/s |
| HIA | < 30% | ≥ 30% |
| F% | < 20% | ≥ 20% |

➤ Distribution

Depuis le site d'entrée et après absorption, le médicament est distribué dans la circulation générale. Les substances sont transportées par le sang dans les tissus de l'organisme (Le, 2019). Dans notre travail, nous avons prédit les paramètres pharmacocinétiques correspondant à la distribution, à savoir : PPB (La liaison aux protéines plasmatiques humaines), BBB (La barrière hémato-encéphalique), et VD (volume de distribution) (Tableau 07).

- **PPB (La liaison aux protéines plasmatiques humaines) :** ce paramètre est crucial pour la distribution du médicament libre disponible dans les tissus corporels. Il est également pertinent pour les interactions médicamenteuses impliquant des médicaments fortement liés aux protéines (Lill, 2013).
- **BBB (La barrière hémato-encéphalique) :** cette barrière protège le système nerveux central (SNC) en séparant le tissu cérébral de la circulation sanguine. Elle est principalement formée par l'endothélium cérébral et peut empêcher l'entrée dans le cerveau de la plupart des médicaments à partir du sang (Abbott et *al.*, 2006).
- **VD (volume de distribution) :** est un paramètre important pour décrire la distribution. C'est un concept théorique qui relie la dose administrée à la concentration initiale réellement présente dans le système circulatoire (Braiuca et *al.*, 2006).

Tableau 07 : Paramètres pharmacocinétiques correspondant à la distribution
(<https://admet.scbdd.com/home/interpretation/>).

| Paramètres | Mauvaise Distribution | Bonne Distribution |
|------------|-----------------------|------------------------------|
| PPB | > 90% | ≤ 90% |
| BBB | Valeur = non | Valeur = oui |
| VD | / | V _D = 0.04-20L/kg |

➤ Métabolisme

Le métabolisme correspond à la transformation du médicament par l'organisme grâce à des réactions métaboliques impliquant des enzymes. Ces réactions globalement classées en deux catégories : Les réactions de fonctionnalisation (Phase I) ont pour but d'augmenter la polarité du substrat principalement grâce à l'oxydation, et réactions de conjugaison (Phase II) permettant de rendre les molécules hydrosolubles afin de faciliter leurs éliminations dans les urines ou la bile (**Bourguignon, 2009**).

Dans notre travail, nous avons prédit deux paramètres pharmacocinétiques correspondant au métabolisme, à savoir : CYP450 Substrat et CYP450 Inhibiteur (**Tableau 08**).

- **CYP450 Substrat** : il fait référence à un médicament qui subira une réaction chimique ou métabolique avec l'enzyme CYP450 pour produire des produits ou des métabolites différents du substrat d'origine qui peuvent être toxiques (**Ogu et Maxa, 2000**).
- **CYP450 Inhibiteur** : il fait référence à un médicament ou à un produit chimique capable de se lier à l'enzyme CYP450 et agit pour stopper ou diminuer l'activité de l'enzyme (**Guengerich, 2008**).

Tableau 08 : Paramètres pharmacocinétiques correspondant au métabolisme (**Zaretzki et al., 2013**)

| Paramètres | Mauvais Métabolisme | Bon Métabolisme |
|--------------------------|---------------------|-----------------|
| CYP450 Substrat | Valeur = +++ | Valeur = --- |
| CYP450 Inhibiteur | Valeur = +++ | Valeur = --- |

➤ Excrétion

L'élimination ou l'excrétion c'est la dernière étape du devenir du médicament de l'organisme, principalement réalisée par la voie urinaire et la voie biliaire (**Lakshmi, 2012**). Dans notre

travail, nous avons prédit deux paramètres pharmacocinétiques correspondant à l'excrétion, à savoir : le temps demi-vie ($T_{1/2}$) et la Clairance (CL) (**Tableau 09**)

- **Le temps demi-vie ($T_{1/2}$)** : La demi-vie d'élimination d'une substance généralement exprimée en heures (h), correspond au temps nécessaire pour que la concentration sanguine de cette substance diminue de moitié dans sa phase d'élimination (**Qian et al., 2007**).
- **La Clairance (CL)** : ce paramètre est important pour les chercheurs scientifiques. Il indique la rapidité avec laquelle le composé est extrait de la circulation systémique et éliminé. La clairance se produit dans le foie et les reins (**Kerns et Di, 2008**).

Tableau 09 : Paramètres pharmacocinétiques correspondant à l'excrétion
(<https://admet.scbdd.com/home/interpretation/>).

| Paramètres | Mauvaise Excrétion | Excrétion Moyenne | Bonne Excrétion |
|----------------|--------------------|--------------------------------|-----------------|
| $T_{1/2}$ | 0.7-1 ou < 3h | 0.3-0.7 ou 3h < $T_{1/2}$ < 8h | 0-0.3 ou > 8h |
| CL (mL/min/kg) | < 5 | 5 < CL < 15 | > 15 |

➤ Toxicité

Les modèles de prédiction informatique in silico fournissent un moyen rapide dans le criblage des composés. Ils sont utilisés pour prédire la toxicité des composés afin d'éviter les effets secondaires des candidats médicaments (**Valerio, 2009**).

Dans notre travail, nous avons prédit deux paramètres pharmacocinétiques correspondant à la toxicité à savoir : Toxicité AMES et HERG (**Tableau 10**).

- **Toxicité AMES (effet mutagène)** : Le test d'Ames est un test pour établir la capacité d'un médicament ou d'un produit chimique à induire des mutations dans l'ADN (**Amado et al., 2022**).
- **HERG (Le gène humain lié à l'éther-a-go-go)** : Le gène hERG code pour un canal K^+ jouant un rôle central pendant la phase de repolarisation du potentiel d'action cardiaque (**Zhang et al., 2016**).

Tableau10 : Paramètres pharmacocinétiques correspondant à la toxicité.

(<https://admet.scbdd.com/home/interpretation/>)

| Paramètres | Risque de toxicité | Pas de risque de toxicité |
|-------------------|---------------------------|----------------------------------|
| AMES | +++ | --- |
| HERG | +++ | --- |

Partie 3

« Résultats et discussion »

1. Résultats

1.1. Docking moléculaire

L'étude de l'interaction entre les acides aminés du site actif des cibles des activités anti-cancéreuse, anti-inflammatoire, contre la maladie neurodégénérative et antioxydante avec les quatre inhibiteurs de stérols d'*A. articulata* pour former un complexe stable à l'aide du logiciel AutoDock Vina et dans un box de paramètres connus pour préciser la surface des calculs.

La prédiction du mode d'interaction consiste à déterminer le positionnement correct du ligand par rapport à son récepteur.

1.1.1. Étude des interactions Ligands-Xanthine oxydase

Le tableau ci-dessous résume les valeurs des RMSD ainsi que les énergies obtenues par AutoDock Vina.

Tableau 11 : Résultats de docking moléculaire des inhibiteurs avec 1FIQ.

| | 1FIQ-Chaine C | |
|------------------------------|---------------|--------------------|
| | RMSD | Energie (kcal/mol) |
| Ligand réf (MTE) | 0.0 | -7.5 |
| Cholestanol | 0.0 | -8.0 |
| 26-hydroxycholesterol | 0.0 | -8.0 |
| Stigmastérol | 0.0 | -7.6 |
| β-Sitostérol | 0.0 | -7.2 |

Réf : référence, RMSD : l'écart quadratique moyen, MTE : PHOSPHONIC ACIDMONO-(2-AMINO-5,6-DIMERCAPTO-4-OXO-3,7,8A,9,10,10A-HEXAHYDRO-4H-8-OXA-1,3,9,10-TETRAAZA-ANTHRACEN-7-YLMETHYL) ESTER.

A la lumière des résultats du **tableau 11**, l'énergie de ligand molybdopterin (MET) a été choisie comme énergie de référence pour comparer leurs énergies avec celles des stérols d'*A. articulata*. Le docking moléculaire des quatre inhibiteurs a donné des meilleures énergies par rapport aux ligand référence sauf que le β-Sitostérol. Alors on peut dire que le cholestanol, 26-hydroxycholesterol et le stigmastérol sont prédit comme des nouveaux inhibiteurs sur xanthine oxydase, cible enzymatique impliquée dans les phénomènes d'oxydation.

En complément des résultats obtenus, une analyse visuelle des meilleurs complexes qui est celui formé par les composés cholestanol, 26-hydroxycholesterol et stigmastérol avec la cible protéique a été réalisée (**Tableau 12**).

Tableau 12 : Les liaisons formées entre le ligand de référence et les meilleurs inhibiteurs avec le site actif de la 1FIQ.

| Complexe | Acides aminés | Distance (Å°) | Type | Catégorie |
|-----------------------------------|---------------|---------------|---------------------------|---------------|
| 1FIQ+ligand référence | ARG C : 912 | 5.22549 | Attractive charge | Electrostatic |
| | ARG C : 912 | 2.76094 | Conventionalhydrogen bond | Hydrogen bond |
| | HIS C : 741 | 2.36197 | Conventionalhydrogen bond | Hydrogen bond |
| | PHE C : 742 | 2.60219 | Conventionalhydrogen bond | Hydrogen bond |
| | PHE C : 742 | 1.86669 | Conventionalhydrogen bond | Hydrogen bond |
| | ASP C : 740 | 2.35712 | Conventionalhydrogen bond | Hydrogen bond |
| | HIS C : 741 | 2.39936 | Conventionalhydrogen bond | Hydrogen bond |
| | GLU C : 1209 | 2.28807 | Conventionalhydrogen bond | Hydrogen bond |
| | PRO C : 1230 | 3.28332 | Carbon hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | GLN C : 1201 | 2.89856 | Pi-Donorhydrogen bond | Hydrogen bond |
| | MTE C : 1333 | 2.99753 | Pi-Donorhydrogen bond | Hydrogen bond |
| | ILE C : 1229 | 3.98998 | Pi-Alkyl | Hydrophobic |
| | PRO C : 1230 | 5.44121 | Pi-Alkyl | Hydrophobic |
| 1FIQ+cholestanol | GLN C : 1201 | 2.55841 | Conventionalhydrogen bond | Hydrogen bond |
| | GLU C : 1209 | 2.34534 | Conventionalhydrogen bond | Hydrogen bond |
| | VAL C : 1200 | 5.14913 | Alkyl | Hydrophobic |
| | ILE C : 1229 | 4.93997 | Alkyl | Hydrophobic |
| | PRO C : 1213 | 4.46969 | Alkyl | Hydrophobic |
| | PHE C : 798 | 5.47176 | Pi-Alkyl | Hydrophobic |
| | PHE C : 798 | 5.41184 | Pi-Alkyl | Hydrophobic |
| 1FIQ+26-hydroxycholesterol | VAL C : 1200 | 4.7642 | Alkyl | Hydrophobic |
| | ILE C : 1229 | 5.31289 | Alkyl | Hydrophobic |
| | PRO C : 1230 | 4.49571 | Alkyl | Hydrophobic |
| | PHE C : 798 | 5.43571 | Pi-Alkyl | Hydrophobic |
| | PHE C : 798 | 5.4813 | Pi-Alkyl | Hydrophobic |
| 1FIQ+stigmastérol | LEU C : 744 | 4.59086 | Alkyl | Hydrophobic |
| | ILE C : 1229 | 4.18859 | Alkyl | Hydrophobic |
| | PHE C : 798 | 4.77096 | Pi-Alkyl | Hydrophobic |

➤ Ligand de référence MTE

D'après l'analyse visuelle des interactions montrée dans la **figure 23**, nous remarquons que le complexe est stabilisé par nombreuses liaisons :

- ✓ La présence de huit interactions dans le schéma 2D présenté dans la **figure 23** de type Van Der Waals, faisant intervenir les acides aminés suivant : VAL 1200, GLY 1197, PHE 798, LEU 744, TYR 743, PHE 911, TYR 1227 et GLN 739.
- ✓ Une liaison électrostatique entre deux atomes de charges opposées de l'acide aminés ARG 912 et l'hydrogène (H) du ligand de référence par la distance 5.22549.
- ✓ Dix liaisons de type Conventional Hydrogen Bond formé entre l'oxygène des acides aminés de l'enzyme : ARG 912, HIS 741, PHE 742, PHE 742, ASP 740, HIS 741 et GLU 1209 et l'hydrogène (H) de l'inhibiteur avec des distances de 2.76094 Å°, 2.36197Å°, 2.60219 Å°, 2.47215 Å°, 1.86668 Å°, 2.35712 Å°, 2.39936 Å°, 2.28807 Å° et 2.74719 Å°.
- ✓ Une liaison de type Carbon Hydrogen Bond entre le récepteur par le résidu PRO 1230 avec une distance de 3.28332 Å° et le ligand.
- ✓ Deux liaisons d'hydrogène de type pi-Donor par deux acides aminés GLN 1201 par les distances de 2.89856 Å° et 2.99765 Å°.
- ✓ Deux liaisons hydrophobiques de type Pi-Alkyl par les acides aminés ILE 1229 et PRO 1230 avec 3.98998 Å° et 5.44121 Å° de distance.

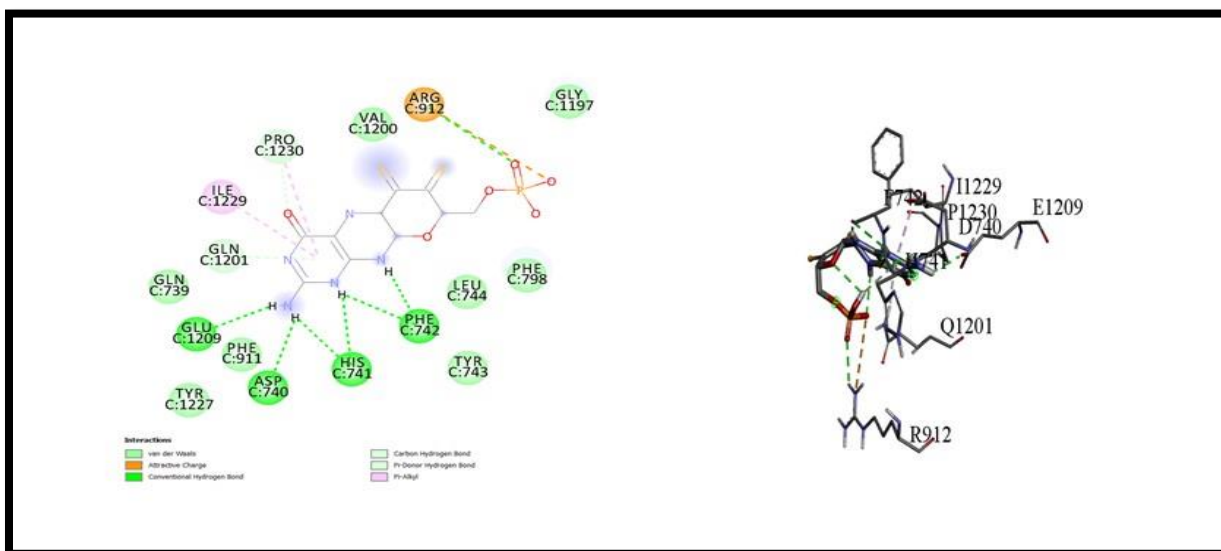


Figure 23 : Les interactions entre le site actif de la 1FIQ et le ligand de référence (MTE)

➤ Le choléstanol

La visualisation des interactions observé dans la **figure 24** du complexe a montré l'existence de :

- ✓ Seize interactions de types Van Der Waals faisant intervenir les acides amonés suivants : PHE 742, GLY 1197, ARG 912, MET 1038, GLY 1039, TYR 592, MET 794, GLY 795, GLY 796, LEU 796, LEU 744, TYR 743, GLN 1201, GLN 739, PHE 911, GLU 1209 et HIS 741.
- ✓ Deux liaisons de type Conventional Hydrogen Bond entre le récepteur et ligand par GLN 1201 et GLU 1209 avec 2.55841 et 2.34534 de distance.

Cette visualisation note également la formation de cinq interactions hydrophobiques de type :

- ✓ Trois interactions de type alkyl qui faisant intervenir les acides aminés VAL 1200, ILE 1229 et PRO 1213.
- ✓ Deux interactions de type Pi-Alkyl établies par PHE 798 et PHE 798 avec distance de 5.47176A° et 5.41184 A°.

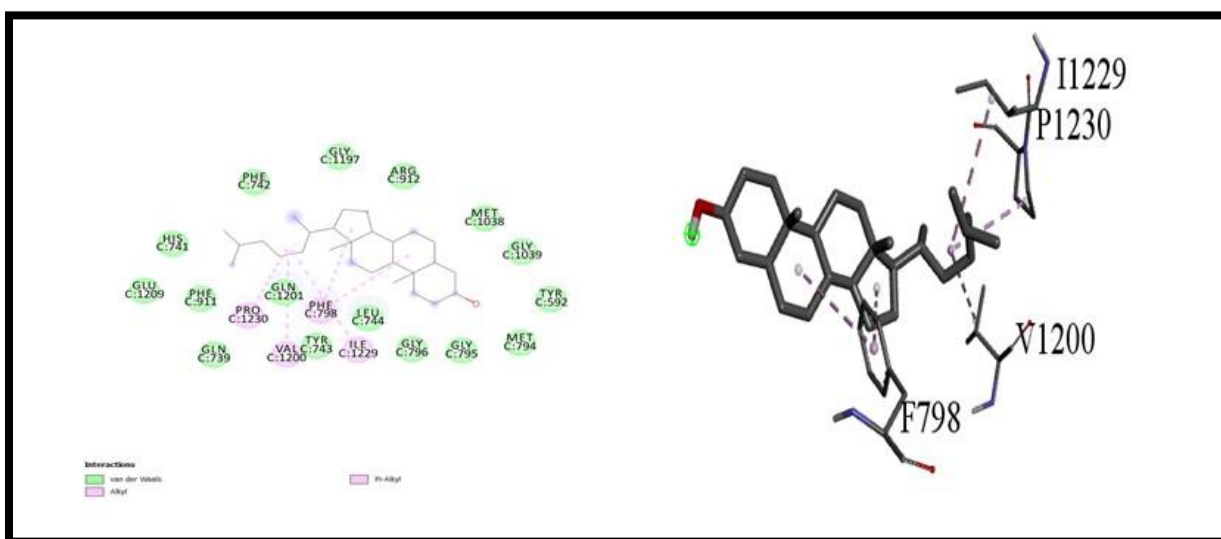


Figure 24 : Les interactions entre le site actif de la 1FIQ et le choléstanol.

➤ 26-hydroxycholésterol

Le diagramme 2D illustré dans la **figure 25** présentant le complexe est formé par :

- ✓ Dix-huit interactions de type Van Der Waals, faisant intervenir les acides aminés suivants : PHE 911, HIS 741, PHE 742, GLY 1197, ARG 912, GLY 1039, MET 1038, MET 794, TYR 592, GLN 585, GLY 795, ARG 793, GLY 796, LEU 744, TYR 743, GLN 739, ASP 740 et TYR 1227.
- ✓ Cinq interactions hydrophobiques :

- Trois interactions de type alkyl faisant intervenir les acides aminés : VAL 1200, ILE 1229 et PRO 1230 avec les distances de 4.7642 Å°, 5.31289 Å° et 4.4957 Å°.
- Deux interactions de type Pi-Alkyl par les résidus suivants : PHE 798 et PHE 798 avec 5.43571 et 5.4813 de distance.

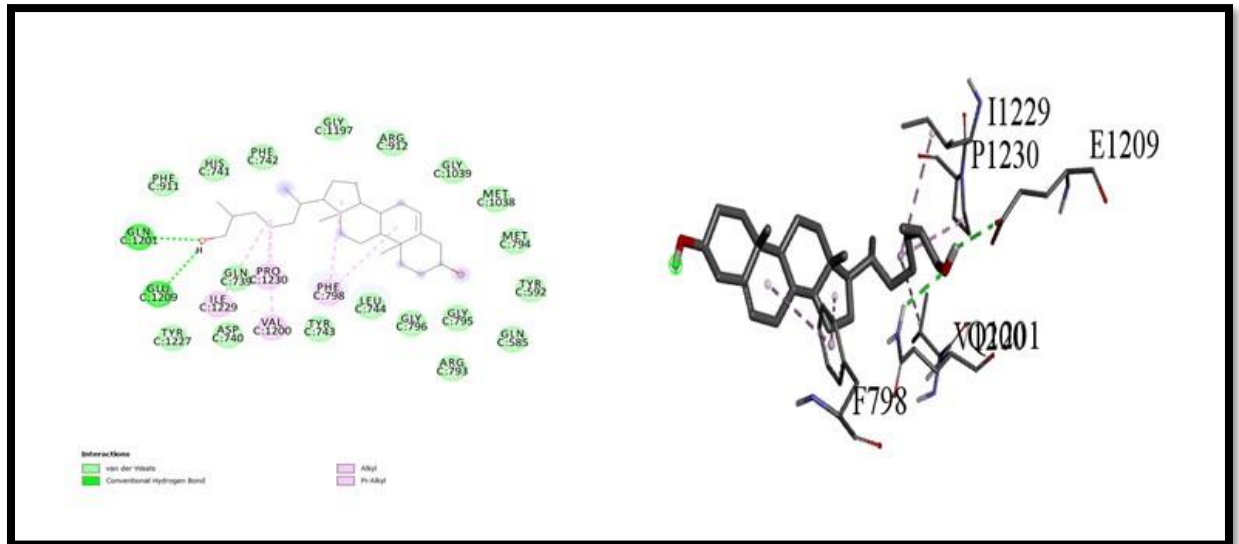


Figure 25 : Les interactions entre le site actif de la 1FIQ et le 26-hydroxycholéstérol.

➤ Stigmastérol

La visualisation du diagramme 2D illustré dans **figure 26** révèle que la stabilisation de ce dernier est établie par de nombreuses liaisons :

- ✓ Douze interactions de type Van Der Waals faisant intervenir douze acides aminés : TYR 743, PHE 911, PHE 742, ASP 740, HIS 741, GLN 739, GLU 1209, GLN 1201, PRO 1230, VAL 1200, GLY 1197, GLN1194 et GLY 1039.
- ✓ Deux liaisons hydrophobiques de type Alkyl par les résidus suivants : LEU 744 et ILE 1292 avec les distances de 4.59086 Å° et 4.18859 Å°.
- ✓ Une liaison hydrophobique de type Pi-Alkyl par PHE 798 avec 4.77096 Å° de distance.

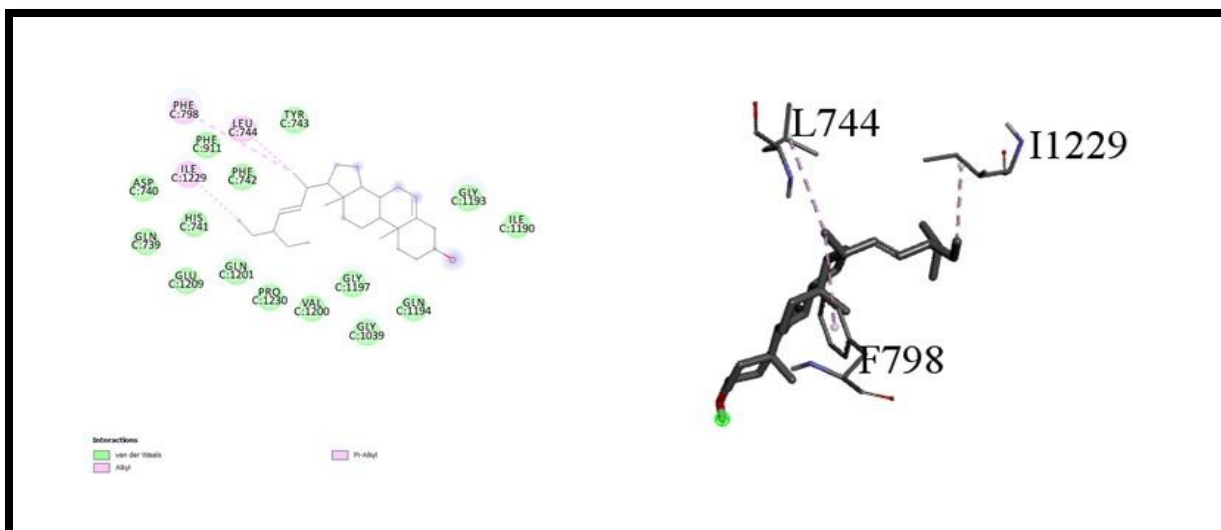


Figure 26 : Les interactions entre le site actif de la 1FIQ et le stigmasterol.

1.1.2. Étude des interactions Ligands-COX-2

D'après les résultats du **tableau 13**, nous remarquons que le ligand référence a donné une énergie inférieure à -7 donc il est bon, et les inhibiteurs en stérols ont donné des meilleures énergies par rapport au ligand référence sauf que le stigmasterol. Cela veut dire que le choléstanol, β -sitostérol et le 26-hydroxycholesterol sont prédits comme des nouveaux inhibiteurs de COX-2, cible enzymatique impliquée dans les phénomènes de l'inflammation.

Tableau 13 : Résultats de docking moléculaire des inhibiteurs avec 1CVU.

| | 1CVU-chaîne B | |
|--------------------------------------|---------------|--------------------|
| | RMSD | Energie (kcal/mol) |
| Ligand réf (ACD) | 0.0 | -8.4 |
| Choléstanol | 0.0 | -9.7 |
| β-Sitostérol | 0.0 | -9.2 |
| 26-hydroxycholésterol | 0.0 | -8.9 |
| Stigmasterol | 0.0 | -7.6 |

ACD : l'acide arachidonique

En complément les résultats obtenus, une analyse visuelle des meilleurs complexes qui sont formés par les composés cholestanol, β -sitostérol et 26-hydroxycholesterol avec la cible protéique a été réalisée (**Tableau 14**).

Tableau 14 : Les liaisons formées entre le ligand de référence et les meilleurs inhibiteurs avec le site actif de la 1CVU.

| Complexe | Acide amines | Distance (Å°) | Type | Catégorie |
|---|--------------|---------------|----------------------------|-----------------|
| 1CVU+ACD | ARG B : 2120 | 5.11798 | Attractive charge | Electrostatique |
| | ARG B : 2120 | 2.36526 | Conventional hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | TYR B : 2355 | 2.14191 | Conventional hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | SER B : 2353 | 3.47776 | Carbon hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | PHE B : 2209 | 3.58406 | Pi-sigma | Hydrophobique |
| | VAL B : 2344 | 5.4535 | Alkyl | Hydrophobique |
| | VAL B : 2349 | 4.74172 | Alkyl | Hydrophobique |
| | VAL B : 2523 | 4.56697 | Alkyl | Hydrophobique |
| | LEU B : 2534 | 4.86165 | Alkyl | Hydrophobique |
| | LEU B : 2534 | 5.33404 | Alkyl | Hydrophobique |
| | ILE B : 2377 | 4.83154 | Alkyl | Hydrophobique |
| | LEU B : 2352 | 4.45683 | Alkyl | Hydrophobique |
| | PHE B : 2205 | 4.93710 | Pi-alkyl | Hydrophobique |
| | PHE B : 2209 | 5.21812 | Pi-alkyl | Hydrophobique |
| | PHE B : 2209 | 4.01393 | Pi-alkyl | Hydrophobique |
| | TYR B : 2348 | 4.94302 | Pi-alkyl | Hydrophobique |
| | PHE B : 2381 | 5.0211 | Pi-alkyl | Hydrophobique |
| | PHE B : 2381 | 4.95676 | Pi-alkyl | Hydrophobique |
| | TYR B : 2385 | 5.18029 | Pi-alkyl | Hydrophobique |
| | TYR B : 2387 | 5.04195 | Pi-alkyl | Hydrophobique |
| PHE B : 2518 | 5.0543 | Pi-alkyl | Hydrophobique | |
| 1CVU choléstanol + | HIS B : 2214 | 2.4311 | Conventional hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | ALA B : 2199 | 3.69351 | Alkyl | Hydrophobic |
| | LEU B : 2390 | 4.24185 | Alkyl | Hydrophobic |
| | LEU B : 2391 | 4.14051 | Alkyl | Hydrophobic |
| | HIS B : 2386 | 5.35861 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| | HIS B : 2388 | 5.18847 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| 1cvu + β Sitostérol | HIS B : 2214 | 2.51734 | Conventional hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | THR B : 2212 | 2.30462 | Conventional hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | HIS B : 2386 | 5.29787 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| | HIS B : 2388 | 4.37785 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| 1cvu+26- hydroxycolésterol | VAL B : 2349 | 4.82708 | Alkyl | Hydrophobic |
| | VAL B : 2349 | 4.25697 | Alkyl | Hydrophobic |
| | VAL B : 2349 | 4.98003 | Alkyl | Hydrophobic |
| | LEU B : 2359 | 5.36143 | Alkyl | Hydrophobic |
| | VAL B : 2523 | 4.739 | Alkyl | Hydrophobic |
| | ALA B : 2527 | 4.75297 | Alkyl | Hydrophobic |
| | ILE B : 2345 | 4.85163 | Alkyl | Hydrophobic |
| LEU B : 2531 | 5.03887 | Alkyl | Hydrophobic | |

➤ Ligand de référence ACD

D'après la visualisation du schéma 2D dans la **figure 27** et les liaisons établies dans le **tableau 14**, nous remarquons que le complexe 1CVU-ACDa présenté huit interactions de type Van Der Waals faisant intervenir ALA 2527, GLY 2526, SER 2530, PHE 2529, GLY 2533, GLY 2227, ASN 2375 et VAL 2228.

ACD se lie avec la cible par d'autres liaisons :

- ✓ Une liaison électrostatique de type attractive charge établit par l'acide amine ARG 2120 avec 5.11798 Å de distance.
- ✓ Deux liaisons de type Conventional hydrogen bond formées par deux résidus ARG 2120 et TYR 2355 avec des distances de 2.36526 Å et 2.14191 Å.
- ✓ Une liaison de type Carbon hydrogen bond fait intervenir SER 2353 avec une distance 3.47776 Å.
- ✓ Une liaison hydrophobique de type Pi-sigma établit par les résidus PHE 2209 par la distance suivante 5.58406 Å.
- ✓ Sept liaisons hydrophobiques de type alkyl faisant intervenir les acides aminés suivants : VAL 2344, VAL 2349, VAL 2523, LEU 2534, LEU 2534, LEU 2377 et LEU 2352 avec des distances de : 5.4535 Å, 4.74172 Å, 4.56697 Å, 4.86165 Å, 5.33404 Å, 4.83154 Å et 4.45683 Å, respectivement.
- ✓ Neuf liaisons hydrophobiques de type Pi-alkyl formées par les résidus suivants : PHE 2205, PHE 2209, PHE 2209, TYR 2348, PHE 2381, PHE 2380, TYR 2385, TYR 2387 et PHE 2518 avec les distances suivantes : 4.93701 Å, 5.21812 Å, 4.01393 Å, 4.94302 Å, 5.0211 Å, 4.95676 Å, 5.18029 Å, 5.04195 Å et 5.0543 Å, respectivement.

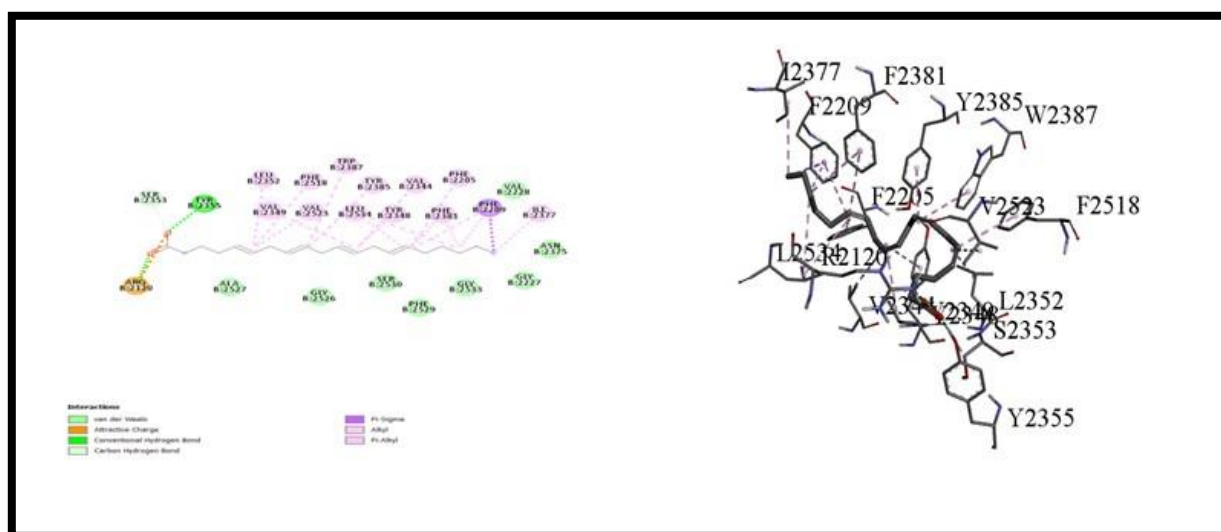


Figure 27 : Les interactions entre le site actif de la 1CVU et le ligand référence (ACD).

➤ Choléstanol

Dans l'analyse visuelle du complexe formé entre le ligand (choléstanol) et le récepteur 1CVU (**Figure 28**), les différents types de liaisons formées sont :

- ✓ Une liaison de type Conventional hydrogen bond stabilisée par l'acide amine HIS 2214 avec la distance de 2.4311 Å.
- ✓ Six liaisons hydrophobiques.
- ✓ Trois interactions de type alkyl formées par les résidus ALA 2199, LEU 2390 et LEU 2391 avec des distances de : 3.6351 Å, 4.24185 Å et 4.14051 Å, respectivement.
- ✓ Deux interactions de type alkyl formées par deux acides aminés : HIS 2386 et HIS 2388 avec 5.35861 Å et 5.18847 Å, respectivement.

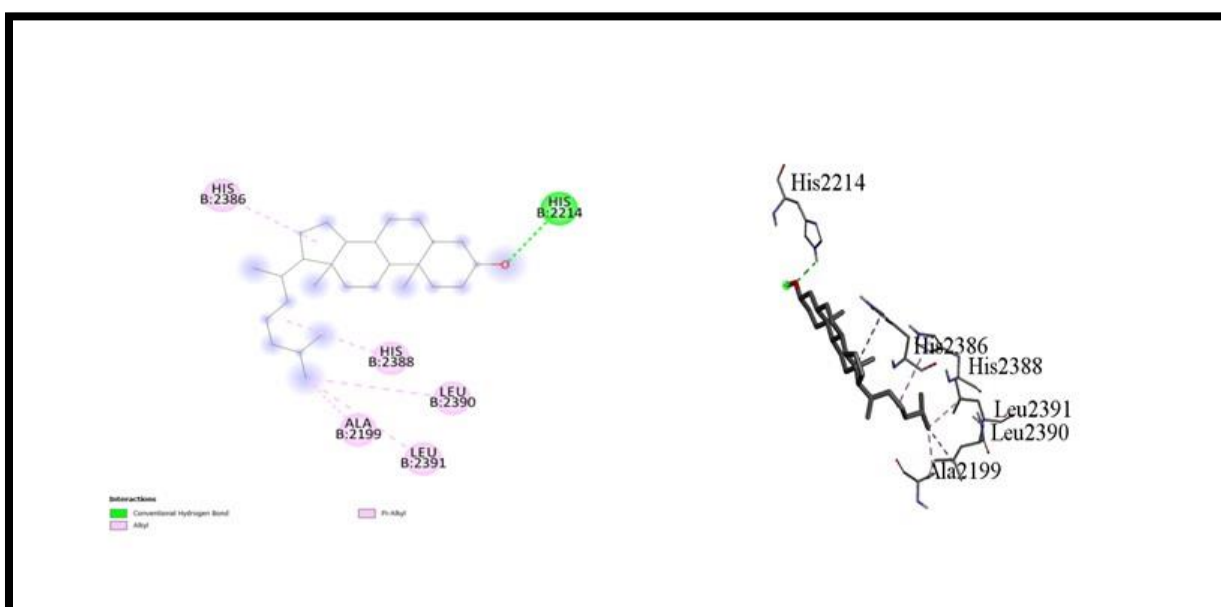


Figure 28 : Les interactions entre le site actif de la 1CVU et le choléstanol.

➤ β-sitostérol

La visualisation du schéma 2D (**Figure 29**) a noté la stabilisation du complexe 1CVU-β sitostérol formé par :

- ✓ Deux liaisons de type Conventional hydrogen bond qui fait intervenir HIS 2214 et THR 2212 avec une distance de 2.51734 Å et 2.30462 Å, respectivement.
- ✓ Deux liaisons hydrophobiques de type Pi-alkyl entre deux résidus : HIS 2386 (5.29787 Å) et HIS 2388 (4.37785 Å).

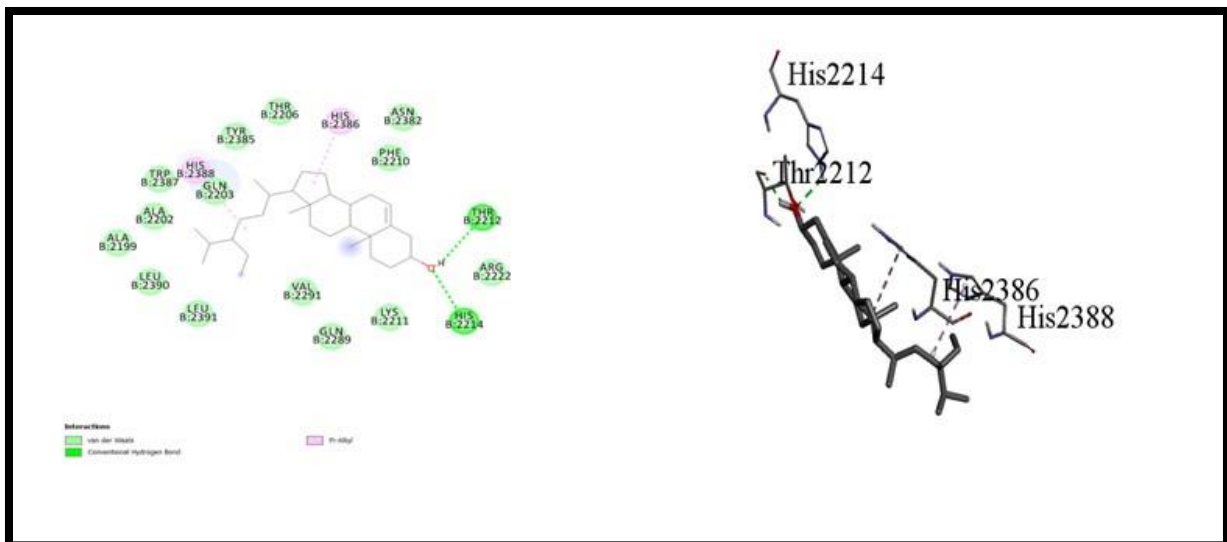


Figure 29 : Les interactions entre le site actif de la 1CVU et le β -sitostérol.

➤ 26-hydroxycholesterol

La visualisation des interactions montre l'existence de :

- ✓ Dix-sept interactions de type Van Der Waals faisant intervenir les acides aminés suivants : TYR 2355, SER 2353, LEU 2352, PHE 2518, TRP 2387, TYR 2348, TYR 2385, PHE 2381, LEU 2384, GLY 2526, SER 2530, MET 2522, LEU 2534, MET 2535, LEU 2117, MET 2113 et VAL 2116.
- ✓ Huit liaisons hydrophobiques de type Alkyl établies par : VAL2349, VAL 2349, VAL 2349, LEU 2559, VAL 2523, ALA 2527 ILE 2345 et LEU 2531 avec les distances suivantes : 4.82708 Å°, 4.25697 Å°, 4.980063 Å°, 5.36143 Å°, 4.739 Å°, 4.75297, 4.85163 Å°, et 5.03887 Å°, respectivement.

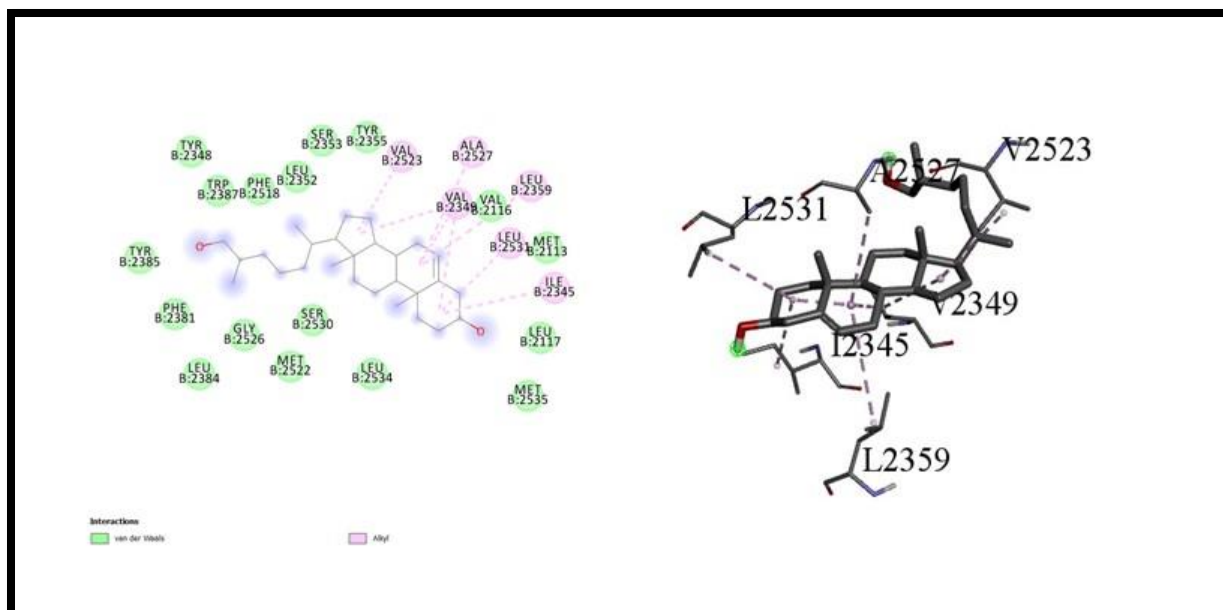


Figure 30 : Les interactions entre le site actif de la 1CVU et le 26-hydroxycholesterol.

1.1.3. Étude des interactions Ligands-Estrogène

Dans cette étude, l'énergie de ligand S-adenosyl-l-homocysteine (SAH) a été choisie comme énergie de référence pour la comparer avec celles des stérols d'*A. articulata*. Les résultats illustrés dans le **tableau 15** montrent que les quatre inhibiteurs donnent de meilleures énergies par rapport au ligand de référence. Ce qui nous pousse à prédire que ces molécules sont des nouveaux inhibiteurs sur l'estrogène, cible enzymatique impliquée sur le cancer du sein.

Tableau 15 : Résultats de Dockings moléculaires des inhibiteurs avec l'estrogène.

| | 3CBM-Chaine A | |
|--------------------------------------|---------------|--------------------|
| | RMSD | Energie (kcal/mol) |
| Ligand réf (SAH) | 0.0 | -7.2 |
| Stigmastérol | 0.0 | -8.4 |
| 26-hydroxycholéstérol | 0.0 | -8.2 |
| β-sitostérol | 0.0 | -7.7 |
| Choléstanol | 0.0 | -7.4 |

SAH: S-ADENOSYL-L-HOMOCYSTEINE.

L'analyse visuelle des meilleurs complexes formés par les quatre composés avec la cible protéique a été réalisée (**Tableau 16**).

Tableau16 : Les liaisons formées entre le ligand de référence et les meilleurs inhibiteurs avec le site actif de la 3CBM.

| Complexe | Acides amines | Distance (Å°) | Type | Catégorie |
|-------------------------------------|---------------|---------------|----------------------------|-------------------|
| 3CBM + SAH | GLU A : 279 | 4.68067 | Attractive charge | Attractive charge |
| | ASN A : 265 | 2.77619 | Conventional hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | HIS A : 297 | 2.33547 | Conventional hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | ASN A : 282 | 2.03398 | Conventional hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | ASN A : 265 | 2.37522 | Conventional hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | TYR A : 335 | 3.43278 | Carbon hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | TYR A : 335 | 3.1545 | Carbon hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | TRP A : 352 | 4.64505 | PiPi-stacked | Hydrophobique |
| | TRP A : 352 | 4.08602 | PiPi-stacked | Hydrophobique |
| | TRP A : 353 | 3.77865 | PiPi-stacked | Hydrophobique |
| | TRP A : 352 | 3.6849 | PiPi-stacked | Hydrophobique |
| | ALA A : 226 | 4.75334 | Pi-alkyl | Hydrophobique |
| ALA A : 226 | 4.0247 | Pi-alkyl | Hydrophobique | |
| 3CBM + 26-hydroxycholestérol | ARG : 258 | 1.81017 | Conventionalhydrogen bond | Hydrogen bond |
| | VAL A : 255 | 5.43339 | Alkyl | Hydrophobic |
| | LEU A :267 | 5.42308 | Alkyl | Hydrophobic |
| | TRP A :260 | 5.49056 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| | TRP A :260 | 4.34759 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| | TYR A :337 | 4.91587 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| 3CBM +stigmastérol | TRP A : 260 | 4.71153 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| 3CBM+β Sitostérol | ASP A : 256 | 2.82794 | Conventional hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | TRP A : 260 | 4.62716 | Pi-Alkyl | Hydrophobic |
| | TYR A : 305 | 5.2587 | Pi-Alkyl | Hydrophobic |
| 3CBM+ choléstanol | GLU A : 279 | 2.74587 | Conventional hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | TRP A : 352 | 3.71678 | Pi-Sigma | Hydrophobic |
| | TRP A : 352 | 3.97239 | Pi-Sigma | Hydrophobic |
| | ILE A : 223 | 5.26872 | Alkyl | Hydrophobic |
| | ALA A : 226 | 3.75565 | Alkyl | Hydrophobic |
| | TRP A : 352 | 4.953 | Pi-Alkyl | Hydrophobic |
| | TRP A : 352 | 4.87609 | Pi-Alkyl | Hydrophobic |
| | TRP A : 352 | 4.81066 | Pi-Alkyl | Hydrophobic |
| | TRP A : 352 | 3.92091 | Pi-Alkyl | Hydrophobic |

➤ **Ligand de référence SAH**

La visualisation des interactions réalisée dans le **Tableau 16** et la **figure 31** montre l'existence de :

- ✓ Sept interactions de type Van Der Waals formées par : HIS 293, GLY 264, LYS 294, ASN 296, SER 225, GLU 235 et ILE 227.
- ✓ Une liaison électrostatique de type attractive charge établit GLU 279 avec une distance de 4.680677 Å°.

- ✓ Cinq liaisons de type Conventional hydrogen bond entre l'enzyme et l'oxygène(O) du ligand SAH par les résidus suivants : ASN 265, HIS 297, ASN 282, ASN 265, TYR 335 et TYR 335 avec : 2.77619 Å, 2.33547 Å, 2.03398 Å, 2.37522 Å et 2.67702 Å, 3.43278 Å et 3.1545 Å de distances, respectivement.
- ✓ Deux liaisons de type carbon hydrogen bond formées par deux acides aminés TYR 335 et TYR 335 avec 3.43278 Å et 3.1545 Å de distances, respectivement.
- ✓ Quatre liaisons hydrophobiques de type Pi-stacked faisant intervenir les acides aminés suivant : TYR 352, TYR 352, TYR 352 et TYR 352 avec 4.6505 Å, 4.08601 Å, 3.77865 Å et 3.6849 Å, respectivement.
- ✓ Deux liaisons hydrophobiques de type pi-alkyl établies par ALA 226 et ALA 226 et 4.75334 Å et 4.0247 Å de distance.

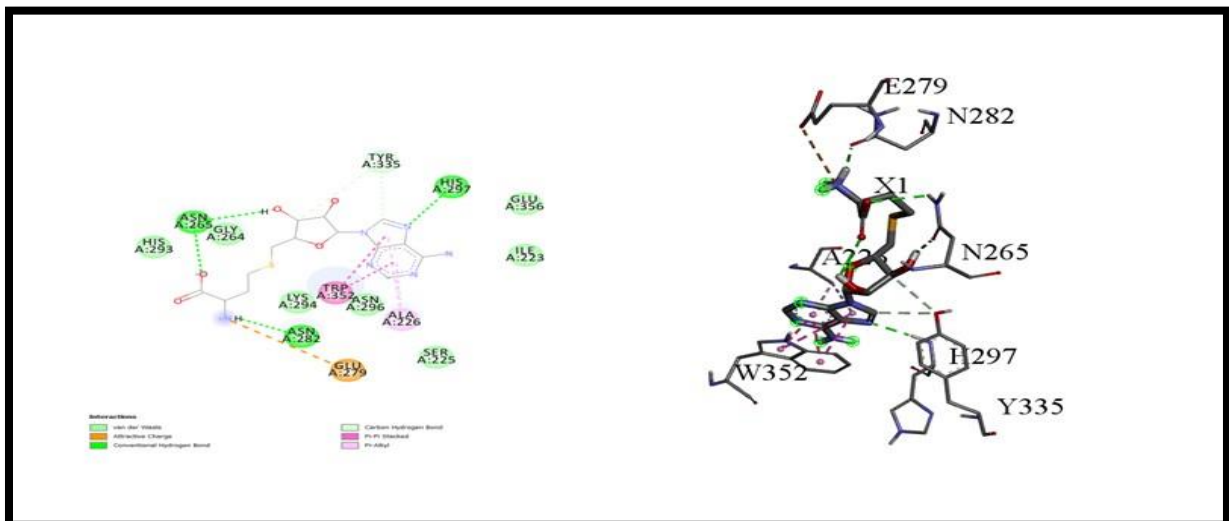


Figure 31 : Les interactions entre le site actif de la 3CBM et le ligand de référence (SAH).

➤ 26-hydroxycholéstérol

L'analyse visuelle montre les nouvelles liaisons établies entre l'enzyme et 26-hydroxycholéstérol dans le schéma 2D (**Figure 30**) :

- ✓ Neuf interactions de type Van Der Waals faisant établit : GLU 358, THR 266, TYR 335, TYR 305, GLY 336, SER 268, ASP 226, ASN 263 et ASP 259.
- ✓ Une liaison de type Conventional hydrogen bond établit par ARG 258 avec la distance de 1.8117 Å.
- ✓ Deux liaisons hydrophobiques de type alkyl faisant intervenir les acides aminés : VAL 255 et LEU 267 avec 5.43339 Å et 5.42308 Å de distance, respectivement.

- ✓ Trois liaisons de type pi-alkyl formées par : TRP 260, TRP 260 et TYR 337 avec 4.34759 Å et 4.91587 Å de distance, respectivement.

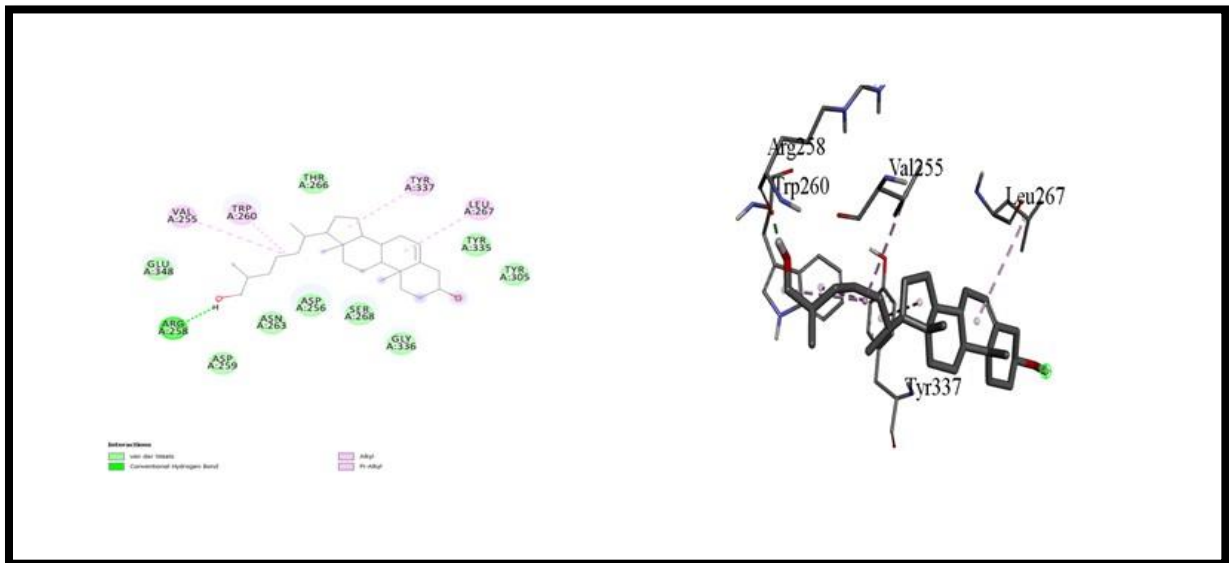


Figure 32 : Les interactions entre le site actif de 3CBM et le 26-hydroxycholéstérol.

➤ **Stigmastérol**

Selon l'analyse visuelle, ce ligand se lie avec le récepteur par :

- ✓ Quatorze interactions de type Van Der Waals faisant établit : ASP 338, TYR 337, TYR 335, GLY 336, ALA 334, TYR 305, LYS 305, LYS 317, LEU 267, SER 268, THR 266, VAL 255, ASN 263, GLY 348 et ASP 256.
- ✓ Une liaison hydrophobique de type Pi-alkyl établit par le résidu TRP 260 avec la distance suivante 4.71153 Å°.

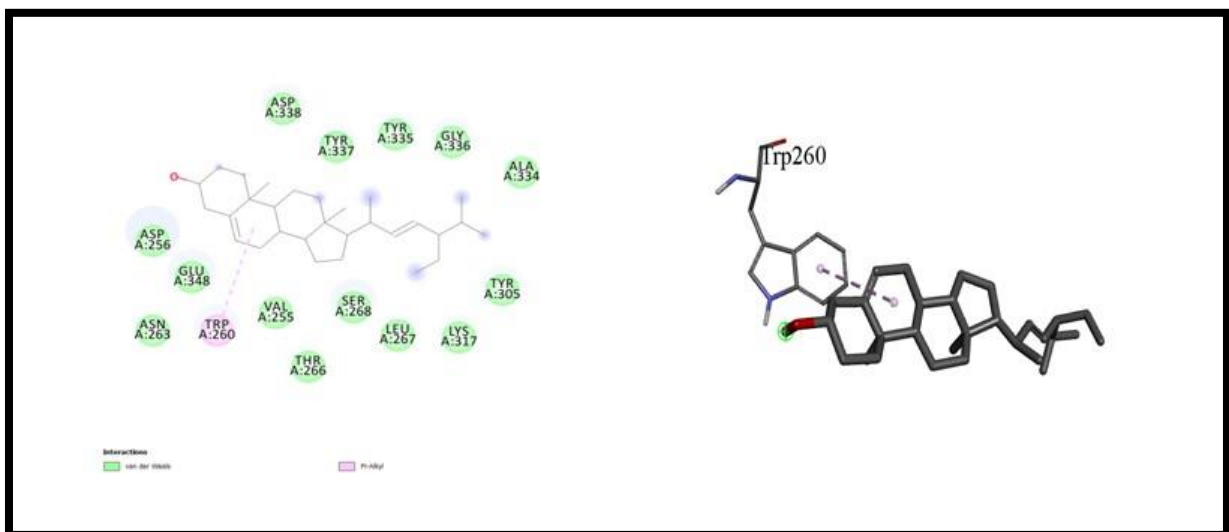


Figure 33 : Les interactions entre le site actif de 3CBM et le stigmastérol.

➤ β -sitostérol

L'analyse du diagramme 2D (**Figure 34**) révèle que le 3CBM à former des nouvelles liaisons avec le β -Sitostérol :

- ✓ Douze interactions de type Van Der Waals faisant intervenir les acides aminés suivants : ASP 338, GLY 336, ALA 334, LYS 317, TYR 335, LEU 267, TYR 337, SER 268, THR 266, VAL 255, ASN 263 et GLU 348.
- ✓ Une interaction Conventional hydrogen bond établit par l'acide aminé ASP 256 avec une distance de 2.82794 Å.
- ✓ Deux liaisons hydrophobiques de type Pi-Alkyl qui fait intervenir TRP 260 et TYR 305 avec 4.62716 Å et 5.2587 Å, respectivement.

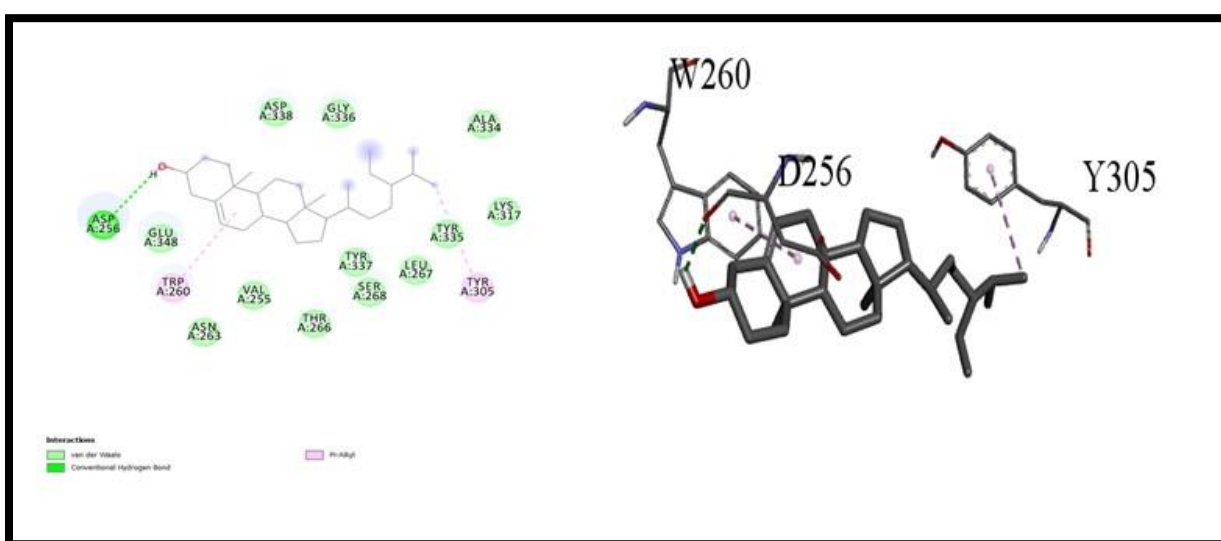


Figure 34 : Les interactions entre le site actif de 3CBM et le β -sitostérol.

➤ Choléstanol

La visualisation des interactions du complexe a montré l'existence de :

- ✓ Huit interactions de type Van Der Waals faisant intervenir les acides aminés suivantes : SER 224, GLU 356, HIS 297, ASN 296, TYR 335, GLY 264, ASN 265 et ASN 282.
- ✓ Une liaison de type Conventional hydrogen bond formé entre l'enzyme et le ligand par GLU 279 avec 2.74587 de distance.
- ✓ Huit liaisons hydrophobiques :
 - Deux interactions de type Pi-Sigma établit par TYR352 et TRP 352 avec 3.71678 Å et 3.97239 Å de distance.

- Deux interactions de type Alkyl par deux acides aminés ILE 223 et ALA 226 avec 5.26872 Å et 3.75565 Å de distance.
- Quatre interactions de type Pi-Alkyl formé par TRP 352, TRP 352, TRP 352 et TRP 352 avec des distances de 4.953 Å, 4.87609 Å, 4.81066 Å et 3.92091 Å, respectivement.

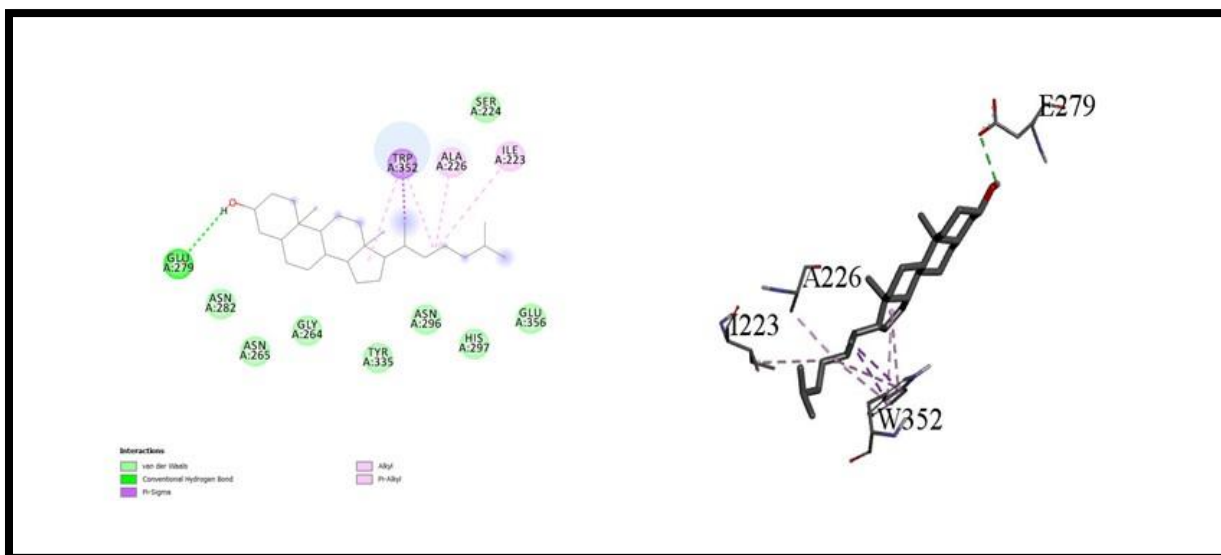


Figure 35 : Les interactions entre le site actif de 3CBM et le choléstanol.

1.1.4. Étude des interactions Ligands-Acétylcholinestérase

Les résultats du criblage visuels de la cible 1EVE avec 4 ligands ont montré que le choléstanol et le 26-hydroxycholésterol ont les plus faibles énergies par rapport aux autres ligands et ligand référence. Par contre, le stigmastérol et le β -sitostérol ont donné des meilleures énergies par rapport au ligand référence. Donc, ces ligands peuvent être proposés comme de nouveaux inhibiteurs sur l'acétylcholinestérase, cible enzymatique impliquée dans la maladie d'Alzheimer.

Tableau 17 : Résultats de docking moléculaires des inhibiteurs avec l'acétylcholinestérase.

| | 1EVE-chaine A | |
|--------------------------------------|---------------|-------------------|
| | RMSD | Energie(kcal/mol) |
| Ligand réf (E20) | 0.0 | -11.0 |
| Stigmastérol | 0.0 | -11.6 |
| β-sitostérol | 0.0 | -11.5 |
| 26-hydroxycholésterol | 0.0 | -10.9 |
| Choléstanol | 0.0 | -10.8 |

E20: 1-BENZYL-4-[(5,6-DIMETHOXY-1-INDANON-2-YL) METHYL] PIPERIDINE.

En complément des résultats obtenus, une analyse visuelle des meilleurs complexes entre les stéroïdes (stigmastérol et β -sitostérol) avec la cible protéique a été réalisée (**Tableau 18**).

Tableau 18 : Les liaisons formées entre le ligand de référence et les meilleurs inhibiteurs avec le site actif de la 1EVE.

| Complexe | Acides aminés | Distance (Å) | Type | Catégorie |
|---|---------------|--------------|----------------------------|---------------|
| 1EVE + E20 | ASP A :72 | 4.84604 | Attractive charge | Electrostatic |
| | PHE A : 288 | 2.37314 | Conventional hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | TYR A :70 | 3.56771 | Carbon hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | SER A :286 | 3.60365 | Carbon hydrogen bond | Hydrogen bond |
| | PHE A :330 | 4.7333 | Pi cation | Electrostatic |
| | TRP A :279 | 3.73922 | Pi sigma | Hydrophobic |
| | TRP A :84 | 3.92288 | Pipi stacket | Hydrophobic |
| | TRP A :84 | 3.96748 | Pipi stacket | Hydrophobic |
| | TRP A :279 | 5.32224 | Pipi stacket | Hydrophobic |
| | TRP A :279 | 4.01144 | Pipi stacket | Hydrophobic |
| | TYR A :70 | 4.63266 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| | TRP A :279 | 4.05389 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| 1EVE + β Sitostérol | PHE A :330 | 3.58995 | Pi sigma | Hydrophobic |
| | TRP A :84 | 3.80689 | Pi sigma | Hydrophobic |
| | TRP A :84 | 3.83043 | Pi sigma | Hydrophobic |
| | TRP A :279 | 4.89508 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| | TRP A :279 | 4.0194 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| | TYR A :334 | 4.43944 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| 1EVE + stigmastérol | TRP A :84 | 3.78082 | Pi sigma | Hydrophobic |
| | TRP A :84 | 4.077981 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| | TRP A :84 | 4.97838 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| | TRP A :279 | 4.92413 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| | TRP A :279 | 4.101188 | Pi alkyl | Hydrophobic |
| | PHE A :330 | 4.42091 | Pi alkyl | Hydrophobic |

➤ Ligand de référence E20

La visualisation du diagramme 2D (**Figure 36**) des interactions résultantes du complexe 1EVE recep-teur-E20ligand de référence révèle que la stabilisation de ce dernier est établie par nombreuses liaisons :

- ✓ Onze interactions de type Van Der Waals qui fait intervenir onze acides aminés : GLY 118, GLU 199, GLY 441, HIS 440, TYR 121, TYR 334, PHE 331, ILE 287, PHE 290, ARG 289, LAU 282.

- ✓ Deux liaisons électrostatiques, une de type attractif charge avec une distance de 4.8604 Å par ASP 72 et une autre interaction de type Pi-cation par l'acide aminé PHE 330 avec une distance de 4.7333 Å.
- ✓ Une liaison de type Conventional hydrogen bond fait intervenir PHE 288 avec la distance 2.37314 Å.
- ✓ Deux liaisons de type carbon hydrogen bond formées par TYR 70 et SER 286 avec les deux distances suivantes : 3.56771 Å et 3.60365 Å, respectivement.
- ✓ Sept liaisons hydrophobiques de différents types :
 - Une interaction de type Pi-sigma formé par l'acide amine TRP 279 avec une distance de 3.73922 Å.
 - Quatre interactions de type Pipi-stacked faisant intervenir quatre acides aminés : TYR 84, TRP 84, TRP 279 et TRP 279 avec les distances suivantes : 3.92288 Å, 3.96148 Å, 5.32224 Å et 4.01144 Å, respectivement.
 - Deux interactions de type Pi-alkyl établies par deux résidus : TYR 70 et TRP 279 par les distances suivantes : 4.63266 Å et 4.05389 Å, respectivement.

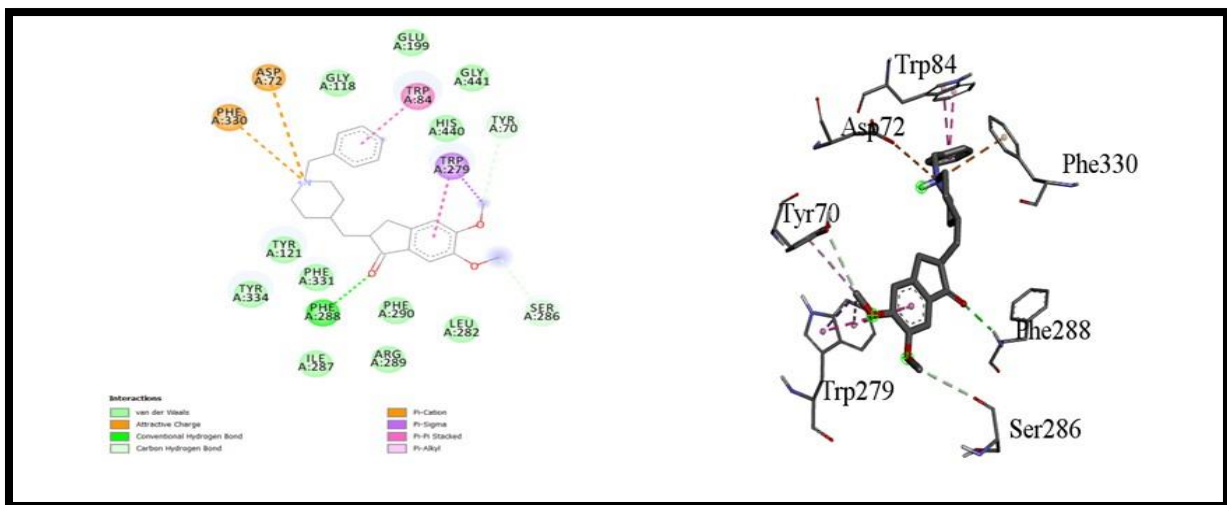


Figure 36 : Les interactions entre le site actif de 1EVE et le ligand de référence (E20).

➤ β -sitostérol

La stabilisation du complexe 1EVE- β -sitostérol est formée par de différents types de liaisons (**Figure 37**) :

- ✓ Douze interactions de type Van Der Waals faisant établit : GLY 441, HIS 440, PHE 331, TYR 121, TYR 70, SER 286, GLY 335, LEU 282, ARG 289, ILE 287, PHE 288 et PHE 290.
- ✓ Six interactions de type hydrophobiques.

- Trois interactions de type Pi-sigma faisant intervenir les acides aminés suivants : PHE 331, TRP 84 et TRP 84 avec les distances suivantes : 3.58995 Å°, 3.806089 Å° et 3.83044 Å°, respectivement.
- Trois interactions de type Pi-alkyl formées par trois acides aminés TRP 279, TRP 279 et TYR 334 avec les distances suivantes : 4.89508 Å°, 4.0194 Å° et 4.43944 Å°, respectivement.

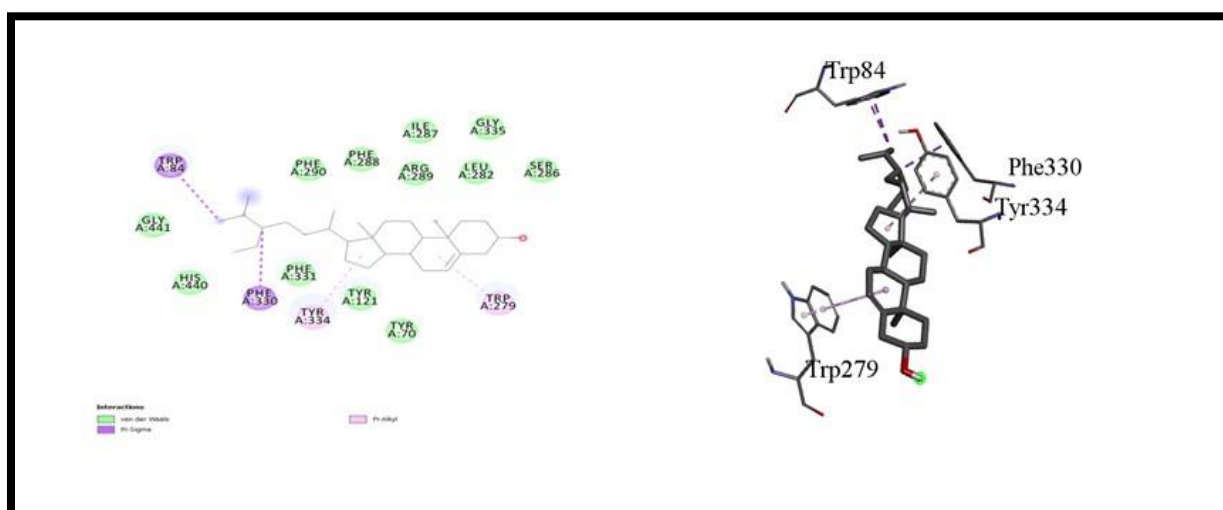


Figure 37 : Les interactions entre le site actif de 1EVE et le β -sitostérol.

➤ Stigmastérol

L'analyse visuelle du schéma 2D (**Figure 38**) montre la présence de treize interactions de Van Der Waals dans la formation du complexe 1EVE-stigmastérol faisant intervenir : HIS 440, PHE 331, TYR 121, TYR 70, TYR 334, ASP 72, PHE 290, PHE 288, ILE 287, SER 81, ARG 289, LEU 282 et SER 286.

Six liaisons de type hydrophobiques sont aussi formées selon la répartition suivante :

- ✓ Une interaction de type Pi-sigma établit par le résidu TRP 84 avec la distance suivante 3.78082 Å°.
- ✓ Cinq interactions de type Pi-alkyl formées par TRP 84, TRP 84, TRP 279, TRP 279 et PHE 330 avec les distances suivantes : 4.077981 Å°, 4.97838 Å°, 4.92413 Å°, 4.101188 Å° et 4.4209 Å°, respectivement.

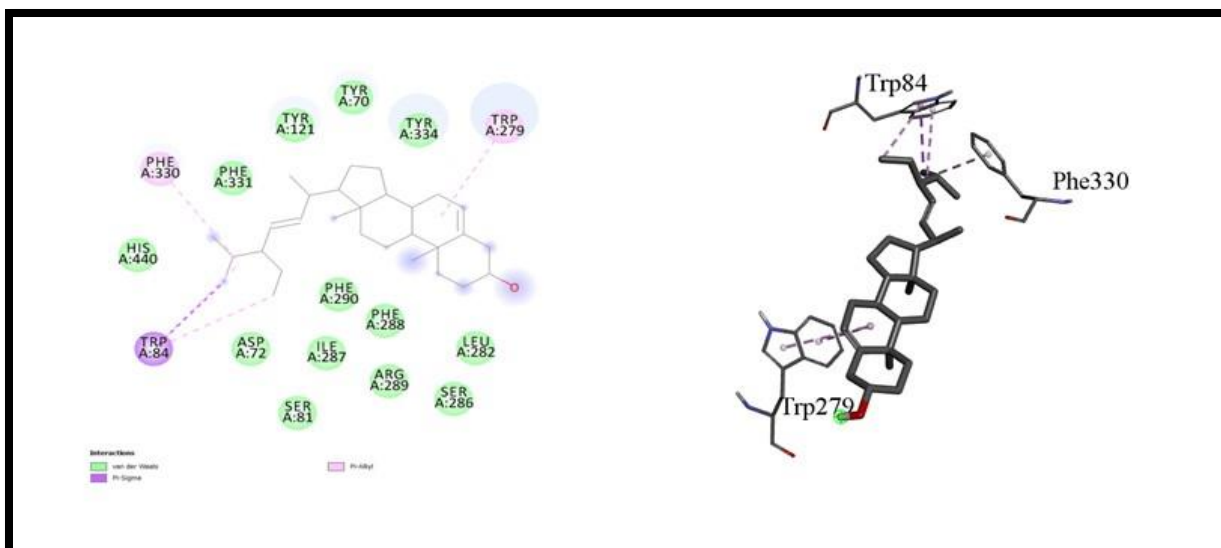


Figure 38 : Les interactions entre le site actif de 1EVE et le stigmasterol.

1.2. Etude des propriétés ADMET

Dans ce contexte et pour compléter notre étude, nous avons évalué certaines propriétés physicochimiques en appliquant la règle de Lipinski et Veber. De plus, nous avons également déterminé certaines propriétés pharmacocinétiques afin de pouvoir affirmer si nos composés peuvent être proposés comme un candidat médicament.

1.2.1. Propriété physico-chimique

Afin d'appliquer les deux règles drug-likeness : Lipinski et Veber, il était indispensable dans notre étude d'évaluer certaines propriétés physico-chimiques (**Tableau 19**).

Tableau 19 : Résultats des propriétés physico-chimiques.

| Propriété | Paramètres | Choléstanol | Stigmasterol | β -sitostérol | 26-Hydroxycholestérol |
|------------------|-------------------------|--------------|--------------|---------------------|-----------------------|
| Physico-chimique | MW (mg) | 388.370 | 412.370 | 414.390 | 402.350 |
| | Log P | 7.272 | 7.436 | 7.663 | 6.099 |
| | nHA | 1 | 1 | 1 | 2 |
| | nHD | 1 | 1 | 1 | 2 |
| | n.LF | 5 | 5 | 6 | 6 |
| | TPSA (\AA^2) | 20.230 | 20.230 | 20.230 | 40.460 |
| | Règle de Lipinski | Oui | Oui | Oui | Oui |
| | Règle de Veber | Oui | Oui | Oui | Oui |

MW : poids moléculaire ; LogP : l'hydrophobicité ; n.HA : le nombre d'accepteur d'hydrogène ; n.HD : le nombre de donneur d'hydrogène ; n.LF : nombre de liaisons flexibles ; TPSA : la surface polaire topologique.

L'analyse des résultats du tableau montre que :

- ✓ Les quatre inhibiteurs répondent parfaitement aux critères des règles de Lipinski et Veber ce qui indique qu'ils peuvent être administrés par voie orale sans poser des problèmes. Cependant, nous avons noté une faible solubilité ($\text{Log } P < 5$) de tous ces composés dans l'eau ce qui rend leurs solubilités dans le sang un peu difficile.

1.2.2. Propriétés pharmacocinétiques

Dans ce contexte, il était indispensable de conforter notre étude par une évaluation de certains paramètres pharmacocinétiques régissant les critères ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, et Toxicité).

➤ Absorption

Un bon candidat-médicament doit être rapidement et complètement absorbé dans la circulation systémique (sanguine). Dans notre travail, nous avons prédit trois paramètres pharmacocinétiques qui sont résumés dans le **tableau 20**.

Tableau 20 : Résultats de l'absorption.

| Molécules | Absorption | | |
|--------------------------------------|------------|-----|-----|
| | Caco-2 | HIA | F% |
| Choléstanol | -4.802 | Oui | Oui |
| Stigmasterol | -4.668 | Oui | Oui |
| β-sitostérol | -4.756 | Oui | Oui |
| 26-Hydroxycholestérol | -4.744 | Oui | Oui |

Caco-2 : Adénocarcinome du côlon humain, HIA : Absorption intestinale humaine, F% : La biodisponibilité orale.

D'après ce tableau, nous pouvons dire que :

- ✓ Les quatre inhibiteurs possèdent une réponse positive (Oui) au paramètre F%. Cela signifie que les candidats présentent une biodisponibilité orale et ils peuvent être administrés par voie orale et par la suite la dose du médicament peut atteindre finalement le site d'action thérapeutique.
- ✓ Les quatre inhibiteurs présentent des réponses positives (Oui) au paramètre HIA. Cela veut dire que les candidats administrés par voie orale sont absorbés du système gastro-intestinal dans la circulation sanguine du corps humain.

- ✓ Les quatre inhibiteurs possèdent une valeur de Caco-2 supérieur à -5.15 (> -5.15 cm/s). Ceci montre une bonne perméabilité à travers les cellules Caco-2.

➤ **Distribution**

Un bon candidat-médicament doit être distribué spécifiquement vers son site d'action dans le corps. Dans notre travail, nous avons prédit trois paramètres pharmacocinétiques correspondants à la distribution, à savoir : PPB, VD et BBB à l'aide du serveur ADMETlab. Les résultats sont regroupés dans le **tableau 21**.

Tableau 21 : Résultats de la distribution.

| | Distribution | | |
|------------------------------|---------------------|------------------|------------|
| | PPB (%) | VD (L/kg) | BBB |
| Cholestanol | 98.535 | 1.606 | Non |
| Stigmasterol | 98.671 | 2.408 | Non |
| β-sitosterol | 98.314 | 1.963 | Non |
| 26-Hydroxycholesterol | 98.248 | 1.441 | Non |

PPB : La liaison aux protéines plasmatiques humaines ; BBB : La barrière hémato-encéphalique ; VD : volume de distribution

L'analyse des résultats du tableau montre que :

- ✓ Les quatre inhibiteurs possèdent un pourcentage de PPB supérieur à 90% ($> 90\%$). Ceci montre que les candidats ne peuvent pas former assez de liaison aux protéines plasmatiques humaines.
- ✓ Les inhibiteurs présentent une réponse négative (Non) au BBB, donc ils possèdent une mauvaise distribution au niveau central.
- ✓ Ainsi que les composés candidat possèdent un volume de distribution entre 0.04-20L/kg, cela veut dire que ces composés peuvent être distribués dans la circulation sanguine.

➤ **Métabolisme**

Un bon candidat-médicament doit être métabolisé d'une manière à ne pas altérer les fonctions de l'organisme. Dans notre travail, nous avons prédit deux paramètres pharmacocinétiques correspondant au métabolisme, à savoir : CYP450 Substrat et CYP450 Inhibiteur.

Tableau 22 : Résultats de Métabolisme.

| | Choléstanol | Stigmastérol | β-sitostérol | 26-hydroxycholestérol |
|---------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|------------------------------|
| CYP1A2 Inhibiteur | --- | --- | --- | --- |
| CYP1A2 Substrat | - | + | - | - |
| CYP2C19 Inhibiteur | --- | --- | --- | --- |
| CYP2C19 Substrat | +++ | +++ | +++ | ++ |
| CYP2C9 Inhibiteur | --- | -- | --- | -- |
| CYP2C9 Substrat | + | -- | - | -- |
| CYP2D6 Inhibiteur | --- | --- | --- | --- |
| CYP2D6 Substrat | - | + | - | + |
| CYP3A4 Inhibiteur | -- | - | -- | -- |
| CYP3A4 Substrat | - | ++ | ++ | - |

Bon Métabolisme : ---, Mauvais Métabolisme : +++

L'analyse des résultats du **tableau 22** montre que :

- ✓ Les réponses négative (Non) aux tests P450 CYP inhibiteur vis-à-vis de l'activité des isoenzymes CYP (1A2, 2C19, 2C9, 2D6, 3A4) confirme un bon métabolisme pour tous les inhibiteurs, c'est-à-dire il n'y a pas d'influence sur l'activité des isoformes de l'enzyme CYP450.
- ✓ Les inhibiteurs présentent une réponse positive (Oui) aux tests P450 CYP substrat confirme un mauvais métabolisme pour les candidats.

➤ **Excrétion**

Un bon candidat-médicament doit être éliminé de manière appropriée sans causer de dommages. Dans notre travail, nous avons prédit deux paramètres pharmacocinétiques correspondant à l'excrétion, à savoir : le temps demi-vie ($T_{1/2}$) exprimé et la Clairance (CL).

Tableau 23 : Résultats de l'excrétion.

| | Excrétion | |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------------|
| | CL (mL/min/kg) | $T_{1/2}$ |
| Choléstanol | 18.341 | 0.025 |
| Stigmastérol | 15.958 | 0.014 |
| β-sitostérol | 16.686 | 0.013 |
| 26-hydroxycholestérol | 17.743 | 0.032 |

CL : La Clairance, $T_{1/2}$: Le temps demi-vie.

L'analyse des résultats du tableau 23 montre que :

- ✓ Pour les quatre inhibiteurs la clairance est supérieure à > 15 (CL > 15 mL/min/kg), ce qui signifie que les composés ont une bonne excrétion.
- ✓ Concernant le temps de demi-vie ($T_{1/2}$), les quatre inhibiteurs détiennent des valeurs qui varient entre 0-0.3, donc le $T_{1/2}$ supérieure à 3h ($T_{1/2} > 3h$) cela, signifie une bonne excrétion.

➤ Toxicité

Un candidat-médicament doit présenter un profil de sécurité acceptable dans toutes les études toxicologiques requises. Le serveur ADMETlab utilise des descripteurs permettant non seulement de déterminer le profil de sécurité mais aussi de simuler les degrés des effets toxiques potentiels d'un composé vis-à-vis de plusieurs tests. Dans notre travail, nous avons simulé la toxicité potentielle des composés par les tests de hERG et d'AMES.

Tableau 24 : Résultats de la toxicité.

| | Toxicité | |
|--------------------------------------|----------|------|
| | AMES | hERG |
| Choléstanol | --- | -- |
| Stigmastérol | --- | --- |
| β-sitostérol | --- | --- |
| 26-hydroxycholestérol | --- | --- |

L'analyse des résultats d'après le **tableau 24**, nous a poussé à dire que :

- Tous les composés testés présentent un test hERG négative. Ces candidats ne tendent pas à développer des problèmes cardiaques.
- Tous les composés testés ne possèdent aucun effet mutagène selon le test d'AMES.

2. Discussion

D'après notre propre connaissance sur l'étude *in silico* et l'évaluation des propriétés antioxydante, anti-inflammatoire, anti-cancéreuse et neurodégénérative de la plante choisie. Il est nécessaire de comparer nos résultats avec la littérature.

Les travaux antérieurs trouvés par **Ayaz et al. (2017)** ont évalué le β -sitostérol contre plusieurs cibles pathologiques de la maladie d'Alzheimer. Les études *in vitro* ont démontré que le β -sitostérol est doté d'une forte potentielle anti-acétylcholinestérase et que ce composé parvient de façon adéquate au cerveau et inhibe les enzymes impliquant dans le métabolisme des cholinestérases dans des études *in vivo*. En **2019**, **Cao et al.** Dans leur étude ont démontré

pour la première fois l'effet du β -sitostérol en monothérapies et en association avec des médicaments contre le cancer du pancréas. Cette molécule a le potentiel d'être un médicament anti-inflammatoire en raison de sa source étendue ses propriétés naturelles non toxiques (**Yanan et al., 2020**).

En comparaison avec la littérature, **Baskar et al., (2012)** ont révélé que le β -sitostérol a une capacité de piégeage des radicaux libres. De même les études réalisées par (**Yoshida et Niki, 2003**), ont mis en évidence que les phytostérols β -sitostérol et stigmastérol ont des effets antioxydants contre les lipides peroxydase.

Selon **Pratiwi et al. (2021)**, le stigmastérol est un composé bioactif promoteur pour la réduction des troubles neurodégénératives. Son effet inhibiteur contre divers types de cancer est confirmé, dont l'hépatome (**Kim et al., 2014**), le cancer de la peau (**Ali et al., 2015**) et le cancer du sein (**Ayaz et al., 2019**).

Dans notre travail, les quatre stérols : le choléstanol, le stigmastérol, le β -sitostérol et le 26-hydroxycholestérol possèdent un bon profil ADMET et valident les règles de Lipinski et Veber et peuvent atteindre la phase clinique à cause de ses paramètres pharmacocinétiques favorable et un profil ADMET acceptable. Cependant, ils présentent une réponse négative (Non) au BBB, donc ces composés possèdent une mauvaise distribution au niveau central. Ce résultat est confirmé par la littérature (**Naspiah et al., 2021**).

Partie 4

« Conclusion et perspectives »

Notre travail sur la modélisation moléculaire par docking avec AutoDock vina, a pour but essentiel d'étudier *in silico* des interactions des nouveaux inhibiteurs de type stérols extraits de la plante *A. articulata*. Les tests sont réalisés sur la xanthine oxydase (XO), le cyclooxygénase-2 (COX-2), l'estrogène et l'acétylcholinestérase (AChE), cibles enzymatiques impliquées dans les propriétés antioxydante, anti-inflammatoire, anti-cancéreuse et contre la maladie neurodégénérative, respectivement.

Les résultats du docking ont montré que les quatre inhibiteurs ont donné des meilleures énergies par rapport au ligand de référence avec l'estrogène, avec la XO sauf le β -sitostérol, avec le COX-2 sauf le choléstanol, et avec l'AChE où les seuls composés stigmastérol et β -sitostérol ont donné des meilleures énergies par rapport au ligand de référence. Les interactions qui gouvernent la stabilité de chaque complexe sont de type hydrophobique.

Cette étude est portée aussi sur l'évaluation des différentes propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques dont les résultats ont montré que les quatre composés possèdent un bon profil ADMET et valident les règles de Lipinski et Veber.

Les résultats obtenus au cours de ce travail ne sont que préliminaires. Il conviendrait dans l'avenir d'approfondir notre recherche en testant expérimentalement l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anti-cancéreuse et neurodégénérative de ces molécules.

« Références bibliographiques »

- Abbott, N. J., Rönnbäck, L., Hansson, E. (2006). Astrocyte–endothelial interactions at the blood–brain barrier. *Nature Reviews Neuroscience*, 7 (1): 41-53.
- Abdallah, H.M., Abdel-Naim, A.B., Ashour, O.M., Shehata, I.A., Abdel-Sattar, E.A. (2014). Anti-inflammatory activity of selected plants from Saudi Arabia. *Z Naturforsch C*, 69: 1–9.
- Agarwal, S., Ranjana, M. (2016). An overview of Molecular Docking. *JSM Chemistry*,4(2): 1024.
- Ali, H., Dixit, S., Ali, D., Alqahtani, S. M., Alkahtani, S., Alarifi, S. (2015). Isolation and evaluation of anticancer efficacy of stigmasterol in a mouse model of DMBA induced skin carcinoma. *Drug Des. Devel. Ther*, 9: 2793–800.
- Amado, P.S.M., Woodley, C., Cristiano, M.L.S., O’Neill, P.M.(2022). Recent Advances of DprE1 Inhibitors against *Mycobacterium tuberculosis*: Computational Analysis of Physicochemical and ADMET Properties. *Journal from the American Chemical Society*, 7(45): 40659–40681.
- Ayaz, M., Junaid, M., Ullah, F., Subhan, F., Sadiq, A., Ali, G., Ovais, M., Shahid, M., Ahmed, A., Wadood, A., El-shazy, M., Ahmed, N., Ahmed, S., Ahmad, S. (2017). Anti-Alzheimer’s Studies on β -Sitosterol Isolated from *Polygonum hydropiper* L. *Frontiers in Pharmacology*, 8:697.
- Ayaz, M., Sadiq, A., Wadood, A., Junaid, M., Ullah, F., Zaman, Khan, N. (2019). Cytotoxicity and molecular docking studies on phytosterols isolated from *Polygonum hydropiper* L. *Steroids*, 141: 30–35.
- Baskar, A., Numair, K., Alsaif, M., Igmasimuthu, S. (2012). *In vitro* antioxidant and antiproliferative potential of medicinal plants used in traditional Indian medicine to treat cancer, 17: 145-156.
- Benveniste, P. (1986). Sterol biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol*, 37: 25–308.
- Biganska, O. (2010). Étude physico-chimique des solutions de cellulose dans la N-Méthylmorpholine-N-Oxyde. Thèse de Doctorat. Science et Génie des Matériaux. École Nationale Supérieure des Mines de Paris. Français.
- Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., Gismondi, A., Di Marco, G., Canini, A., Atik-Bekkara, F. (2019). GC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of alkaloids extracted by polar and apolar solvents from the stems of *Anabasis articulata*. *Med. Chem. Res*, 28:754–767.

- Benhammou, N., Ghembaza, N., Benabdelkader, S., Atik-Bekkara, F., Kadifkova Panovska, T. (2013). Phytochemicals and antioxidant properties of extracts from the root and stems of *Anabasis articulata*. *Int Food Res J*, 20:2057–2063.
- Ben Menni, D., Belyagoubi-Benhammou, N., Benmahieddine, A., Ben Menni, H., Gismondi, A., Monteleone, V., Di Marco, G., D'Agostino, A., Canini, A., Benamar, H., Atik-Bekkara, F. (2022). Identification of Sterols from *Anabasis articulata* (Forssk.) Moq. (Chenopodiaceae) Growing in Algeria and Study of Their Potential Bioactivity. Waste and Biomass Valorization. doi :10.1007/s12649-022-01717-w.
- Bou-Salah, L. (2021). Étude in vitro et in silico de l'effet inhibiteur de quelques molécules pures et extraits naturels sur la xanthine oxydase : traitement de la goutte. Thèse de Doctorat. Sciences Biologiques. Université Amar Telidji Laghouat. Faculté des sciences. Département de biologie.
- Bourguignon, L. (2009). Modélisation pharmacocinétique - pharmacodynamique et techniques de simulation appliquées à l'évaluation de stratégies thérapeutiques en infectiologie. Thèse de Doctorat. Evolution Ecosystèmes Microbiologie Modelisation. Université Claude Bernard Lyon 1.
- Boutaghane, N. (2013). Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales algériennes *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Sch. Bip.) Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae). Thèse de doctorat. Chimie Pharmaceutique. Université de Constantine 1. Faculté des sciences exactes. Département de Chimie.
- Boucharga, S. (2018). Modelisation des interactions proteine-petites molecules : etude de la relation structure –fonction dans le cas des lipases. Thèse de doctorat. Chimie Organique et Bioorganique. Université badjimokhtar-annaba.
- Braiuca, P., Ebert, C., Basso, A., Linda, P., Gardossi, L. (2006). Computational methods to rationalize experimental strategies in biocatalysis. *Trends in Biotechnology*, 24(9):419-425.
- Breemen, V.R. B., Li, Y. (2005). Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology, 1:175-185.
- Cao, Z.Q., Wang, X., Lu, L., Xu, J.W., Li, X.B., Zhang, G., Ma, J.Z., Shi, A.C., Song, J., Song, Y.J. (2019). β -Sitosterol and Gemcitabine Exhibit Synergistic Anti-pancreatic Cancer Activity by Modulating Apoptosis and Inhibiting Epithelial–Mesenchymal Transition by Deactivating Akt/GSK-3 β Signaling. *Frontiers in Pharmacology*, 8(9):1525.

- Castellani, R.J., Rolston, R.K., Smith, M.A. (2010). Alzheimer disease. *Dis. Mon*, 56 : 484–546.
- Capecch, A., Mahendra, A., Daniel, P., Reymond, J.L. (2019). PubChem and ChEMBL beyond Lipinski. *Mol Inform*, 38(5):1-12.
- Charly, E.M (2017). Développement d’outils statistiques d’évaluation de méthodes de criblage virtuel : courbes de prédictivité & Screening Explorer. Thèse de doctorat. Bioinformatique, Biologie Systémique. Conservatoire national des arts et métiers – CNAM.
- Chedik, L. (2017). Prédiction in silico de l’absorption intestinale et de la pénétration cérébrale des pesticides chez l’homme. Thèse de Doctorat. Pharmacie. Université de Rennes 1.
- Chidi, U.S., Nnenna, A.O., Kelechi, A.K., Chijindu, M.F., Nebolisa, O.C. (2020). In-vitro and in vivo Antioxidant Activity of Ethanol Leaf Extract of *Justicia carnea*. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 29:48-60.
- Clere, N. (2016). Les traitements du cancer du sein .*Actualités pharmaceutique*, 55(558) :20-25.
- Dekkiche, Z., Benaiche, S. (2018). Modélisation par Docking moléculaire de l’interaction Enzyme-Inhibiteur : Cas de la Tyrosine kinase-JAK2 en tant-que cible thérapeutique impliquée dans les pathologies du sang. Mémoire de master. Biochimie appliquée. Constantine. Université Mentouri Constantine. Algérie.
- Dong, J., Wang, N., Yao, Z.J., Zhang, L., Cheng, Y., Ouyang, D., Lu, A.P., Cao, D.S. (2018) ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Journal of cheminformatics*, 10:29.
- El Dine, R.S., Abdallah, H.M., Kandil, Z.A., Zaki, A., Khan, S., Khan, A. (2018). PPAR α and γ Activation Effects of New Nor-triterpenoidal Saponins from the Aerial Parts of *Anabasis articulata*. *Planta Med*, 85(4): 274–281.
- Eman, A. (2011). Phytochemical screening on different plant parts of some succulent plants of Egypt. *New YSciJ*,4 :15–18.
- Fanning, S., Jeselsohn, R., Dharmarajan, V., Mayne, C., Karimi, M., Buchwalter, G., Houtman, R., Toy, W., Fowler, C., Han, R., Lainé, M., Carlson, K., Martin, T., Nowak, J., Nwachukwu, J., Hosfield, D., Chandarlapaty, S., Tajkhorshid, E., Nettles, K., Griffin, K., Shen, Y., Katzenellenbogen, J., Brown, M., Greene, G. (2018) .The SERM/SERD basedoxifene disrupts ESR1 helix 12 to overcome acquired hormone resistance in breast cancer cells. doi: 10.7554/eLife.37161.

- Fontana, E. (2005). Les inhibiteurs "suicides" des Cytochromes P450 : Etablissement d'une banque de données, mise au point d'un test de screening et études structures-activité concernant des substrats furaniques du CYP 3A4.
- Ghembaza, N., Belyagoubi-Benhammou, N., Atik Bekkara, F. (2016). Separation and identification of bioactive compounds in *Anabasis articulata* (Forsk) Moq. Roots Nat Prod Res, 30:857–859.
- Geldenhuis, J.W., Gaasch, K.E., Watson, M., Allen, D.D., Schyf, C.J.V.D. (2006). Optimizing the use of open-source software applications in drug discovery. In: Drug Discovery Today, 11(3-4):127–132.
- Gore, S., García, E.S., Hendrickx, P.M.S., Gutmanas, A., Westbrook, J.D., Yang, H., Feng, Z., Baskaran, K., Berrisford, J.M., Hudson, B.P., Ikegawa, Y., Kobayashi, N., Lawson, C.L., Mading, S., Mak, L., Mukhopadhyay, A., Oldfield, T.J., Patwardhan, A., Peisach, E., Sahni, G., Sekharan, M.R., Sen, S., Shao, C., Smart, O.S., Ulrich, O.L., Yamashita, R., Quesada, M., Young, J.Y., Nakamura, H., Markley, J.L., Berman, H.M., Burley, S.K., Velankar, S., Kleywegt, G.J. (2017). Validation of Structures in the Protein Data Bank, 25 (12): 1916-1927.
- Grosdidier, A. (2007). Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de Nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat. Sciences pharmaceutiques. Université Joseph Fourier. Faculté de pharmacie de grenoble.
- Greathead, H. (2003). Plants and plant extracts for improving animal productivity. Proceedings of The Nutrition Society, 62: 279 – 290.
- Guengerich, F. P. (2008). Cytochrome P450 and Chemical Toxicology. J. Chem. Res. Toxicol, 21 :70–83.
- Hadri, C.N. (2015). Etude phytochimique et activité antioxydant d'extraits de plantes *sedum villosum* L. (Orpin) *A.articulata* Moq (Forssk). Thèse de doctorat. Biologie cellulaire et biochimie. Université de Tlemcen. Département de biologie.
- Hamdoon, A.M., Salmin, K.A., Awad, G.A. (2013). Antioxidant and Quantitative Estimation of Phenolic and Flavonoids of Three Halophytic Plants Growing in Libya. Pharmacognosie, 2: 89–94.
- Hammiche, V., Maiza, K. (2006). Traditional medicine in Central: 89–94. Sahara: pharmacopoeia of TassiliN'ajjer. J. Ethnopharmacol, 105(3):358–67.
- Hamza, N., Berke, B., Umar, A., Cheze, C., Gin, H., Moore, N. (2019). A review of Algerian medicinal plants used in the treatment of diabetes. Journal of Ethnopharmacology, 238 :111841.

- Houari, E. K. D., Chehma A., Labadi (2013). Stratégies D'adaptation Anatomique De Quelques Amarantaceae Vivaces Spontanées Du Sud-est Algérien. Université KasdiMerbah Ouargla. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre,3(1) :15-21.
- Hoffer, L. (2013). Développement et validation du logiciel S4MPLE : Application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du Fragment-Based Drug design. Thèse de Doctorat. Chimoinformatique. Université de Strasbourg. France.
- Hopkins, G. (2003). Physiologie Végétale. 2^{ème} édition. De Boeck. pp.273-274, Espagne.
- Hui, X., Xiaoqiao, L., Yonggang, T., Yan, Z., Guowen, Z. (2023). Amelioration of ovalbumin gel properties by EGCG via protein aggregation, hydrogen, and van der Waals force, Food Chemistry,422(1):136248.
- Jamal, Q.M., Lohani, M., Siddiqui, M.H., Haneef, M., Gupta, S.K., Wadhwa, G. (2012). "Molecular interaction analysis of cigarette smoke carcinogens NNK and NNAL with enzymes involved in DNA repair pathways: An in-silico approach." Bioinformation,8(17): 795.
- kadereit, G., Borsch, T., Weising, K., Freitag, H. (2003). phylogeny of Amaranthaceae and chenopodiaceae and the evolution of C4 photosynthesis. International journal of plant sciences,164(6):959-986.
- Kerns, E. H., Di, L. (2008). Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods: From ADME to Toxicity Optimization.1^{er}édition, Elsevier, Academic Press: Amsterdam, Boston.
- Kim, Y.S., Li, X.F., Kang, K.H., Ryu, B., Kim, S.K. (2014). Stigmasterol isolated from marine microalgae *Navicula incerta* induces apoptosis in human hepatoma HepG2 cells. BMBRep, 47(8): 433–438.
- Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J.R., bajarath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. Nature Reviews Drug discovery,3(11): 935-949.
- Lakshmi, R. (2012). Étude de la relation entre le volume de distribution et le poids corporel chez les patients traités par amikacine. Thèse de doctorat. Université de lorraine.
- Le, J. (2019). Distribution des médicaments dans les tissus. In : Édition professionnelle du Manuel MSD.

- Li, X., Xin, Y., Mo, Y., Marozik, P., He, T., Guo, H. (2022). The Bioavailability and Biological Activities of Phytosterols as Modulators of Cholesterol Metabolism. *Molecules*. 14;27(2):523.
- Lill, M. A. (2013). In *Silico Drug Discovery and Design*. Future Science: Purdue University, IN, USA,3-5.
- Lipinski, C. A. (2000). Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *J. of Pharmacological and Toxicological Methods*, 44(1): 235–249.
- Malik, S., Jang, W., Park, S.Y., Kim, J.Y., Kwon, K.S., Kim, C. (2019). The target specificity of the RNA binding protein Pumilio is determined by distinct co-factors. *BiosciRep*, 39(6) : 20190099.
- Martz F (2014). Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques. Thèse de doctorat. Chemo-informatique. Université Paris Sud – Paris.
- Metwally, N.S., Mohamed, A.M., ELsharabasy, F.S. (2012). Chemical constituents of the Egyptian Plant *Anabasis articulata* (Forssk) Moq and its antidiabetic effects on rats with streptozotocin-induced diabetic hepatopathy. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*,2(04): 54-65.
- Mohammed, H.A., Alshalmani, S.K., Abdellatif, A.G (2013). Antioxidant and quantitative estimation of phenolics and flavonoids of three halophytic plants growing in Libya. *J Pharmacogn Phytochem*,2:89–94.
- Mokrani, E.H (2012). Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique, Mémoire de Magister. Biochimie. Université des Frères Mentouri Constantine-1, Algérie.
- Mroczek, A (2015). Phytochemistry and bioactivity of triterpene saponins from *Amaranthaceae* family. *Phytochem Rev*, 14: 577–605.
- Muhd, H. M.I., SitiNorhidayu, M.A., SitiNorhidayah M.A., Nyotia N., Heng Yen, K., Manikandan, S., Zainul- Amiruddin, Zakaria., Zurina, S., Ahmad, S.H., Lay, K.T., Mohd, Z.S (2022). Flavonoids as dual inhibitors of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX): molecular docking and in vitro studies. *Journal of Basic and Applied Sciences*,11 :117.
- Naili, O. (2016). Effet des extraits de *Abies numidica* de Lannoy sur la croissance et sur la microflore caecale et fécale des poussins de chair. Thèse de doctorat. Microbiologie.

Université Ferhat Abbas Sétif 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
Département de microbiologie.

- Naspiah, N., Pratama, M.R.F., Sukardiman. (2021). Xanthine Oxidase Inhibition activity and ADMET Properties of Terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) Leaves Metabolites: Phytochemical Screening and In Silico Studie. *Pharmacogn J*,13(5): 1150-1160.
- Nattagh-Eshtivani, E., Barghchi, H., Pahlavani, N., Barati, M., Amiri, Y., Fadel, A., Khosravi, M., Talebi, S., Arzhang, P., Ziaei, R., Ghavami, A. (2022). Biological and pharmacological effects and nutritional impact of phytosterols: A comprehensive review. *Phytother Res*, 36(1): 299-322.
- Navea, S., Tauler, R., Goormaghtigh, E., and de Juan, A. (2006). Chemometric Tools for Classification and Elucidation of Protein Secondary Structure from Infrared and Circular Dichroism Spectroscopic Measurements. *Function, and Bioinformatics*, 63:527–541.
- Ogu, C.C., Maxa, J. L. (2000). Drug interactions due to cytochrome P450. *Baylor University Medical Center Proceedings*, 13(4) :421-3.
- Ouilia, S. (2010). Graphe de liaisons hydrogène dans les composés hybrides à matrice organique. Mémoire de Magistère. Cristalochimie. Université Mentouri-Constantine.
- Ozenda, P. (2004). Flore et végétation du Sahara. 3ème édition, CNRS Editions, Paris.
- Pacher, P., Nivorozhkin, A., Szabó, C. (2006). Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of Allopurinol. *Pharmacol. Rev*,58:87-114.
- Patel, H. K., Bihani, T. (2018). Selective estrogen receptor modulators (SERMs) and selective estrogen receptor degraders (SERDs) in cancer treatment. *Pharmacology & Therapeutics*, 186:1-24.
- Parsanna,S ., Doerksens ,R.J.(2009).Topological Polar Surface Area: A Useful Descriptor in 2D-QSAR.*Curr Med chem* ,16(1):21-41.
- Pratiwi, R., Nantasenamat, C., Ruankham,W., Suwanjang.W., Prachayasittikul.V., Prachayasittikul, S., Phopin, K. (2021).Mechanisms and Neuroprotective Activities of Stigmasterol Against Oxidative Stress-Induced Neuronal Cell Death *via* Sirtuin Family. *Front Nutr*,12(8):648995.
- Qian, Z., Fields, C.J., Yu,Y., Lutz,S. (2007). Recent progress in engineering alpha/beta hydrolase-fold family members. *Biotechnology Journal*,2(2):192-200.
- Rao, P., Patel, R., Shukla, A., Parmar, P., Rawal, RM., Saraf, M., Goswami, D. (2022). Identifying structural-functional analogue of GRL0617, the only well-established

- inhibitor for papain-like protease (PLpro) of SARS-CoV2 from the pool of fungal metabolites using docking and molecular dynamics simulation. *Mol Divers*, 26(1):309-329.
- Renvez, G. (2010). Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines : vers un processus de docking. Thèse de doctorat. Micro et nanotechnologies/ Microélectronique. Université Paul Sabatier - Toulouse III.
- Sellami, A. (2022). Utilisation des méthodes de criblage virtuel dans un contexte de santé humaine et environnementale : application aux récepteurs nucléaires et aux perturbateurs endocriniens. Thèse de Doctorat. Biotechnologie. Université HESAM.
- Serseg, T. (2021). In vitro and in silico study of the inhibitory effect of a few pure molecules and natural extracts on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase: Treatment of Alzheimer's disease. Doctor of Science. Université de Amar Telidji Laghouat.
- Segal, R., Goldzweig-Milo, I., Zaitschek, D.V. (1969). The saponin content of *Anabasis articulata*. *Phytochemistry*, 8: 521.
- Sweety, D., Swanand, K., Yogesh, S., Pradeep, K., Suresh, T. (2022). Selective Estrogen Receptor Modulators (SERMs) for the treatment of ER+ breast cancer: An overview, *Journal of Molecular Structure*,1270.
- Valko , M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur. M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39(1):44-84.
- Valerio-Jr, L.G. (2009). In silico toxicology for the pharmaceutical sciences *Toxicol Appl Pharmacol*, 241(3):356-70.
- Veber, D.F., Johnson, S. R., Cheng, H.Y., Smith, B. R., Ward, K.W., Kopple, K.D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates, *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(12):2615-2623.
- Vincken, J.P., Heng, L., De Groot, A., Gruppen, H. (2007). Review saponins, classification and occurrence in the plant Kingdom. *Phytochem*, 68:275–297.
- Wan, Y., Shang, J., Graham, R., Baric, R. S., Li, F. (2020). Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS. *Journal of Virology*,94(7):127-200.
- Wang, N. N., Dong, J., Deng, Y.-H., Zhu, M.-F., Wen, M., Yao, Z.-J., Lu, A.-P., Wang, J.-B., Cao, D.S. (2016). ADME Properties Evaluation in Drug Discovery: Prediction of Caco-2 Cell Permeability Using a Combination of NSGA-II and Boosting. *J. Chem. Inf. Model*, 56(4): 763–773.

- Yanan. S., Ling. G., Wei. H., Jie, W. (2020). " β -Sitosterol Alleviates Inflammatory Response via Inhibiting the Activation of ERK/p38 and NF- κ B Pathways in LPS-Exposed BV2 Cells", BioMed Research International. doi: 10.1155/2020/7532306.
- Yoshida, Y., Niki, E. (2003). Antioxidant effects of phytosterol and its components. J. Nutr. Sci.Vitaminol, 49: 277–280.
- Zaretski, J.; Matlock, M.; Swamidass, S. J. (2013). XenoSite: accurately predicting CYP-mediated sites of metabolism with neural networks. J. Chem. Inf. Model, 53(12): 3373–3383.
- Zhang, C., Zhou, Y., Gu, S., Wu, Z., Wu, W., Liu, C., Wang, K., Liu, G., Li, W., Lee, P. W., Tang, Y. J. (2016). *In silico* prediction of hERG potassium channel blockage by chemical category approaches. Toxicol Res,5:570–582.
- Zaretski, J., Matlock, M., Swamidass, S. J. (2013). XenoSite: accurately predicting CYP-mediated sites of metabolism with neural networks. J. Chem. Inf. Model,53(12): 3373–3383.