

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de BATNA 1  
Faculté des Sciences de la Matière  
Département de Chimie



## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du

### Diplôme de Doctorat troisième cycle

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Option : Chimie des Matériaux

Par :

**Samiha KAROUI**

Thème :

---

**Etude par la méthode DFT et Docking Moléculaire des propriétés  
structurales et électroniques des flavonoïdes et leurs interactions  
Enzyme-Substrat**

---

Soutenue le : 03/07/2025

Devant le Jury :

<b>Hamada HABA</b>	Professeur	Université de Batna-1	Président
<b>Abdelatif MESSAOUDI</b>	Professeur	Université de Batna-1	Rapporteur
<b>Noura BENBELLAT</b>	Professeur	Université de Batna-1	Examinatrice
<b>Liamine MESSAADIA</b>	Professeur	Université de Jijel	Examineur
<b>Nadjia LATALLi</b>	Professeur	Université de M'sila	Examinatrice
<b>Kamal ZIADI</b>	Maître de Conférences A	Université de Batna-1	Examineur

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

عَلَّامٌ غُيُوبٍ  
الَّذِينَ يُؤْمِنُونَ  
بِآيَاتِنَا  
وَالَّذِينَ يُؤْمِنُونَ  
بِآيَاتِنَا

# *Remerciement*

Avant tout, je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers Dieu Tout-Puissant pour m'avoir donné la force, la persévérance et la détermination nécessaire afin de mener à bien ce travail exigeant. Sans Sa guidance, ce parcours n'aurait pu être réalisé.

Ce travail de recherche en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en troisième cycle LMD, spécialité chimie des matériaux, a été réalisé au sein du laboratoire de chimie des Matériaux et des Vivantes : Activités & Réactivité (LCMVAR) de la Faculté des Sciences de la Matière, Université de Batna-1, sous la direction du Professeur **Abdelatif MESSAOUDI**, que je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour sa confiance, sa solidarité durant ces années, sa disponibilité, ses précieux conseils, sa rigueur scientifique et son accompagnement tout au long de ma formation.

Je tiens à remercier **Serge Antonczak**, Professeur, à l'Université Côte d'Azur, CNRS, Institut de Chimie de Nice UMR7272 Nice, France, pour sa précieuse contribution.

Un immense merci pour Monsieur le Doyen de la Faculté des Sciences de la Matière **Hamada HABA**, Professeur, à l'Université de Batna-1, d'avoir aimablement accepté de présider le jury de ma thèse.

Je remercie chaleureusement Madame le Chef de Département de Chimie **Noura BENBELLAT**, Professeur à l'Université de Batna-1, pour son aide, ses précieux conseils tout au long de ma formation doctorale, qu'elle trouve ici l'expression de ma sincère gratitude et mon profond respect, et je tiens également à la remercier d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Mes sincères remerciements vont aux membres du jury : **Liamine MESSADIA**, Professeur à l'Université de Jijel, **Nadia LATELLI**, Professeur à l'Université de M'sila, **Kamal ZIADI**, Maître de Conférences A à l'Université de Batna-1, d'avoir acceptés de faire partie du jury de ce travail.

Un merci particulier va à mon collègue et collaborateur **Dr. Oussama KHAOUA**, pour sa disponibilité, son serviabilité et son marque de sympathie qui restera à jamais dans ma mémoire.

Je remercie évidemment tous mes collègues du laboratoire LCMVAR et LCCE de l'Université de Batna-1, pour l'échange des conseils en particulier : **Dr. Assia MIDOUNE**, **Dr. Hamoudi LAMRAOUI**, **Dr. Fatima CHEMLAL** et **Dr. Afaf LALMI**.

Également mes remerciements vont au **Dr. Rafik NEZZAR** directeur du l'HPC (High Performance Computing) à l'université de Batna 2, pour son aide pour le calcul de simulation par Gaussian.

Je tiens à rendre hommage à ceux qui m'ont porté sans relâche : ma famille et mes amis surtout : **Dr .Saliha BESBAS**, **Maysoune BOUZID**. Leur patience, leur écoute et leur tendresse ont été mon compas dans la tempête. Lorsque les défis semblaient insurmontables, leur présence bienveillante et leurs mots réconfortants ont illuminé mes moments de fragilité.

Enfin, mes sincères remerciements vont également aussi à tous je tiens à représenter mes salutations et mon respect à tous les enseignants qui ont été derrière moi et derrière ma carrière, ainsi que les ingénieurs des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Matière qui ont contribué par un soutien moral de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Cette recherche est le résultat d'un effort collectif. Je tiens à saluer l'appui humain et intellectuel de toutes les personnes qui m'ont accompagnées. Ma gratitude leur est entièrement dédiée.

# *Dédicace*

*À la lumière qui a illuminé mon chemin, à mon symbole de générosité et d'amour : mon grand père **Mohammed**.*

*À celui dont j'ai porté le nom avec fierté, à mon premier professeur, l'homme qui a consacré sa vie pour que je sois la meilleure, cher père **Ammar**.*

*À celle qui a été mon premier soutien pour réaliser mes ambitions, à celle qui a été mon refuge et ma main droite, à celle qui m'a montré le chemin de ma vie et ma fierté, à mon cœur tendre, Ma chère Maman **Nacira**.*

*À mon compagnon de route, ami de tous les jours, dans les moments doux, à celui qui a toujours été le premier à me soutenir et à m'encourager pour réaliser mes ambitions académiques, à mon cher Mari : **Riadh***

*À mon âme et au secret de mon bonheur, à ceux qui, par leur énergie, leur innocence et leur amour, ont fait de leur présence joyeuse une source constante de motivation, et je leur dédie cette réussite en espérant qu'ils en tireront inspiration pour poursuivre leurs propres rêves : **Siradj et Acyl**.*

*À la source de ma force et mon pilier dans la vie : **Ahlem, Selma, Ismahane, Chahrazed, Ikhlas et Niemat Allah**. À mon frère **Aures**. Merci pour vos encouragements et vos soutiens inestimables, qu'Allah puisse renforcer les liens sacrés qui nous unissent.*

*À la source de joie et de bonheur, à nos petits anges : **Batoul, Djana, Houdhaifa, Youcef et Adem** que dieu vous garde.*

*À ma famille, qui a été une source inépuisable de soutien et d'inspiration, à tous ceux qui ont contribué, par leur soutien moral, émotionnel ou intellectuel, à la réalisation de ce travail, je tiens à exprimer ma plus profonde reconnaissance.*

# *Abréviations et symboles*

<b>QSAR</b>	Quantitative structure-activity relationship
<b>QSPR</b>	Quantitative structure-property relationship
<b>DFT</b>	Density functional theory
<b>ADN</b>	Acides désoxyribonucléiques
<b>CHS</b>	Chalcone synthase
<b>CHI</b>	Chalcone isomérase
<b>FSI</b>	Flavonesynthases
<b>F3H</b>	Flavanone-3-hydroxylase
<b>FLS</b>	Flavonol synthase
<b>DFR</b>	Dihydroflavonol 4-réductase
<b>GT</b>	Glycosyltransférase
<b>SAM</b>	S-adénosyl L-méthionine
<b>AVC</b>	Accidents vasculaires cérébraux
<b>VHS</b>	Virus de l'herpès simplex
<b>MM</b>	Mécanique moléculaire
<b>LDA</b>	Local density approximation
<b>LSDA</b>	Local spin density approximation
<b>GGA</b>	Generalized Gradient Approximation
<b>FMO</b>	Frontier Molecular Orbitals
<b>HOMO</b>	Highest occupied molecular orbital
<b>LUMO</b>	Lowest unoccupied molecular orbital
<b>HSAB</b>	Hard and soft acides and bases
<b>B3LYP</b>	Becke-3-paramètres Lee-Yang-Parr
<b>A</b>	Affinité électronique
<b>I</b>	Potentiel d'ionisation
$\chi$	Electronégativité
$\mu$	Potentiel chimique
$\eta$	Dureté chimique
<b>S</b>	Douceur chimique
$\omega$	Indice d'électrophilicité

<b>PDB</b>	Protein data bank
<b>MVD</b>	Molegro virtual docker
<b>TPSA</b>	Topological polar surface area
<b>HBD</b>	Hydrogen bond donors
<b>HBA</b>	Hydrogen bond acceptors
<b>ICM</b>	Modulateurs de canaux ioniques
<b>NRL</b>	Ligands des récepteurs nucléaires
<b>KI</b>	Kinase inhibitors
<b>PI</b>	Protease inhibitors
<b>EI</b>	Enzyme inhibitors
<b>MD</b>	Molecular dynamics
<b>ACP</b>	Analyse en composantes principales
<b>RL</b>	Radicaux libres
<b>ERO</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>ERN</b>	Espèces réactives du nitrogène
<b>HAT</b>	Hydrogen atom transfer
<b>SPLET</b>	Sequential proton loss electron transfer
<b>Que</b>	Quercétine
<b>Que-Me</b>	3-Méthoxyquercétine
<b>Que-Iso</b>	Isoquercétine
<b>Quer</b>	Forme Radicalaire
<b>DQue</b>	Formes Déprotonées
<b>DDQue</b>	Formes Doublement Déprotonées
<b>SQue</b>	Formes Semi-quinones
<b>OQue</b>	Formes Quinones
<b>SDQue</b>	Formes Semi-Quinone Déprotonée
<b>PCET</b>	Proton-coupled electron transfer
<b>Å</b>	Angstrom
<b>ΔG</b>	Enthalpie libre
<b>Kcal.mol<sup>-1</sup></b>	Kilo. calorie/mol
<b>CCM</b>	Chromatographie sur couche mince
<b>VLC</b>	Vacuum Liquid Chromatography
<b>CC</b>	Chromatographie sur colonne ouverte

<b>RP-18</b>	Reverse phase-18
<b>RMN</b>	Résonance magnétique nucléaire
<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	Résonance magnétique nucléaire du carbone
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	Résonance magnétique nucléaire du proton
<b>UV</b>	Ultra-violet
<b>UV-Vis</b>	Ultra-violet visible
<b>IR</b>	Infra-rouge
<b>δ</b>	Déplacement chimique exprimé en ppm
<b>COSY</b>	Correlation spectroscopy
<b>HSQC</b>	Heteronuclear single quantum correlation
<b>HMBC</b>	Heteronuclear multiple bond correlation
<b>NOESY</b>	Nuclear overhauser effect
<b>J</b>	Constante de couplage exprimée en Hz
<b>Hz</b>	Hertz
<b>m/z</b>	Masse/Charge d'un ion
<b>ppm</b>	Partie par million
<b>uma</b>	Unité de masse atomique
<b>ILCT</b>	Intra-Ligand Charge Transfer
<b>SOD</b>	Superoxyde dismutase
<b>hAPN/CD13</b>	Aminopeptidase N humaine
<b>TDOS</b>	Courbes de densité d'états totale
<b>MESP</b>	Molecular electrostatic potential surface
<b>ACP</b>	Analyse en composantes principales

# Liste des figures

## Chapitre I : Généralités sur les flavonoïdes

<b>Figure I.1</b> : Structure de base des flavonoïdes.....	<b>11</b>
<b>Figure I.2</b> : Structure des flavanols.....	<b>12</b>
<b>Figure I.3</b> : Structure des flavones.....	<b>13</b>
<b>Figure I.4</b> : Structure des flavanones.....	<b>13</b>
<b>Figure I.5</b> : Structure des isoflavones.....	<b>14</b>
<b>Figure I.6</b> : Structure des flavan-3-ols.....	<b>14</b>
<b>Figure I.7</b> : Structure des flavan-3,4-diols.....	<b>15</b>
<b>Figure I.8</b> : Ion de flavylum.....	<b>15</b>
<b>Figure I.9</b> : Structure d'anthocyanidine.....	<b>16</b>
<b>Figure I.10</b> : Structures des anthocyanidines et d'anthocyanes.....	<b>16</b>
<b>Figure I.11</b> : Formation de la chalcone.....	<b>18</b>

## Chapitre III : Caractérisation et étude des formes activées des flavonoïdes

### Partie I : Etudes structurales

<b>Figure III.1</b> : Structure des flavonoïdes étudiés.....	<b>55</b>
<b>Figure III.2</b> : Mécanisme de transfert d'hydrogène de l'antioxydant phénolique.....	<b>57</b>
<b>Figure III.3</b> : Mécanisme de transfert électronique suivi d'une abstraction de proton de l'antioxydant phénolique.....	<b>57</b>
<b>Figure III.4</b> : Mécanisme de Transfert de proton suivi d'un transfert électronique de l'antioxydant phénolique.....	<b>58</b>
<b>Figure III.5</b> : Diagramme orbitalaire des orbitales LUMO et HOMO des molécules étudiées.....	<b>59</b>
<b>Figure III.6</b> : Formes actives des flavonoïdes.....	<b>61</b>
<b>Figure III.7</b> : Cycles thermodynamiques impliquant les formes activées de la quercétine.....	<b>62</b>
<b>Figure III-8</b> : Forme radicalaire.....	<b>63</b>
<b>Figure III.9</b> : Formes déprotonées.....	<b>65</b>
<b>Figure III.10</b> : Formes doublement déprotonées.....	<b>67</b>

<b>Figure III.11</b> : Formes Semiquinones.....	<b>68</b>
<b>Figure III.12</b> : Formes Semiquinones déprotonées.....	<b>69</b>
<b>Figure III.13</b> : Formes Quinones.....	<b>71</b>

## **Partie II : Etudes spectroscopiques**

<b>Figure III.1</b> : Espèce <i>Fumana montana</i> Pomel.....	<b>81</b>
<b>Figure III.2</b> : Numérotation expérimental -a- et théorique -b- de la quercétine.....	<b>82</b>
<b>Figure III.3</b> : Spectre UV de la quercétine.....	<b>83</b>
<b>Figure III.4</b> : Spectre de masse ESI de la quercétine.....	<b>83</b>
<b>Figure III.5</b> : Spectre Expérimentale RMN <sup>1</sup> H de la quercétine.....	<b>84</b>
<b>Figure III.6</b> : Spectre expérimentale RMN <sup>13</sup> C <i>J</i> -modulé de la quercétine.....	<b>84</b>
<b>Figure III.7</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H théorique du quercétine.....	<b>85</b>
<b>Figure III.8</b> : Spectre RMN <sup>13</sup> C <i>J</i> -modulé théorique de la quercétine.....	<b>85</b>
<b>Figure III-9</b> : Numérotation expérimentale -a- et théorique -b- de la 3-méthoxyquercétine.....	<b>90</b>
<b>Figure III.10</b> : Spectre de masse ESI de la 3-méthoxyquercétine.....	<b>91</b>
<b>Figure III.11</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, MeOD) expérimentale de la 3-méthoxyquercétine.....	<b>91</b>
<b>Figure III.12</b> : Spectre RMN <sup>13</sup> C <i>J</i> -modulé expérimentale de la 3-méthoxyquercétine	<b>92</b>
<b>Figure III.13</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H théorique de la 3-méthoxyquercétine.....	<b>92</b>
<b>Figure III.14</b> : Spectre RMN <sup>13</sup> C <i>J</i> -modulé théorique de la 3-méthoxyquercétine.....	<b>93</b>
<b>Figure III.15</b> : Numérotation expérimentale -a- et théorique -b- de l'isoquercétine...	<b>98</b>
<b>Figure III.16</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H expérimentale de l'isoquercétine.....	<b>98</b>
<b>Figure III.17</b> : Spectre RMN <sup>13</sup> C expérimentale de l'isoquercétine .....	<b>99</b>
<b>Figure III.18</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H théorique de l'isoquercétine.....	<b>99</b>
<b>Figure III.19</b> : Spectre RMN <sup>13</sup> C théorique de l'isoquercétine.....	<b>100</b>
<b>Figure III-20</b> : Bandes caractéristiques d'un squelette flavonoïque.....	<b>105</b>
<b>Figure III-21</b> : Spectre UV-Vis expérimentale de la quercétine.....	<b>105</b>
<b>Figure III.23</b> : Spectre UV-Vis expérimentale de l'isoquercétine.....	<b>106</b>
<b>Figure III.24</b> : Spectre UV-Vis théorique de l'isoquercétine.....	<b>107</b>
<b>Figure III-25</b> : Spectres d'absorption UV-Vis de la quercétine dans différents solvants.....	<b>107</b>

<b>Figure III-26</b> : Spectres d'absorption UV-Vis de la 3-méthoxyquercétine dans différents solvants.....	<b>108</b>
---	------------

<b>Figure III-27</b> . Spectres d'absorption UV-Vis de l'isoquercétine dans différents solvants.....	<b>109</b>
--	------------

## **CHAPITRE IV: Docking Et Dynamique Moléculaire**

<b>Figure IV.1</b> : Composés phytochimiques étudiés.....	<b>114</b>
---	------------

<b>Figure IV.2</b> : Orbitales moléculaires HOMO et LUMO et énergies des écarts pour les composés : isoquercétine (a), 3-méthoxyquercétine (b) et quercétine (c).....	<b>115</b>
---	------------

<b>Figure IV.3</b> : Courbes de densité d'état totale (TDOS), pour l'isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b) et la quercétine (c), calculées sur la base des géométries optimisées avec le jeu de bases B3LYP-6311G++(2d, 2p) en utilisant le logiciel Gauss Sum. ....	<b>117</b>
--	------------

<b>Figure IV.4</b> : Surfaces du potentiel électrostatique moléculaire de l'isoquercétine, de la 3-méthoxyquercétine et de la quercétine.....	<b>122</b>
---	------------

<b>Figure IV.5</b> : Représentation graphique de similarité en montrant l'isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b) et la quercétine (c) avec les scores maximaux du modèle de similarité aux médicaments générés à l'aide des SMILES de chaque composé et du serveur en ligne MolSoft.....	<b>126</b>
---	------------

<b>Figure IV.6</b> : Cartes radar de biodisponibilité pour (a) isoquercétine, (b) 3-méthoxyquercétine et (c) quercétine montrant les caractéristiques FLEX, LIPO, SIZE, POLAR, INSOLU et INSATU.....	<b>135</b>
--	------------

<b>Figure IV.7</b> : Les valeurs prédites de LD <sub>50</sub> les classes de toxicité (à droite) un radar résumant les toxicités prédites contre diverses cibles, y compris la toxicité des organes, les points de terminaison de toxicité, les voies de signalisation des récepteurs nucléaires Tox21, les voies de réponse au stress Tox21, les événements moléculaires initiaux et le métabolisme (à gauche) pour les composés étudiés (a) isoquercétine, (b) 3-méthoxyquercétine et (c) Quercétine générés à l'aide du serveur web gratuit ProTox-III.....	<b>138</b>
--	------------

<b>Figure IV.8</b> . Étape de validation de l'Amastatine (Calcul RMSD).....	<b>141</b>
---	------------

<b>Figure IV.9</b> : Cavité active prédite de l'aminopeptidase humaine N (CD13) (ID PDB : 4FYT) inclut les résidus d'acides aminés Leu, Ala, Thr, Trp, Arg, Gln, Glu, Asn, Asp, Gly, His, Met, Phe, Ser, Tyr et Val.....	<b>142</b>
--	------------

<b>Figure IV.11</b> : La cavité active prédite de la SOD (ID PDB : 1CB4) inclut les résidus d'acides aminés Ala, Arg, Asn, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Phe, Pro, Ser, Thr, Tyr et Val.....	<b>145</b>
---	------------

<b>Figure IV.12</b> : Interaction de docking moléculaire en 2D (à gauche) et en 3D (à droite) des composés étudiés isoquercétine (a), 3-méthoxyquercétine (b) et quercétine (c) avec la cavité active prédite de la Superoxyde Dismutase (SOD) (ID PDB : 1CB4).....	<b>146</b>
---	------------

<b>Figure IV.13</b> : L'écart quadratique moyen (RMSD) de la protéine et des ligands a été calculé après la stabilisation des valeurs initiales du RMSD.....	<b>154</b>
<b>Figure IV.14</b> : Projection PCA de la simulation de 100 ns pour chaque complexe Ligand standard/4FYT (d), <b>3</b> -méthoxyquercétine /4FYT (b), quercétine/4FYT (c), et isoquercétine /4FYT (d).....	<b>156</b>

## *Liste des schémas*

### **Chapitre I : Généralités sur les flavonoïdes**

<b>Schéma I.1</b> : Principales classes de polyphénols.....	<b>9</b>
<b>Schéma I.2</b> : Les sous-classes des flavonoïdes.....	<b>11</b>
<b>Schéma I.3</b> : Étapes de formation de différentes classes de flavonoïdes.....	<b>19</b>

### **Chapitre II : Approches théoriques et méthodologies de calcul**

<b>Schéma II.1</b> : Les étapes typiques d'un Docking moléculaire.....	<b>41</b>
--	-----------

# Liste des tableaux

## Chapitre I : Généralités sur les flavonoïdes

Tableau I.1 : Structures chimiques de quelques flavonoïdes.....	17
---	----

## Chapitre III : Caractérisation et étude des formes activées des flavonoïdes

### Partie I : Etudes structurales

Tableau III.1 : Caractéristiques des principaux ERO.....	56
--	----

Tableau III.2 : Espèces co-réactives pouvant intervenir dans la formation des formes activées du flavonoïde.....	62
--	----

Tableau III.3 : Longueurs de liaison (Å) et valeurs d'enthalpie libre des formes Que et Quer .....	63
--	----

Tableau III.4 : Longueurs de liaison (Å) et valeurs d'enthalpie libre des formes DQue....	66
---	----

Tableau III.5 : Longueurs de liaison (Å) et valeurs d'enthalpie libre des formes DDQue.....	67
---	----

Tableau III.6 : Longueurs de liaison (Å) et valeurs d'enthalpie libre des formes SQue.....	69
--	----

Tableau III.7 : Longueurs de liaison (Å) et valeurs d'enthalpie libre des formes SDQue.....	70
---	----

Tableau III.8 : Enthalpie libre de formation des espèces SDQue à partir de différentes formes activées.....	71
---	----

Tableau III.9 : Longueurs de liaison (Å) des formes Oque.....	72
---	----

Tableau III.10: Enthalpie libre de formation des espèces OQue à partir de différentes formes activées.....	73
--	----

### Partie II : Etudes spectroscopiques

Tableau III.1 : Valeurs théoriques du déplacement Chimique $\delta_C$ de la quercétine.....	86
---	----

Tableau III.2 : Valeurs théoriques du déplacement Chimique $\delta_H$ de la quercétine.....	89
---	----

Tableau III.3 : Valeurs théoriques du déplacement Chimique $\delta_C$ de la 3-méthoxyquercétine.....	94
--	----

Tableau III.4 : Valeurs théoriques du déplacement Chimique $\delta_H$ de la 3-méthoxyquercétine.....	97
--	----

Tableau III.5 : Valeur théorique du déplacement Chimique $\delta_C$ de l'isoquercétine.....	101
---	-----

Tableau III.6 : Valeur théorique du déplacement Chimique $\delta_H$ de l'isoquercétine.....	104
---	-----

## CHAPITRE IV: Docking Et Dynamique Moléculaire

<b>Tableau IV- 1 :</b> Indices de réactivité globale calculés pour les composés (a, b et c) obtenus en phase gazeuse et en solution aqueuse en utilisant la méthode de la théorie fonctionnelle de la densité (DFT) et le jeu de bases B3LYP/6-311G++(2d, 2p).....	119
<b>Tableau IV.2 :</b> Paramètres physico-chimiques des trois composés phytochimiques : l'isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b) et la quercétine (a) calculés à l'aide du serveur en ligne Molinspiration.....	123
<b>Tableau IV.3 :</b> Estimation de la capacité médicamenteuse de l'isoquercétine (a), de la 3-méthoxyquercétine (b) et de la quercétine (a) calculée à l'aide du serveur en ligne Molinspiration.....	125
<b>Tableau IV.4 :</b> Propriétés moléculaires et prédiction du score du modèle de similarité aux médicaments des composés étudiés (isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b), et quercétine (c)) calculés à l'aide du site web gratuit MolSoft.....	126
<b>Tableau IV.5 :</b> Valeurs prédites d'Absorption, de Distribution, de Métabolisme, d'Excrétion et de Toxicité (ADMET) en utilisant plusieurs modèles pour les composés étudiés (l'isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b) et la quercétine (c) via le serveur en ligne pkCSM.....	129
<b>Tableau IV.6 :</b> Comparaison détaillée de diverses propriétés telles que les propriétés physico-chimiques, la lipophilicité, la solubilité dans l'eau, la pharmacocinétique, la "drug-likeness" et les paramètres de chimie médicamenteuse de trois phytochimiques (isoquercétine (a), 3-méthoxyquercétine (b) et quercétine (c)).....	133
<b>Tableau IV.7 :</b> Résultats des prédictions de toxicité (Actif ou Inactif) incluant divers cibles (toxicité des organes, points de terminaison de toxicité, voies de signalisation des récepteurs nucléaires Tox21, voies de réponse au stress Tox21, événements initiaux moléculaires, et métabolisme) avec leurs probabilités (allant de 0 à 1) générées à l'aide du serveur web ProTox III pour les phytochimiques étudiés (a, b, et c).....	136
<b>Tableau IV.8 :</b> Activités prédites pour les composés étudiés : isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b) et quercétine (c), générées à l'aide du serveur PASS en ligne.....	140
<b>Tableau IV. 9 :</b> Résultats de l'analyse de docking moléculaire (scores d'énergie de liaison (Kcal/mol), interactions, type d'interaction, et distances (Å)) des composés étudiés isoquercétine (a), Ophioglonol (b), et Quercétine (c) ainsi que des molécules standard dans la cavité active prédite de l'aminopeptidase humaine N (hAPN/CD13) (ID PDB : 4FYT) et de la superoxyde dismutase (SOD) (ID PDB : 1CB4).....	148
<b>Tableau IV.10 :</b> Les résultats des simulations de dynamique moléculaire (MD) ; interactions, type d'interaction, et distances (Å) des composés étudiés : isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b), quercétine (c), ainsi que de la molécule standard (Actinonine) dans la cavité active prédite du récepteur de l'aminopeptidase humaine N (hAPN/CD13) (PDB ID: 4FYT).....	152
<b>Tableau IV.11 :</b> Les différences calculées (Complexe - Récepteur - Ligand) $\Delta E_{vdw}$ (kcal/mol), $\Delta E_{ele}$ (kcal/mol), $\Delta E_{GB}$ (kcal/mol) et $\Delta G_{MM-GBSA}$ (kcal/mol).....	155

---

---

## *Sommaire*

<b>Introduction Générale.....</b>	<b>2</b>
<b>Chapitre I : Généralités sur les flavonoïdes.....</b>	<b>8</b>
<b>I-1- Introduction.....</b>	<b>9</b>
<b>I-2- Les flavonoïdes .....</b>	<b>10</b>
I-2 -1- Etymologie et découverte.....	10
I-2-2-Définition.....	10
I-2-3- Différentes sous-classes des flavonoïdes.....	11
a - Les flavonols.....	12
b - Les flavones.....	12
c- Les flavanones.....	13
d - Les isoflavones.....	13
e –Les flavan-3-ols.....	14
f- Les anthocyanes.....	15
<b>I-3- Biosynthèse des flavonoïdes.....</b>	<b>18</b>
<b>I-4- Substitution du squelette flavonoïde.....</b>	<b>20</b>
I-4-1- Hydroxylation.....	20
I-4-2- Méthylation.....	20
I-4-3- Glycosylation.....	20
I-4-4- Acylation.....	20
<b>I-5- Intérêts thérapeutiques des flavonoïdes.....</b>	<b>21</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>23</b>
<b>Chapitre II : Approches théoriques et méthodologies de calcul.....</b>	<b>30</b>
<b>II-1- Introduction.....</b>	<b>31</b>
<b>II-2- Modélisation moléculaire.....</b>	<b>31</b>
II-2-1- Mécanique quantique.....	31
II-2-2- Mécanique moléculaire.....	32
II-2-3- Dynamique moléculaire.....	32
<b>II-3- Principe de la chimie quantique.....</b>	<b>32</b>

<b>II-4- Résolutions approchées.....</b>	<b>34</b>
<b>II-5- Théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT).....</b>	<b>34</b>
<b>II-6- Approximations utilisées en DFT.....</b>	<b>35</b>
II-6-1- Approximation de la densité locale (LDA) .....	35
II-6-2- Approximation du gradient généralisé (GGA) .....	35
II-6-3- Fonctionnelle hybride B3LYP.....	35
II-6-4- Fonctions de bases.....	36
<b>II.7- Théorie de la fonctionnelle de la densité dépendante du temps (TD-DFT).....</b>	<b>38</b>
<b>II.8- Orbital Frontières moléculaires (FMO).....</b>	<b>38</b>
<b>II.9- Les descripteurs globaux de réactivité.....</b>	<b>38</b>
<b>II-10- Docking moléculaire (Amarrage).....</b>	<b>40</b>
II-10-1- Outils du Docking moléculaire.....	40
II-10-2- Processus du Docking.....	41
<b>II-11- Etude <i>in silico</i>.....</b>	<b>42</b>
II-11-1- Plateforme Molinspiration.....	42
II-11-2- Propriétés pharmacocinétiques.....	43
II-11-3- Swiss ADME.....	44
II-11-4- ProTox III.....	44
II-11-5- PASS Online server (Way2Drug) .....	45
II-11-6- Simulations de dynamique moléculaire (MD) .....	45
II-11-7- Analyse MM/GBSA (Mécanique Moléculaire/Surface Born Généralisée)..	45
II-11-8- Analyse en Composantes Principales (ACP) .....	46
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>47</b>
<b>Chapitre III : Caractérisation et étude des formes activées des flavonoïdes.....</b>	<b>53</b>
<b>Partie I : Etudes structurales.....</b>	<b>54</b>
<b>III.1- Introduction.....</b>	<b>55</b>
<b>III-2-Structure électronique.....</b>	<b>56</b>
III-2-1- Les radicaux libres et mécanismes d'oxydation.....	57
a) Transfert d'hydrogène (HAT - Hydrogen Atom Transfer).....	57
b) Transfert électronique suivi d'une abstraction de proton (SET-PT - Single Electron Transfer followed by Proton Transfer).....	57
c) Transfert d'un proton suivi d'un électron (SPLET, Sequential Proton Loss Electron Transfer).....	58

III-2-2- Structure énergétique.....	58
<b>III-3-Analyse orbitale.....</b>	<b>59</b>
<b>III-4-Formes activées étudiées.....</b>	<b>60</b>
III-4-1- Autres espèces co-réactives étudiées.....	61
III-4-2- Analyse des formes activées.....	62
a- Flavonoïde (Que) et Flavonoïde radicalaire (Quer).....	63
b- Formes Déprotonées (DQue).....	65
c- Formes Doublement Déprotonées (DDQue).....	67
d- Formes Semiquinones (SQue).....	68
e- Formes Semi-Quinones Déprotonées (DSQue).....	69
f- Formes Quinones (OQue).....	71
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>75</b>
<b>Partie II : Etudes spectroscopiques.....</b>	<b>80</b>
<b>III-1- Spectre RMN.....</b>	<b>81</b>
III-1- 1- Etude antérieure.....	81
III-1- 2- Etude spectroscopique comparative de la quercétine.....	82
III-1- 3- Etude spectroscopique comparative de la 3-méthoxyquercétine.....	90
III-1- 4- Etude spectroscopique comparative de l'isoquercétine.....	98
<b>III-2- Spectre UV-Visible.....</b>	<b>105</b>
III-2- 1- Etude comparative des spectres UV-Vis.....	105
III-2- 2- Effet du solvant sur le spectre UV-Vis.....	107
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>111</b>
<b>CHAPITRE IV: Docking Et Dynamique Moléculaire.....</b>	<b>113</b>
<b>IV- 1- Analyse des Orbitales Moléculaires Frontière (FMO) et de la Densité Totale d'État.....</b>	<b>114</b>
<b>IV-2- Analyse des descripteurs de réactivité globale.....</b>	<b>118</b>
<b>IV-3- Analyse du potentiel électrostatique moléculaire (MESP).....</b>	<b>120</b>
<b>IV-4- Prédiction des Paramètres physicochimiques par les méthodes <i>in silico</i>.....</b>	<b>122</b>
<b>IV-5- Propriétés moléculaires et profils de similarité aux médicaments.....</b>	<b>125</b>

---

<b>IV-6- Pharmacocinétique et Chimiomatique pour les Petites Molécules</b>	<b>127</b>
(pkCSM).....	
<b>IV-7- Etude <i>in silico</i> par le serveur SwissADME.....</b>	<b>130</b>
<b>IV-8- Prédiction de toxicité avec ProTox-III.....</b>	<b>135</b>
<b>IV-9- Résultats du serveur Pass Online.....</b>	<b>140</b>
<b>IV-10- Étude de docking moléculaire.....</b>	<b>141</b>
IV-10-1- Interaction avec l'Aminopeptidase humaine N (ID PDB : 4FYT).....	141
IV-10-2- Interaction avec la Superoxyde Dismutase (SOD) (ID PDB : 1CB4).....	145
<b>IV-11- Simulations de dynamique moléculaire (MD).....</b>	<b>151</b>
<b>IV-12- Calculs de la mécanique moléculaire avec le modèle Born généralisé pour la surface (MM/GBSA).....</b>	<b>154</b>
<b>IV-13- Analyse en composantes principales (ACP).....</b>	<b>156</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>158</b>
<b>Conclusion Générale.....</b>	<b>162</b>

# *Introduction*

## *Générale*

# *Introduction Générale*

Depuis l'aube de l'humanité, les plantes ont joué un rôle fondamental dans le soulagement des maux et le traitement des maladies [1]. Ces savoirs empiriques, transmis oralement à travers les générations, ont contribué ainsi à la constitution d'un riche patrimoine culturel et thérapeutique. Aujourd'hui, l'étude des substances naturelles représente un domaine de recherche en forte expansion. Ces composés servent ensuite de modèles structuraux pour la conception et le développement de nouvelles entités médicamenteuses. Cependant, la variabilité de leur composition, liée au moment de la récolte ou à la localisation géographique, complique leur développement pharmaceutique, notamment en termes de reproductibilité et de contrôle qualité. Leur mode d'action multifactoriel complique les essais cliniques et les approbations, mais les innovations technologiques accélèrent la découverte de nouveaux principes actifs.

Par ailleurs, l'intégration des produits naturels dans des systèmes innovants d'administration, comme les nanoparticules fonctionnalisées ou les réseaux métallo-organiques, permet de surmonter certaines limitations liées à leur stabilité et biodisponibilité [2,3].

Parmi ces composés naturels, les flavonoïdes, constituent une classe majeure de polyphénols, largement distribués dans le règne végétal et consommés quotidiennement par l'être humain, qui jouent un rôle central dans la médecine traditionnelle et moderne [4,5]. Outre leur rôle pigmentaire, les flavonoïdes possèdent des propriétés antioxydantes, notamment par piégeage des radicaux libres et modulation des espèces réactives de l'oxygène, telles que le dioxygène et l'oxyde nitrique. Cependant, dans certaines conditions, ces composés peuvent adopter un comportement pro-oxydant [6], entraînant des dommages aux lipides, à l'ADN et aux protéines [7]. Leur diversité structurale et fonctionnelle engendre une complexité d'étude, nécessitant des approches telles que les méthodes QSAR/QSPR pour établir des corrélations structure-activité [8]. Cette complexité explique parfois la variabilité des résultats observés dans la littérature.

L'étude des propriétés des substances naturelles constitue un axe de recherche majeur au sein de notre laboratoire « laboratoire de chimie des Matériaux et des Vivantes : Activités & Réactivité (LCMVAR) », nous exploitons des outils de modélisation moléculaire afin d'analyser, à l'échelle atomique et électronique, les caractéristiques des molécules étudiées.

Si les flavonoïdes présentent un potentiel thérapeutique prometteur, leur complexité structurale nécessite des outils avancés d'analyse. C'est pourquoi notre étude s'appuie sur une stratégie méthodologique combinant deux approches computationnelles complémentaires. D'une part, la chimie quantique, notamment la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT), permet de caractériser avec précision les propriétés électroniques, structurales et énergétiques des molécules, ainsi que d'élucider les mécanismes réactionnels via l'identification d'intermédiaires et d'états de transition [9,10]. Cependant, son application aux systèmes biologiques de grande taille contenant des flavonoïdes - tels que les interactions avec des enzymes ou l'ADN - est limitée par le coût computationnel élevé associé à ces grands systèmes.

D'autre part, les méthodes de mécanique et dynamique moléculaire offrent une solution efficace pour modéliser la dynamique des protéines en milieu aqueux, d'observer l'évolution des conformations enzyme-substrat et d'analyser les interactions hydrophiles et hydrophobes entre ligands et récepteurs [11,12]. Cette complémentarité méthodologique assure ainsi une couverture complète des échelles moléculaires, allant des propriétés électroniques fondamentales aux comportements dynamiques des flavonoïdes dans leur environnement biologique [13].

Les avancées récentes dans les technologies analytiques, telles que la chromatographie, la spectroscopie et la cristallographie, ont permis d'identifier les molécules bioactives présentes dans les extraits végétaux. L'utilisation du docking moléculaire, comme technique de modélisation moléculaire a permis d'explorer de manière plus approfondie la structure et l'activité des composés actifs, notamment les flavonoïdes [14,15]. Ces approches *in silico* offrent un moyen de simuler les interactions entre les molécules et les récepteurs biologiques, permettant ainsi d'identifier les candidats thérapeutiques les plus prometteurs tout en réduisant les coûts et les délais nécessaires au développement de médicaments.

Les méthodes de chimie quantique reposent généralement sur l'analyse de « modèles » simplifiés afin de se concentrer sur une caractéristique spécifique d'un système complexe. Dans le cadre de notre étude sur les flavonoïdes, la quercétine est souvent retenue comme composé modèle en raison de son rôle central dans de nombreux processus biologiques associés à cette famille de molécules.

Ce bio flavonoïde d'origine végétale qui a fait l'objet de nombreuses études en raison de ses bienfaits potentiels pour la santé [16,17]. Il est largement reconnu comme l'un des antioxydants les plus puissants [18–20] et présente des activités variées, notamment anti-inflammatoires [21],

antiparasitaires [22]. De plus, la quercétine a démontré des activités anticancéreuses contre plusieurs types de tumeurs solides, et a montré des résultats prometteurs dans le traitement de la leucémie myéloïde aiguë (LMA) [23] et du glioblastome, un des cancers cérébraux les plus agressifs [24]. Par ailleurs, elle joue un rôle important dans la modulation de la réponse inflammatoire des macrophages humains [25].

Ce travail vise à étudier les propriétés électroniques, énergétiques de la quercétine, flavonoïde référence, ainsi que de deux de ses dérivés : la 3-méthoxyquercétine et l'isoquercétine (méthylation en position 3 et glycosylation en position 3-O) afin d'évaluer l'influence de modifications structurales sur les propriétés biologiques. En combinant modélisation quantique et approches *in silico*, nous cherchons à établir des corrélations entre leurs caractéristiques moléculaires avec leur réactivité chimique, leur biodisponibilité et leurs interactions avec les cibles enzymatiques.

Le manuscrit présenté est structuré en quatre chapitres :

- **Chapitre I** : Concerne une étude bibliographique sur les flavonoïdes, abordant leurs structures chimiques, leurs classifications, leurs biosynthèses, ainsi que leurs propriétés biologiques.
- **Chapitre II** : Présente un rappel théorique sur les méthodes théoriques employées, telles que la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT).
- **Chapitre III** : Concerne en première partie, la caractérisation et l'analyse des propriétés structurales et électroniques et énergétiques d'une série des flavonoïdes, y compris les différentes formes activées et leur influence sur les interactions biologiques. En deuxième partie, une étude comparative a lieu entre les spectres UV et RMN obtenus expérimentalement à ceux obtenus par des méthodes de chimie quantique (DFT, TD-DFT).
- **Chapitre IV** : La modélisation des interactions entre les molécules étudiées et les protéines cibles à travers des simulations de docking, accompagnées de simulations de dynamique moléculaire pour évaluer la stabilité du complexe ligand-protéine et élucider les mécanismes d'action sous-jacents, évaluer le potentiel médicinal en analysant les propriétés pharmacocinétiques (ADMET) et les critères de "drug-likeness" (ressemblance aux médicaments), afin d'identifier des applications thérapeutiques prometteuses.

Ce manuscrit se termine par une conclusion générale des résultats et une réflexion sur les perspectives futures pour la mise au point de médicaments à base de flavonoïdes.

### Références Bibliographiques :

- [1] R. Meddour, O. Sahar, A. Babkar, Savoirs locaux sur les plantes spontanées chez les populations de la wilaya de Tamanrasset (Sahara Central, Algérie), *Http://Journals.Openedition.Org/Vertigo* (2022). <https://doi.org/10.4000/VERTIGO.35315>.
- [2] J. Dai, M. Ashrafizadeh, A.R. Aref, G. Sethi, Y.N. Ertas, Peptide-functionalized, -assembled and -loaded nanoparticles in cancer therapy, *Drug Discov Today* 29 (2024) 103981. <https://doi.org/10.1016/J.DRUDIS.2024.103981>.
- [3] X. He, Z. Jiang, O.U. Akakuru, J. Li, A. Wu, Nanoscale covalent organic frameworks: from controlled synthesis to cancer therapy, *Chemical Communications* 57 (2021) 12417–12435. <https://doi.org/10.1039/D1CC04846E>.
- [4] J.B. Harborne, C.A. Williams, Advances in flavonoid research since 1992, *Phytochemistry* 55 (2000) 481–504. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00235-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00235-1).
- [5] P.G. Pietta, Flavonoids as Antioxidants, *J Nat Prod* 63 (2000) 1035–1042. <https://doi.org/10.1021/NP9904509>.
- [6] Antioxidant Activity of Quercetin in a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Induced Oxidative Stress Model in Red Blood Cells: Functional Role of Band 3 Protein | Enhanced Reader, (n.d.).
- [7] Y. Sakihama, M.F. Cohen, S.C. Grace, H. Yamasaki, Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants, *Toxicology* 177 (2002) 67–80. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(02\)00196-8](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(02)00196-8).
- [8] A. Gaulton, L.J. Bellis, A.P. Bento, J. Chambers, M. Davies, A. Hersey, Y. Light, S. McGlinchey, D. Michalovich, B. Al-Lazikani, J.P. Overington, ChEMBL: a large-scale bioactivity database for drug discovery, *Nucleic Acids Res* 40 (2012) D1100–D1107. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKR777>.
- [9] P. Hohenberg, W. Kohn, Inhomogeneous electron gas, *Physical Review* 136 (1964) B864. <https://doi.org/10.1103/PHYSREV.136.B864/FIGURE/1/THUMB>.
- [10] K. Burke, Perspective on density functional theory, *Journal of Chemical Physics* 136 (2012). <https://doi.org/10.1063/1.4704546/941589>.
- [11] M. Karplus, J.A. McCammon, Molecular dynamics simulations of biomolecules, *Nature Structural Biology* 2002 9:9 9 (2002) 646–652. <https://doi.org/10.1038/nsb0902-646>.
- [12] A. Hospital, J.R. Goñi, M. Orozco, J.L. Gelpí, Molecular dynamics simulations: advances and applications, *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry* 8 (2015) 37–47. <https://doi.org/10.2147/AABC.S70333>.
- [13] S.A. Adcock, J.A. McCammon, Molecular dynamics: Survey of methods for simulating the activity of proteins, *Chem Rev* 106 (2006) 1589–1615. [https://doi.org/10.1021/CR040426M/ASSET/CR040426M.FP.PNG\\_V03](https://doi.org/10.1021/CR040426M/ASSET/CR040426M.FP.PNG_V03).

- 
- [14] Y. Fang, Y. Lu, X. Zang, T. Wu, X.J. Qi, S. Pan, X. Xu, 3D-QSAR and docking studies of flavonoids as potent *Escherichia coli* inhibitors, *Sci Rep* 6 (2016). <https://doi.org/10.1038/SREP23634>.
- [15] L.B. Avila, E.R.C. Barreto, P.K. de Souza, B.D.Z. Silva, T.R. Martiny, C.C. Moraes, M.M. Morais, V. Raghavan, G.S. da Rosa, Carrageenan-Based Films Incorporated with Jaboticaba Peel Extract: An Innovative Material for Active Food Packaging, *Molecules* 2020, Vol. 25, Page 5563 25 (2020) 5563. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25235563>.
- [16] A. Gupta, K. Birkman, I. Raheja, S.K. Sharma, H.K. Kar, Quercetin: A wonder bioflavonoid with therapeutic potential in disease management, *Asian Pac J Trop Dis* 6 (2016) 248–252. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)61024-6](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(15)61024-6).
- [17] R. Bhimanwar, L. Kothapalli, A. Khawshi, Quercetin as natural bioavailability modulator: An overview, *Res J Pharm Technol* 13 (2020) 2043–2050. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00368.6>.
- [18] M. Dueñas, F. Surco-Laos, S. González-Manzano, A.M. González-Paramás, C. Santos-Buelga, Antioxidant properties of major metabolites of quercetin, *European Food Research and Technology* 232 (2011) 103–111. <https://doi.org/10.1007/S00217-010-1363-Y/METRICS>.
- [19] P. Singh, Y. Arif, A. Bajguz, S. Hayat, The role of quercetin in plants, *Plant Physiology and Biochemistry* 166 (2021) 10–19. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2021.05.023>.
- [20] Y. Lang, N. Gao, Z. Zang, X. Meng, Y. Lin, S. Yang, Y. Yang, Z. Jin, B. Li, Classification and antioxidant assays of polyphenols: a review, *Journal of Future Foods* 4 (2024) 193–204. <https://doi.org/10.1016/J.JFUTFO.2023.07.002>.
- [21] S.V.S. da Silva, O.M. Barboza, J.T. Souza, É.N. Soares, C.C. Dos Santos, L.V. Pacheco, I.P. Santos, T.B.D.S. Magalhães, M.B.P. Soares, E.T. Guimarães, C.S. Meira, S.L. Costa, V.D.A. da Silva, L.L.B. de Santana, A. de F. Santos Júnior, Structural Design, Synthesis and Antioxidant, Antileishmania, Anti-Inflammatory and Anticancer Activities of a Novel Quercetin Acetylated Derivative, *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 6923 26 (2021) 6923. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26226923>.
- [22] B. Salehi, L. Machin, L. Monzote, J. Sharifi-Rad, S.M. Ezzat, M.A. Salem, R.M. Merghany, N.M. El Mahdy, C.S. Killç, O. Sytar, M. Sharifi-Rad, F. Sharopov, N. Martins, M. Martorell, W.C. Cho, Therapeutic Potential of Quercetin: New Insights and Perspectives for Human Health, *ACS Omega* 5 (2020) 11849–11872. [https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.0C01818/ASSET/IMAGES/LARGE/AO0C01818\\_0002.JPEG](https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.0C01818/ASSET/IMAGES/LARGE/AO0C01818_0002.JPEG).
- [23] S.A. Almatroodi, M.A. Alsahli, A. Almatroudi, A.K. Verma, A. Aloliqi, K.S. Allemailem, A.A. Khan, A.H. Rahmani, Potential Therapeutic Targets of Quercetin, a Plant Flavonol, and Its Role in the Therapy of Various Types of Cancer through the Modulation of Various Cell Signaling Pathways, *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 1315 26 (2021) 1315. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26051315>.
-

- [24] E. Tavana, H. Mollazadeh, E. Mohtashami, S.M.S. Modaresi, A. Hosseini, H. Sabri, A. Soltani, H. Javid, A.R. Afshari, A. Sahebkar, Quercetin: A promising phytochemical for the treatment of glioblastoma multiforme, *BioFactors* 46 (2020) 356–366. <https://doi.org/10.1002/BIOF.1605>.
- [25] T. Macedo, V. Ribeiro, A.P. Oliveira, D.M. Pereira, F. Fernandes, N.G.M. Gomes, L. Araújo, P. Valentão, P.B. Andrade, Anti-inflammatory properties of *Xylopia aethiopica* leaves: Interference with pro-inflammatory cytokines in THP-1-derived macrophages and flavonoid profiling, *J Ethnopharmacol* 248 (2020) 112312. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2019.112312>.



*CHAPITRE I*

*Généralités Sur Les*

*Flavonoïdes*

## I-1- Introduction

Les métabolites sont des substances organiques issues du métabolisme de certains organismes, le métabolisme est un ensemble des réactions biochimiques qui se déroulent au sein de la cellule [1,2]. Les recherches entamées sur les plantes ont montré que leurs cellules sont capables de produire deux genres de métabolites : outre le métabolisme primaire impliqué directement dans la croissance et le développement chez les végétaux [3], il existe un métabolisme secondaire qui ne participe pas directement à ces processus mais son rôle consiste à assurer la défense chimique des plantes (résistance aux contraintes biotiques et abiotiques, résistance aux maladies et infections) [4]. Malgré qu'il soit un dérivé du métabolisme primaire, leur absence ne cause pas de mauvais effets sur les plantes. Parmi les métabolites secondaires les polyphénols ont fait l'objet de très nombreuses études [5].

Les polyphénols sont des composés très répandus dans le règne végétal, on compte aujourd'hui plus de 10000 composés polyphénoliques déjà identifiés [6–9]. Cette classe de composés englobe une grande variété de molécules caractérisées par la présence d'un noyau aromatique associé à un ou plusieurs groupes hydroxyles. Ces groupes peuvent être sous forme libre ou engagés dans des liaisons avec d'autres fonctions telles que les éthers, les esters ou les hétérosides.

Les polyphénols peuvent être divisés en cinq classes principales en fonction de leur structure (Schéma I.1) [10–13].

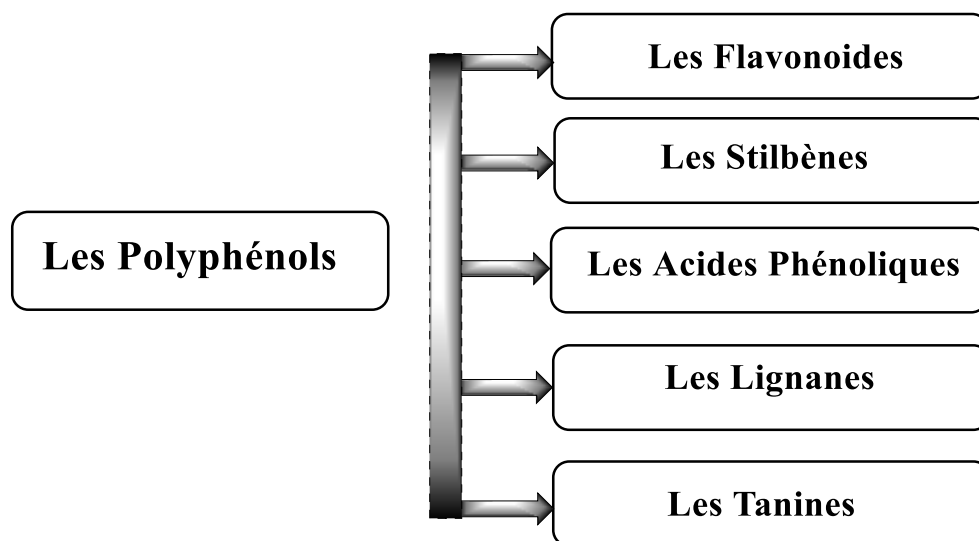


Schéma I.1 : Principales classes de polyphénols

## I-2- Les flavonoïdes

### I-2 -1- Etymologie et découverte

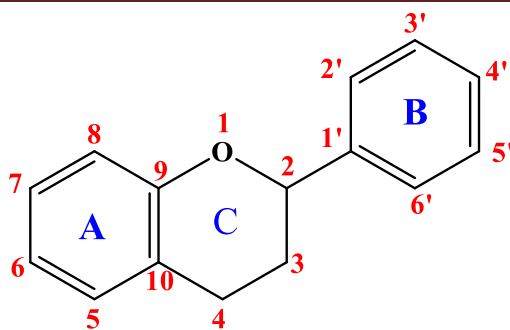
L'intérêt nutritionnel des flavonoïdes s'enracine profondément dans les travaux d'Albert Szent-Györgyi, un chercheur hongrois. En 1938, il tentait d'isoler la vitamine C, il observa, avec son collègue Joseph Svirbely, qu'une préparation impure de cette vitamine semblait aider un patient souffrant de saignements capillaires sous-cutanés [14]. Cependant, lorsqu'une solution pure de vitamine C fut administrée à un patient présentant des symptômes similaires, aucun effet bénéfique n'a été observé.

Ces résultats inattendus ont conduit à des recherches plus approfondies sur le scorbut, où des extraits de paprika et du jus de citron, riches en flavonoïdes, ont montré leur efficacité pour traiter les symptômes hémorragiques liés à la fragilité vasculaire, contrairement à l'acide ascorbique seul, qui s'est révélé inefficace. Ces résultats ont permis d'identifier la fraction active des extraits, qui sont des composés de nature flavonoïdique, responsables de cet effet. Cette découverte fit émerger l'idée que les flavonoïdes pouvaient renforcer la perméabilité vasculaire, et furent ainsi qualifiés de propriétés similaires à celles des vitamines [14]. Avant cette date, au début du XIXe siècle, Michel Eugène Chevreul, un chimiste français a obtenu plusieurs flavonoïdes à l'état cristallin [15].

Le terme flavonoïde dérivé du latin « *flavus* » signifiant « jaune », est cité pour la première fois en 1952 par Geismann et Hinreiner [16–18]. Ces substances, également appelées bioflavonoïdes, sont reconnues pour leurs nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé et jouent un rôle essentiel dans la pigmentation des plantes [19].

### I-2-2-Définition

Les flavonoïdes font partie des polyphénols, naturellement synthétisés par le métabolisme secondaire des plantes [20,21]. Ce terme est généralement utilisé pour décrire une large gamme de composés naturels ayant un squelette carboné commun de diphénylpropane consistant en deux cycles benzéniques A et B reliés par une chaîne linéaire de trois carbones en C6 - C3- C6 qui forme généralement un hétérocycle oxygéné (pyranne) cycle C, avec le cycle A (**Figure I.1**).

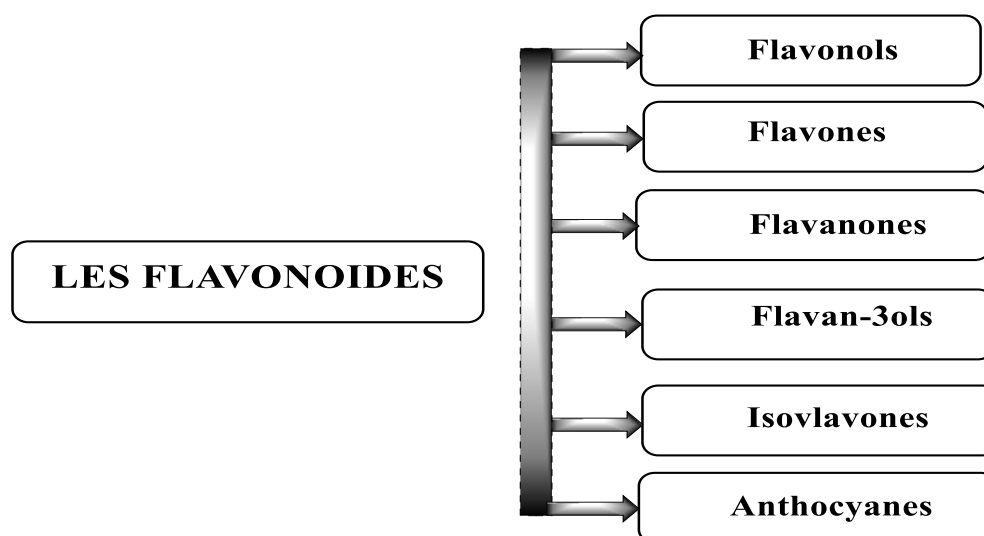


**Figure I.1:** Structure de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments dans les végétaux et font partie des métabolites secondaires les plus abondants dans notre alimentation, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ces composés polyphénoliques peuvent exister sous deux formes principales : sous forme libre ou glycosylée, et se trouvent dans diverses parties des plantes vasculaires, telles que les racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits et même dans le miel. Ces composés jouent un rôle crucial dans les propriétés médicinales des plantes et sont d'un intérêt particulier dans les études biochimiques et médicinales, en raison de leurs nombreuses activités biologiques [22].

### I-2-3- Différentes sous-classes des flavonoïdes

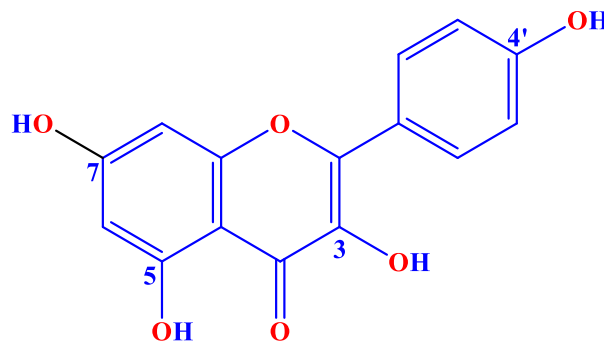
Plus de 10000 flavonoïdes ont été identifiés dans les plantes [23,24]. Ces composés peuvent être divisés en six sous-classes distinctes : flavonols, flavones, flavanones, flavan-3-ols, isoflavones et anthocyanes [25,26] (**Schéma I.2**). Il est intéressant de noter que chaque sous-classe de flavonoïdes possède des caractéristiques uniques qui leur confèrent des propriétés spécifiques. Cette distinction repose principalement sur les différences au niveau de l'état d'oxydation, les types de substitutions présentes sur le cycle C et le degré d'insaturation du cycle C [27].



**Schéma I.2 :** Les sous-classes des flavonoïdes

### a - Les flavonols

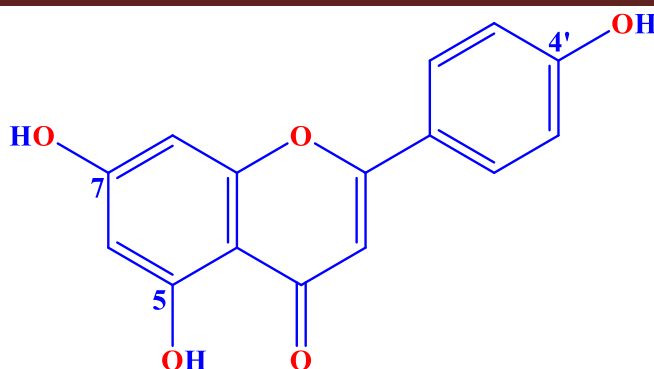
Les flavonols sont une sous-classe de flavonoïdes, caractérisés par la présence d'une double liaison entre C-2 et C-3, un groupe carbonyle en position 4 (4-oxo) et un groupe hydroxyl en C-3. De plus, les flavonols possèdent deux hydroxyles phénoliques en positions C-5 et C-7 dans le cycle A (**Figure I.2**), ce qui les distingue également. Les flavonols les plus importants sont la quercétine et le kaempferol, qui représentent jusqu'à 10 % des polyphénols dans certains fruits [28,29]. Ils sont des pigments jaunes solubles dans l'eau et généralement présents à une concentration relativement faible [30,31]. Les sources alimentaires les plus riches en flavonols sont les oignons, le chou frisé, les poireaux, le brocoli, les pommes, la tomate et le thé [32]. Il est important de noter que la biosynthèse des flavonols est significativement stimulée par la lumière. Ce processus joue un rôle crucial dans l'accumulation de ces composés phénoliques, qui se concentrent principalement dans les tissus extérieurs et aériens des fruits.



**Figure I.2** : Structure des flavanols

### b - Les flavones

Le terme "flavone" a été introduit en 1895 par Kostanecki et Tambor [33]. Les flavones se distinguent des flavonols par l'absence du groupe hydroxyle en position C-3 du cycle B (**Figure I.3**). Les flavones sont des pigments jaunes, parmi les flavones les plus courantes, on trouve la lutéoline et l'apigénine. Bien qu'elles soient moins fréquentes que les flavonols, elles sont présentes dans les aliments tels que le persil, le céleri, dans les fruits comme le pamplemousse, le citron, l'orange, ainsi que dans les poivrons et les feuilles de thé [32].

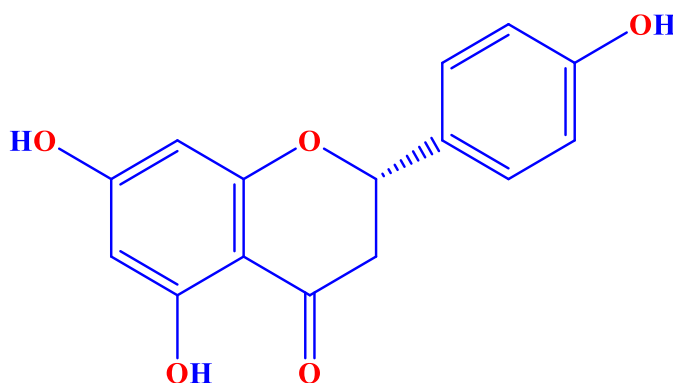


**Figure I.3** : Structure des flavones

### c- Les flavanones

Les flavanones possèdent une structure unique qui les distingue des autres flavonoïdes, notamment par la présence d'un centre d'asymétrie en position C2 (**Figure I.4**). Les flavanones ont une double liaison de moins que les flavones (l'absence de la double liaison entre les carbones C-2 et C-3). Elles se caractérisent par la présence d'une chaîne saturée à trois atomes de carbone et d'un atome d'oxygène dans le C-4. Les flavanones sont généralement glycosylées par un disaccharide en C-7.

Les flavanones se trouvent en concentration élevée seulement dans les agrumes, mais elles se retrouvent également dans les tomates et certaines plantes aromatiques telles que la menthe, le thym et les cacahuètes. Les principaux aglycones sont la naringénine (présente dans le pamplemousse), l'hesperétine (présente dans les oranges) et l'eriodictyol (présent dans les citrons) [34].



**Figure I.4** : Structure des flavanones

### d - Les isoflavones

Ces composés se distinguent par la position du noyau phénolique B, lié en position 3 par rapport aux autres flavonoïdes qui se lient en position 2 (**Figure I.5**). Ces composés sensibles à la chaleur, connus sous le nom de « phytoœstrogènes », ont des similitudes structurelles avec les

œstrogènes, notamment la présence des groupes hydroxyle en position C-7 et C-4'. Les isoflavones sont présents presque exclusivement dans les légumineuses du soja et ses produits transformés représentent la principale source d'isoflavones et contiennent les trois principales molécules (génistéine, daidzeine et glycite) [35].

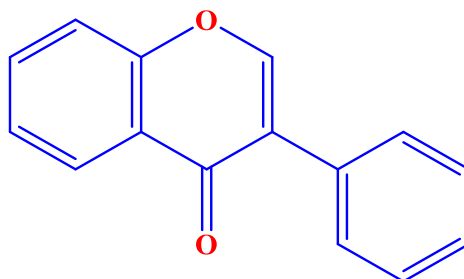


Figure I.5 : Structure des isoflavones

#### e –Les flavan-3-ols

Molécules hydroxylées en C3 se caractérisent par un hétérocycle central C saturé, sans double liaison en C2 et C3, et par l'absence du groupe carbonyle en C4 (Figure I.6). Parmi ces composés, le palargonidol-3,4-*O*-glucoside et le cyamidolcyne. Les flavan-3-ols sont présents dans de nombreux aliments, tels que le jus de raisin, le cacao, le chocolat, et les thés.

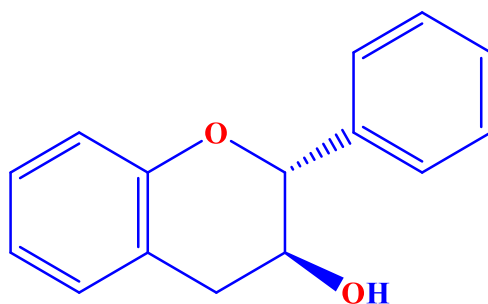


Figure I.6 : Structure des flavan-3-ols

Dans les aliments, ils ne sont jamais glycosylés. Cependant, ils existent sous forme de monomères ou de proanthocyanidines, qui sont des flavanols polymères allant de 4 à 11 unités [36]. Les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols (Figure I.7) composent le groupe des tanins condensés, l'epicatéchine et la catéchine sont les principaux flavan-3-ols.

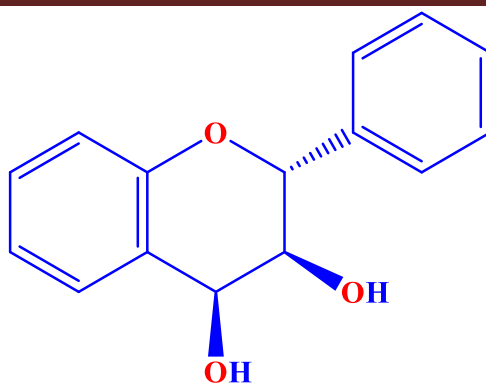


Figure I.7 : Structure des flavan-3,4-diols

### f- Les anthocyanes

Le terme « anthocyane » provient des mots grecs « *anthos* » qui signifie « fleurs » et « *kuanos* » qui signifie « bleu foncé » [37]. Ces composés sont des pigments hydrosolubles présents dans la plupart des espèces végétales. Ces pigments sont des dérivés du cation 2-phénylbenzopyrylium plus communément appelé “cation flavylum” (Figure I.8).

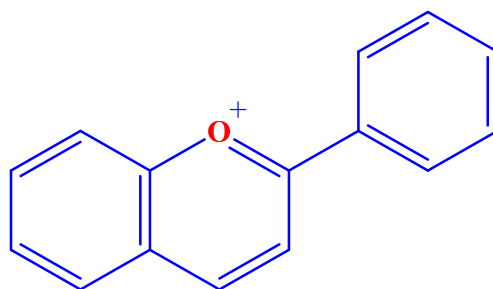
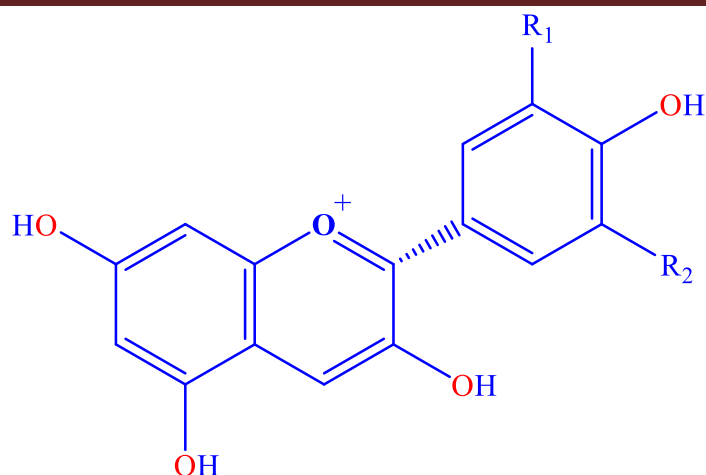


Figure I.8 : Ion de flavylum

À ce jour, plus de 600 structures moléculaires différentes d'anthocyanidines ont été identifiées. Ces métabolites secondaires sont responsables des teintes rouges, bleues et violettes, pourpres et noires des fruits, fleurs et certains légumes. Ils sont particulièrement abondants dans les baies (jusqu'à 500 mg /100 g.) et le vin rouge, mais aussi dans certaines céréales, légumes-racines (radis, oignons) ou légumes-feuilles (choux, haricots) [37].

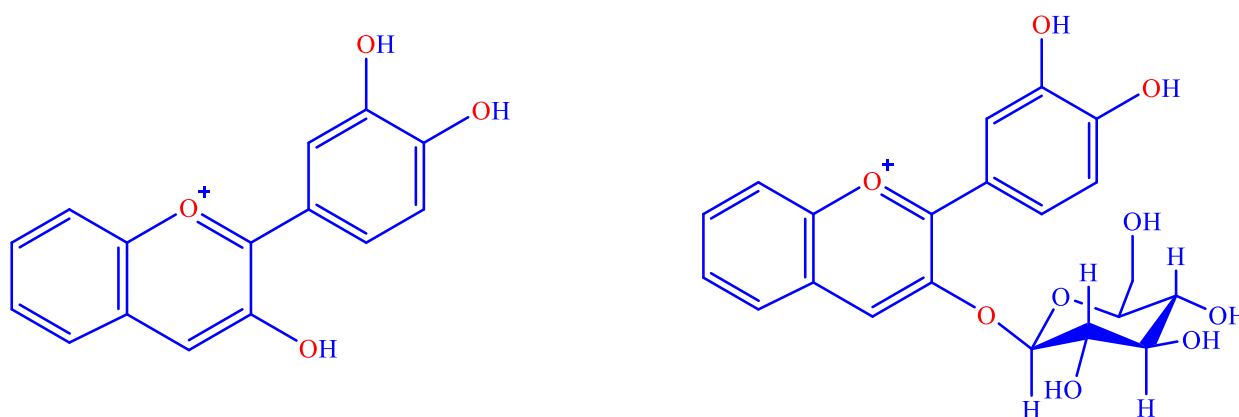
Les anthocyanidines (Figure I.9), existent principalement dans les plantes sous des formes glycosidiques qui sont communément appelées anthocyanes, sont des dérivés polyhydroxylés et polyméthoxylés.



**Figure I.9 :** Structure d'anthocyanidine

Elles se lient à des oses via une liaison glycosidique (**Figure I.10**). Ils sont distingués par l'arrangement des substitutions sur le cycle B. En augmentant le nombre de substitutions dans ces aglycones, la couleur bleue devient plus intense, en revanche la méthylation des groupe hydroxyles conduit à une couleur rouge [38].

Contrairement aux anthocyanidines libres, instables, leurs hétérosides (anthocyanes) présentent une stabilité accrue, expliquant leur prédominance dans les tissus végétaux.



**Figure I.10 :** Structures des anthocyanidines et d'anthocyanes

Les différentes sous-classes des flavonoïdes citées précédemment sont regroupés dans le **Tableau I-1**.

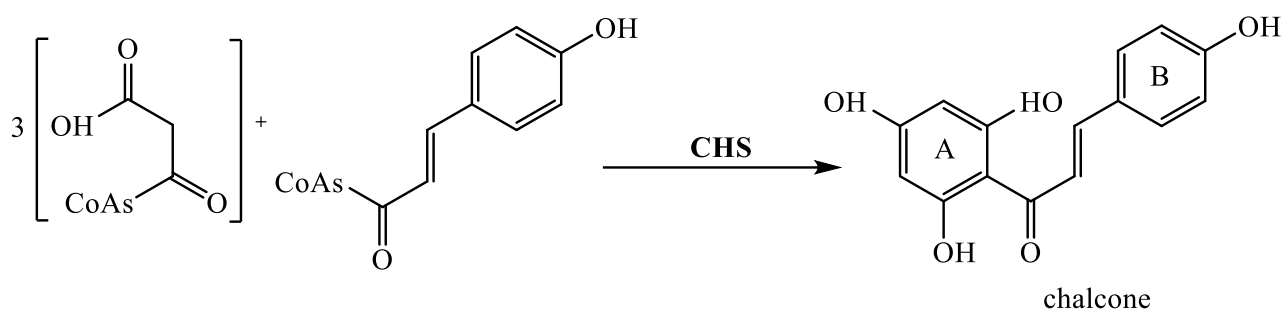
Tableau I.1 : Structures chimiques de quelques flavonoïdes

Classes	Structure chimique	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Tricétine
		H	H	H	Chryisine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	(-)- Epicatechine
		OH	OH	OH	(-)-Epigallocatechine,
		OH	OH	H	(+)-Catechine
		OH	OH	OH	(+)-Gallocatechine
		OH	OH	H	(+)- Epicatechine
		OH	OH	OH	(+)-Epigallocatechine
		OH	OH	H	(-)-Catéchine
		OH	OH	OH	(-)-Gallocatechine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodyctiol
		OH	OH	OH	5'-OH- Eriodyctiol
		OH	OCH <sub>3</sub>	H	Hesperatine

Anthocyani- -dines		H	OH	H	Pélagonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Malvidine
		OH	OH	OH	Delphéidine
		OCH <sub>3</sub>	OH	H	Péonidine
		OCH <sub>3</sub>	OH	OH	Petunidine
Isoflavones		OH	OH	H	Daidzeine
		OH	OH	OH	Genisteine

### I-3- Biosynthèse des flavonoïdes

Au plan biosynthétique, les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune, ils résultent de la condensation de 3 unités de malonyl-CoA en formant le noyau A, et d'un acide cinnamique activé qui sera à l'origine du noyau B et de la chaîne propanique. Cette condensation est catalysée par la chalcone synthétase (CHS), enzyme-clé dans la formation des flavonoïdes, qui conduit à un précurseur appelé la chalcone (**Figure I.11**).



**Figure I.11** : Formation de la chalcone

La chalcone nouvellement formée est transformée en 2S-flavanone (naringénine) par une réaction stéréospécifique catalysée par la chalcone isomérase (CHI). La naringénine occupe une position centrale dans la biosynthèse de diverses classes de flavonoïdes, grâce à l'intervention de multiples enzymes [39] (**Schéma I.3**).

Les flavonesynthases (FSI) introduisent une double liaison en positions 2,3 pour générer une flavone [40–42]. La flavanone-3-hydroxylase (F3H) catalyse quant à elle l'hydroxylation en position 3 d'une 2S-flavanone, produisant ainsi un (2R,3R)-dihydroflavonol [43]. Ce dihydroflavonol peut ensuite être transformé en flavonol par la flavonol-synthase (FLS) ou en leucoanthocyanidine sous l'action de la dihydroflavonol réductase (DFR).

L'anthocyanidine synthase (ANS) transforme ensuite la leucoanthocyanidine en anthocyanidine, laquelle est glycosylée par la glycosyltransférase (GT) pour donner naissance à une anthocyane, la pélargonidine-3-O-glucoside. Enfin, la catéchine résulte de l'action de la DFR sur la leucoanthocyanidine [44].

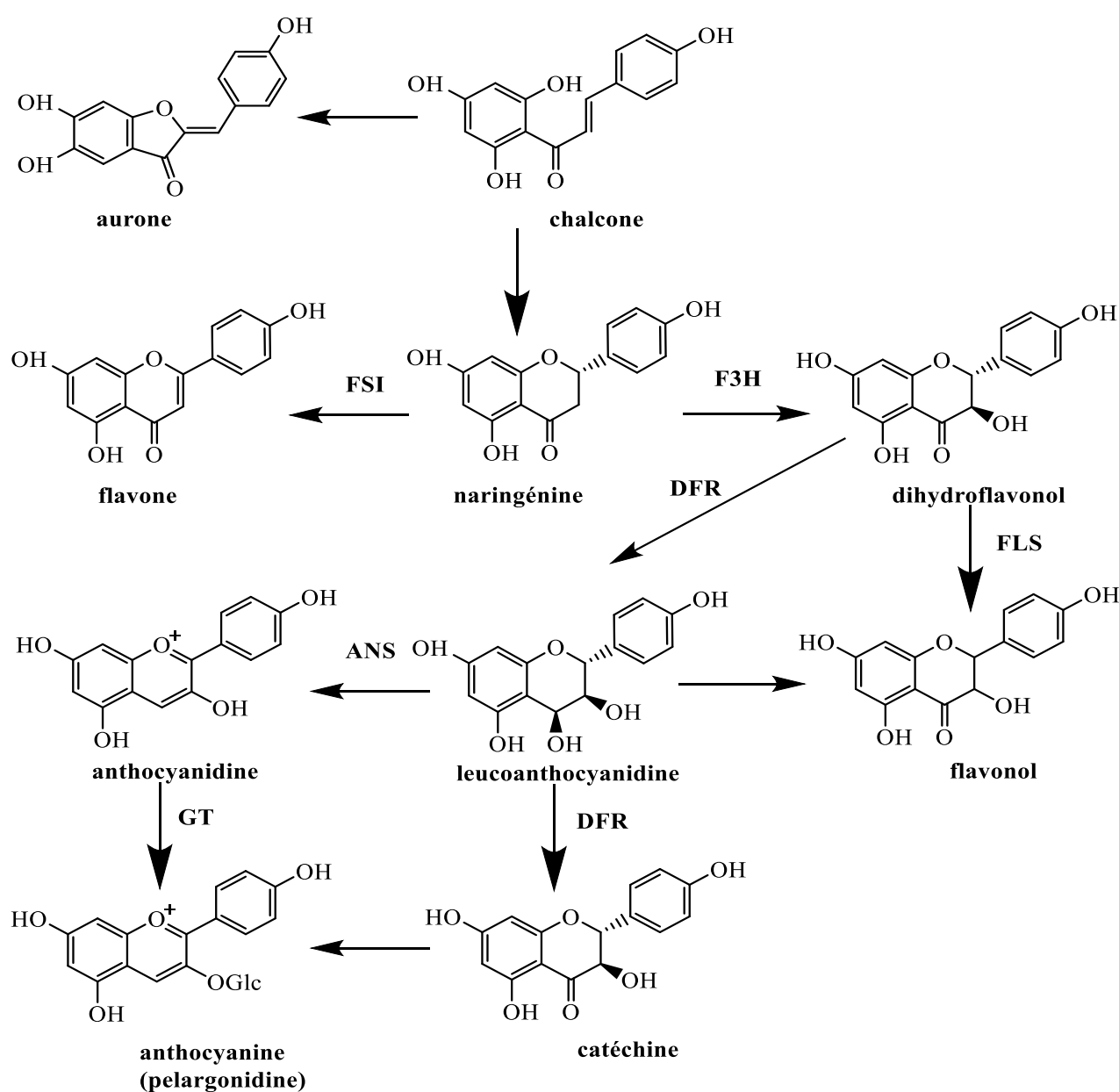


Schéma I.3: Étapes de formation de différentes classes de flavonoïdes

## I-4- Substitution du squelette flavonoïde

Les diverses structures d'aglycone au sein de chaque classe de flavonoïdes résultent principalement par hydroxylation, du cycle B en particulier, suivie de la méthylation de certains groupes hydroxyle. D'autres modifications sont également fréquentes : la glycosylation de groupes hydroxyle et l'acylation de ces sucres. Les enzymes qui effectuent les réactions de substitution sont responsables de l'énorme diversité structurale et fonctionnelle des flavonoïdes dans la nature.

### I-4-1- Hydroxylation

Ce processus chimique se produit généralement au niveau des cycles benzéniques qui composent la structure de base des flavonoïdes, notamment le cycle B. L'hydroxylation est une réaction importante dans la modification de la structure des flavonoïdes [45], et elle peut se produire à différents endroits sur la molécule surtout le noyau B (en positions 2', 5', 6') par le biais des enzymes (hydroxylases), ce qui peut modifier ses propriétés chimiques et biologiques [46,47].

En d'autres termes, l'hydroxylation augmente la diversité des flavonoïdes, en modifiant leur polarité, leur solubilité, et parfois même leurs activités biologiques, comme leur capacité à agir comme antioxydants, anti-inflammatoires, ou anticancéreux.

### I-4-2- Méthylation

La réaction de méthylation présente chez les plantes est catalysée par des méthyl transférases qui jouent le rôle de transporteur du groupe méthyle à partir de la S-adénosyl L-méthionine (SAM) comme donneur de méthyle, cette transformation fréquente s'effectue en C-6 et/ou C-8 [48]. Elle peut se faire aussi sur le noyau A (carbones 5 et 7), et sur le noyau B (carbones 2', 3', 4', 5') et l'hétérocycle C (carbone 3) [49].

### I-4-3- Glycosylation

Les flavonoïdes végétaux sont liés aux sucres, à l'exception les flavanes et quelques flavonoïdes dans les exsudats.

La *O*-glycosylation s'effectue entre un hydroxyle du squelette flavonoïque et un hydroxyle du sucre (glucose, rhamnose, xylose, galactose, arabinose...etc).

Dans la C-glycosylation, le sucre est lié directement au cycle benzénique par une liaison carbone-carbone. Cette liaison résiste à l'hydrolyse acide [50]. D'une manière générale, la liaison carbone-carbone est rencontrée souvent en position C-6 et/ou en position C-8.

Chez les flavonols, la position 3 de l'hétérocycle est toujours glycosylée, fréquemment la position 7, mais jamais la position 5 du cycle A. toutefois, les positions et le nombre de glycosylations, qui peut atteindre jusqu'à 5 sur le même squelette, dépendent de la réactivité des hydroxyles phénoliques [51].

#### I-4-4- Acylation

Les flavonoïdes acylés se retrouvent couramment dans la nature. Les groupes acyle sont fournis, Principalement, par des acides hydroxycinnamiques, mais aussi par des acides dicarboxyliques, p-hydrobenzoïques, acétiques et aliphatiques.

Habituellement, le groupe hydroxyle en C3 du fragment de sucre est acylé. L'acylation des résidus de sucre est probablement la dernière étape de la biosynthèse des glycosides de flavonoïdes dans de nombreuses plantes [52].

### I-5- Intérêts thérapeutiques des flavonoïdes

Les aliments peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine en plus de leur valeur nutritionnelle. Ainsi, l'héspéridine a un effet bénéfique sur la protection vasculaire [53] et d'une façon générale, la consommation d'agrumes réduit la survenue d'évènements coronaires ou d'accidents vasculaires cérébraux (AVC).

De plus, les anthocyanes jouent un rôle important dans la prévention de diverses maladies, notamment le cancer et les maladies cardiovasculaires. Ils contribuent également à la désintoxication, possèdent des propriétés anti-inflammatoires, et améliorent le système immunitaire. Les anthocyanes sont également bénéfiques pour la vision nocturne et peuvent ralentir le processus de vieillissement, réduisant ainsi le risque de désordres dégénératifs tels que maladie d'Alzheimer.

Bien que l'activité antivirale des flavonoïdes soit connue depuis 1940, ceux contenus dans les baies peuvent avoir des effets positifs contre la maladie de Parkinson et peuvent aider à améliorer la mémoire chez les personnes âgées [54].

Un phénomène mérite d'être évoqué, ici, la synergie entre différents flavonoïdes. Diverses combinaisons de flavones et de flavonols ont montré une synergie, à titre d'exemple, le kaempferol et la luteoline montrent un effet synergique contre le virus de l'herpès simplex VHS. Une synergie a également été signalée entre les flavonoïdes et d'autres agents antiviraux [55].

---

## Références Bibliographiques

- [1] L.A. Stanley, Drug metabolism, *Pharmacognosy: Fundamentals, Applications, and Strategies*, Second Edition (2024) 597–624. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18657-8.00029-3>.
- [2] A.F. Ofoedum, N.C. Uyanwa, E.C. Chikelu, L.N. Iroagba, J.N. Ugwoezuonu, E.J. Anaeke, T.A. Odeyemi, F.P. Okezie, M.U. Nwuka, Primary and Secondary Metabolites as Products of Microbial Metabolism: Uses and Application in Foods, Pharmaceutical and Allied Industries. A Review, *European Journal of Applied Science, Engineering and Technology* 2 (2024) 4–16. [https://doi.org/10.59324/EJASET.2024.2\(2\).01](https://doi.org/10.59324/EJASET.2024.2(2).01).
- [3] R. Vona, L. Pallotta, M. Cappelletti, C. Severi, P. Matarrese, The Impact of Oxidative Stress in Human Pathology: Focus on Gastrointestinal Disorders, *Antioxidants* 2021, Vol. 10, Page 201 10 (2021) 201. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX10020201>.
- [4] Y. Jha, H.I. Mohamed, Plant Secondary Metabolites as a Tool to Investigate Biotic Stress Tolerance in Plants: A Review, *Gesunde Pflanzen* 2022 74:4 74 (2022) 771–790. <https://doi.org/10.1007/S10343-022-00669-4>.
- [5] E. Bolat, S. Saritaş, H. Duman, F. Eker, E. Akdaşçi, S. Karav, A.M. Witkowska, Polyphenols: Secondary Metabolites with a Biological Impression, *Nutrients* 16 (2024) 2550. <https://doi.org/10.3390/NU16152550>.
- [6] M.T. El-Saadony, T. Yang, A.M. Saad, S.S. Alkafaas, S.S. Elkafas, G.S. Eldeeb, D.M. Mohammed, H.M. Salem, S.A. Korma, S.A. Loutfy, M.Y. Alshahran, A.E. Ahmed, W.F.A. Mosa, T.A. Abd El-Mageed, A.F. Ahmed, M.A. Fahmy, M.K. El-Tarabily, R.M. Mahmoud, S.F. AbuQamar, K.A. El-Tarabily, J.M. Lorenzo, Polyphenols: Chemistry, bioavailability, bioactivity, nutritional aspects and human health benefits: A review, *Int J Biol Macromol* 277 (2024) 134223. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2024.134223>.
- [7] M.S. Khan, S. Khan, N. Khan, A.S. Khan, Dietary Sources, Classification, Biosynthesis, and Mechanism of Action of Flavonoids in Combating Oxidative Stress, Role of Flavonoids in Chronic Metabolic Diseases (2024) 67–114. <https://doi.org/10.1002/9781394238071.CH3>.
- [8] W. Jing, Y. Yang, Q. Shi, Y. Wang, F. Liu, Machine Learning-Based Nanozyme Sensor Array as an Electronic Tongue for the Discrimination of Endogenous Phenolic Compounds

- 
- in Food, Anal Chem 96 (2024) 16027–16035.  
[https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.4C03586/SUPPL\\_FILE/AC4C03586\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.4C03586/SUPPL_FILE/AC4C03586_SI_001.PDF).
- [9] Y. Liu, X. Han, M. Zhao, L. Liu, Z. Deng, Q. Zhao, Y. Yu, Functional characterization of polyphenol oxidase OfPPO2 supports its involvement in parallel biosynthetic pathways of acteoside, The Plant Journal 119 (2024) 927–941. <https://doi.org/10.1111/TPJ.16807>.
- [10] K. Vinayagamurthy, D.P. Kumar, K. Yalavarthi, K.N. Ramudu, J. Ravichandran, N.M. Stephen, G. Ponesakki, Biological Significance of Polyphenols as Functional Molecules in Biomaterial Preparations, Science and Engineering of Polyphenols: Fundamentals and Industrial Scale Applications (2024) 548–583.  
<https://doi.org/10.1002/9781394203932.CH23>.
- [11] M.N. Afridi, Z. Zafar, I.A. Khan, I. Ali, A.U.R. Bacha, H.A. Maitlo, M. Qasim, M. Nawaz, F. Qi, M. Sillanpää, K.H. Lee, M.B. Asif, Advances in MXene-based technologies for the remediation of toxic phenols: A comprehensive review, Adv Colloid Interface Sci 332 (2024) 103250. <https://doi.org/10.1016/J.CIS.2024.103250>.
- [12] J.B. Harborne, Phenolic Compounds, Phytochemical Methods (1973) 33–88.  
[https://doi.org/10.1007/978-94-009-5921-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-009-5921-7_2).
- [13] M. Marder, H. Viola, C. Wasowski, S. Fernández, J.H. Medina, A.C. Paladini, 6-Methylapigenin and hesperidin: new valeriana flavonoids with activity on the CNS, Pharmacol Biochem Behav 75 (2003) 537–545. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(03\)00121-7](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(03)00121-7).
- [14] A. Grzybowski, K. Pietrzak, Albert Szent-Györgyi (1893-1986): The scientist who discovered vitamin C, Clin Dermatol 31 (2013) 327–331.  
<https://doi.org/10.1016/J.CLINDERMATOL.2012.08.001>.
- [15] A.K. Kuropatnicki, E. Szliszka, W. Krol, Historical Aspects of Propolis Research in Modern Times, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2013 (2013) 964149.  
<https://doi.org/10.1155/2013/964149>.
- [16] N. Cook, S.S.-T.J. of nutritional biochemistry, undefined 1996, Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources, ElsevierNC Cook, S SammanThe Journal of Nutritional Biochemistry, 1996•Elsevier (n.d.).
-

- 
- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955286395001689> (accessed February 26, 2025).
- [17] A. Kuropatnicki, ... E.S.-... B.C. and, undefined 2013, Historical aspects of propolis research in modern times, Wiley Online LibraryAK Kuropatnicki, E Szliszka, W KrolEvidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013•Wiley Online Library 2013 (2013) 11. <https://doi.org/10.1155/2013/964149>.
- [18] P. Batra, A.K. Sharma, Anti-cancer potential of flavonoids: Recent trends and future perspectives, 3 Biotech 3 (2013) 439–459. <https://doi.org/10.1007/S13205-013-0117-5/FIGURES/2>.
- [19] D. Malešev, V.K.-J. of the S. chemical, undefined 2007, Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions, Farfar.Pharmacy.Bg.Ac.RsD Malešev, V KuntićJournal of the Serbian Chemical Society, 2007•farfar.Pharmacy.Bg.Ac.Rs (n.d.). <https://farfar.pharmacy.bg.ac.rs/handle/123456789/998> (accessed February 26, 2025).
- [20] K. Ghedira, Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique, Phytothérapie 3 (2005) 162–169. <https://doi.org/10.1007/s10298-005-0096-8>.
- [21] R. Julkunen-Tiitto, N. Nenadis, S. Neugart, M. Robson, G. Agati, J. Vepsäläinen, G. Zipoli, L. Nybakken, B. Winkler, M.A.K. Jansen, Assessing the response of plant flavonoids to UV radiation: an overview of appropriate techniques, Phytochemistry Reviews 14 (2015) 273–297. <https://doi.org/10.1007/s11101-014-9362-4>.
- [22] S. Quideau, D. Deffieux, C. Douat-Casassus, L. Pouységu, Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis, Angewandte Chemie International Edition 50 (2011) 586–621. <https://doi.org/10.1002/anie.201000044>.
- [23] A. Ullah, S. Munir, S.L. Badshah, N. Khan, L. Ghani, B.G. Poulson, A.-H. Emwas, M. Jaremko, Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent, Molecules 25 (2020) 5243. <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>.
- [24] Z.-T. Xiao, Q. Zhu, H.-Y. Zhang, Open Journal of Genomics, Pdfs.Semanticscholar.OrgZT Xiao, Q Zhu, HY Zhangpdfs.Semanticscholar.Org (2014).
-

- 
- <https://pdfs.semanticscholar.org/606e/05c1039df20c34cc3210bedc38691b040700.pdf>  
(accessed February 26, 2025).
- [25] K. D’Haeseleer, A. De Keyser, S. Goormachtig, M. Holsters, Transcription Factor MtATB2: About Nodulation, Sucrose and Senescence, *Plant Cell Physiol* 51 (2010) 1416–1424. <https://doi.org/10.1093/PCP/PCQ104>.
- [26] V. Cheynier, G. Comte, K.M. Davies, V. Lattanzio, S. Martens, Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology, *Plant Physiology and Biochemistry* 72 (2013) 1–20. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2013.05.009>.
- [27] A.N. Panche, A.D. Diwan, S.R. Chandra, Flavonoids: an overview, *J Nutr Sci* 5 (2016) e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>.
- [28] N. Shen, T. Wang, Q. Gan, S. Liu, L. Wang, B. Jin, Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity, *Food Chem* 383 (2022) 132531. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531>.
- [29] H. El Gharas, Polyphenols: food sources, properties and applications – a review, *Int J Food Sci Technol* 44 (2009) 2512–2518. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02077.x>.
- [30] E.C. Bate-Smith, Flavonoid Compounds in Foods, in: 1954: pp. 261–300. [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60224-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60224-4).
- [31] S.P. Bangar, V. Chaudhary, N. Sharma, V. Bansal, F. Ozogul, J.M. Lorenzo, Kaempferol: A flavonoid with wider biological activities and its applications, *Crit Rev Food Sci Nutr* 63 (2023) 9580–9604. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2067121>.
- [32] A. Guaâdaoui, Recent Advances in Bioactivities of Common Food Biocompounactives, *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health: Second Edition* 1 (2017) 541–594. <https://doi.org/10.1002/9781119158042.CH25>.
- [33] R. Wolffenstein, Ueber die Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd auf Aceton und Mesityloxyd, *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft* 28 (1895) 2265–2269. <https://doi.org/10.1002/CBER.189502802208>.
- [34] M. Archivio, C. Filesi, ... R.D.B.-...-I.S., undefined 2007, Polyphenols, dietary sources and bioavailability, *Researchgate.NetMD Archivio, C Filesi, R Di Benedetto, R Gargiulo, C Giovannini, R MasellaAnnali-Istituto Superiore Di Sanita, 2007•researchgate.Net* (n.d.).
-

- 
- [https://www.researchgate.net/profile/Claudio-Giovannini/publication/5642981\\_Polyphenols\\_dietary\\_sources\\_and\\_bioavailability/links/0912f507fae67626a5000000/Polyphenols-dietary-sources-and-bioavailability.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Claudio-Giovannini/publication/5642981_Polyphenols_dietary_sources_and_bioavailability/links/0912f507fae67626a5000000/Polyphenols-dietary-sources-and-bioavailability.pdf) (accessed January 22, 2025).
- [35] J.W. Erdman, D. Balentine, L. Arab, G. Beecher, J.T. Dwyer, J. Folts, J. Harnly, P. Hollman, C.L. Keen, G. Mazza, M. Messina, A. Scalbert, J. Vita, G. Williamson, J. Burrowes, Flavonoids and Heart Health: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, May 31–June 1, 2005, Washington, DC1,, J Nutr 137 (2007) 718S-737S. <https://doi.org/10.1093/JN/137.3.718S>.
- [36] L.A. De la Rosa, E. Alvarez-Parrilla, G.A. González-Aguilar, Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry, Nutritional Value, and Stability, Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry, Nutritional Value, and Stability (2009) 1–367. <https://doi.org/10.1002/9780813809397>.
- [37] M.G. Miguel, Anthocyanins: Antioxidant and/or anti-inflammatory activities, (n.d.).
- [38] G. Richter, Metabolisme des vegetaux: physiologie et biochimie, (1993).
- [39] B. Winkel-Shirley, Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology, Plant Physiol 126 (2001) 485–493. <https://doi.org/10.1104/PP.126.2.485>.
- [40] E. Leonard, Y. Yan, K.H. Lim, M.A.G. Koffas, Investigation of Two Distinct Flavone Synthases for Plant-Specific Flavone Biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*, Appl Environ Microbiol 71 (2005) 8241. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8241-8248.2005>.
- [41] E. Leonard, J. Chemler, H.L. Kok, M.A.G. Koffas, Expression of a soluble flavone synthase allows the biosynthesis of phytoestrogen derivatives in *Escherichia coli*, Appl Microbiol Biotechnol 70 (2006) 85–91. <https://doi.org/10.1007/S00253-005-0059-X/METRICS>.
- [42] S. Martens, A. Preuß, U. Matern, Multifunctional flavonoid dioxygenases: Flavonol and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* L., Phytochemistry 71 (2010) 1040–1049. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2010.04.016>.
- [43] Y.J. Sun, J.M. He, J.Q. Kong, Characterization of two flavonol synthases with iron-independent flavanone 3-hydroxylase activity from *Ornithogalum caudatum* Jacq, BMC Plant Biol 19 (2019) 1–15. <https://doi.org/10.1186/S12870-019-1787-X/FIGURES/9>.
-

- 
- [44] J.I. Nakajima, Y. Tanaka, M. Yamazaki, K. Saito, Reaction Mechanism from Leucoanthocyanidin to Anthocyanidin 3-Glucoside, a Key Reaction for Coloring in Anthocyanin Biosynthesis, *Journal of Biological Chemistry* 276 (2001) 25797–25803. <https://doi.org/10.1074/jbc.M100744200>.
- [45] Harborne, J. B., 1975. *Flavonoids in phytochemistry,...* - Google Scholar, (n.d.). [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=Harborne%2C+J.+B.%2C+1975.+Flavonoids+in+phytochemistry%2C+Vol.+II%2C+Edition+Lawrence%2C+P.+L.%2C+Vol.+II%2C+Litton+Educational+Publishing.&btnG=](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=Harborne%2C+J.+B.%2C+1975.+Flavonoids+in+phytochemistry%2C+Vol.+II%2C+Edition+Lawrence%2C+P.+L.%2C+Vol.+II%2C+Litton+Educational+Publishing.&btnG=) (accessed February 27, 2025).
- [46] M. Iinuma, M. Mizuno, Natural occurrence and synthesis of 2'-oxygenated flavones, flavonols, flavanones and chalcones, *Phytochemistry* 28 (1989) 681–694. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(89\)80094-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(89)80094-9).
- [47] V. De Luca, R.K. Ibrahim, Enzymatic synthesis of polymethylated flavonols in *Chrysosplenium americanum*. II. Substrate interaction and product inhibition studies of flavonol 3-, 6-, and 4'-O-methyltransferases, *Arch Biochem Biophys* 238 (1985) 606–618. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(85\)90206-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(85)90206-1).
- [48] H. Ashihara, A. Crozier, A. Komamine, *Plant Metabolism and Biotechnology*, *Plant Metabolism and Biotechnology* (2011). <https://doi.org/10.1002/9781119991311>.
- [49] E. Grotewold, The science of flavonoids, *The Science of Flavonoids* (2006) 1–273. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-28822-2/COVER>.
- [50] Chopin, J., 1966. *Actualité de phytochimie fondamentale,...* - Google Scholar, (n.d.). [https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as\\_sdt=0%2C5&q=Chopin%2C+J.%2C+1966.+Actualit%C3%A9+de+phytochimie+fondamentale%2C+II%C3%A9me+s%C3%A9rie%2C+%C3%A9dition+Masson%2C+Paris%2C+119.&btnG=](https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=Chopin%2C+J.%2C+1966.+Actualit%C3%A9+de+phytochimie+fondamentale%2C+II%C3%A9me+s%C3%A9rie%2C+%C3%A9dition+Masson%2C+Paris%2C+119.&btnG=) (accessed February 27, 2025).
- [51] Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires ... - Jean-Jacques Macheix, Annie Fleuriet, Christian Jay-Allemand - Google Livres, (n.d.). <https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=i9vvtEn8EcUC&oi=fnd&pg=PR7&dq=Jean-Jacques+Macheix,+Annie+Fleuriet+et+Christian+Jay-Allemand,+Les+compos%C3%A9s+ph%C3%A9noliques+des+v%C3%A9g%C3%A9taux:+Un+exemple+de+m%C3%A9tabolites+secondaires+d%27importance+%C3%A9conomiq ue.+presses+polytechniques+et+universitaires+romandes.+2005.6->
-

- 
- 7,150&ots=49kgC0vGpc&sig=CoDB8B2oYLngR11J6O5ML-muvDE&redir\_esc=y#v=onepage&q&f=false (accessed February 27, 2025).
- [52] Anthocyanins as Flower Pigments: Feasibilities for flower colour modification - T. Mulder-Krieger, Robert Verpoorte - Google Livres, (n.d.).  
[https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=YObqCAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR3&dq=%5D+TH.Mulder-Krieger+and+R.Verpoorte+,+Anthocyanins+as+flower+pigments+:feasibilities+for+flower+colour+modification.+Springer+1994+:+128&ots=sTCgMxsgE5&sig=4AdAKMo5uCekKHp71QOD1hbwHM0&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=YObqCAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR3&dq=%5D+TH.Mulder-Krieger+and+R.Verpoorte+,+Anthocyanins+as+flower+pigments+:feasibilities+for+flower+colour+modification.+Springer+1994+:+128&ots=sTCgMxsgE5&sig=4AdAKMo5uCekKHp71QOD1hbwHM0&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false) (accessed February 27, 2025).
- [53] C. Morand, D. Milenkovic, Polyphénols et santé vasculaire: mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire, *Innovations Agronomiques* 42 (2014) 47–62. <https://doi.org/10.17180/N5HQ-SZ71>.
- [54] J.P.E. Spencer, Flavonoids: modulators of brain function?, *British Journal of Nutrition* 99 (2008) ES60–ES77. <https://doi.org/10.1017/S0007114508965776>.
- [55] P. Singh, S. Kumar, F. Bast, Natural Compounds Are Smart Players in Context to Anticancer Potential of Receptor Tyrosine Kinases: An In Silico and In Vitro Advancement, (2017) 177–202. [https://doi.org/10.1007/978-94-024-1045-7\\_8](https://doi.org/10.1007/978-94-024-1045-7_8).

*CAPITRE II*  
*Approches Théoriques*  
*Et Méthodologies De*  
*Calcul*

## II-1- Introduction

Basée sur des méthodes expérimentales classiques, la recherche scientifique avait des limites techniques pour détecter et analyser les réactions chimiques transitoires (phénomènes à cinétique rapide). Le développement d'outils informatiques performants a permis d'accéder à une meilleure compréhension de ces phénomènes via la modélisation. Aujourd'hui, la modélisation s'est imposée dans tous les domaines scientifique grâce au développement des études empiriques. De nos jours, la recherche et la création de nouveaux composés chimiques et biochimiques sont fréquemment accompagnées d'études de modélisation moléculaire. La chimie computationnelle peut être définie comme l'application de principes mathématiques et théoriques pour résoudre des problèmes chimiques [1].

En recherche pharmaceutique, la modélisation moléculaire, en combinant approches théoriques et simulations numériques, permet de prédire l'efficacité des molécules et d'analyser finement leurs interactions avec les cibles biologiques.

## II-2- Modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire représente un ensemble de techniques et d'outils qui permettent d'effectuer des investigations informatiques et de résoudre des problèmes chimiques, elle permet de déterminer la représentation graphique de la géométrie des atomes dans une molécule et évaluer les propriétés physico-chimiques de la molécule étudiée [2]. La science informatique joue un rôle essentiel pour la chimie computationnelle. Les logiciels permettent de traiter et d'analyser les données de manière efficace, tout en offrant des visualisations qui aident à mieux comprendre les phénomènes scientifiques. En regroupant plusieurs domaines tels que la mécanique moléculaire, la dynamique moléculaire et la chimie quantique [3].

### II-2-1- Mécanique quantique

La mécanique quantique, une branche de la physique vise à expliquer les phénomènes qui se manifestent à l'échelle microscopique dans la nature [4]. La chimie quantique repose principalement sur la résolution de l'équation de Schrödinger [5], qui décrit le mouvement des électrons et des noyaux dans les systèmes moléculaires. En effet, cette équation étant très complexe, sa simplification en système d'équation mono-électronique facilite sa résolution numérique ; notamment grâce à quelques approximations. Ce qui conduit au développement des ressources informatiques et des méthodes de calculs plus puissantes. La connaissance de la structure électronique des molécules est très importante pour comprendre la géométrie, les propriétés et la réactivité de telle système.

### II-2-2- Mécanique moléculaire

La mécanique moléculaire est une approche empirique qui repose sur des modèles mécaniques, où les atomes sont représentés comme des sphères rigides et non interpénétrées de masse donnée, tandis que les liaisons et les angles de valence sont assimilés à des ressorts. L'idée d'assimiler des molécules dans des modèles mécaniques est attribuée à Andrews (1930), qui a étudié les très grands systèmes biologiques à l'aide des méthodes de la mécanique moléculaire (MM). Les autres méthodes basées sur des solutions approchées de l'équation de Schrödinger ne sont pas adaptées aux grands systèmes biologiques. Les méthodes de mécanique moléculaire (MM), également appelées méthodes de champ de force, sont largement utilisées pour calculer la géométrie et les énergies des macromolécules en ignorant les mouvements des électrons et donc les effets quantiques [6].

### II-2-3- Dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire permet d'étudier le mouvement des systèmes moléculaires en appliquant les principes de la mécanique classique plutôt que quantique, cette dernière étant rarement utilisée en pratique en raison de la taille des systèmes simulés et des échelles de temps prolongées requises [7]. L'algorithme repose sur un processus itératif : à chaque pas de simulation, les forces exercées sur chaque particule sont calculées, ce qui permet de déterminer leurs nouvelles positions. Ce cycle – calcul des forces, mise à jour des positions – est répété continûment pour reconstruire l'évolution temporelle du système [8].

## II-3- Principe de la chimie quantique

L'équation de Schrödinger est une équation fondamentale en mécanique quantique, a été proposée par le physicien autrichien Erwin Schrödinger en 1925 [5]. Elle décrit l'évolution des particules massives non relativistes au cours du temps et donc le même principe que les relations fondamentales de la dynamique en mécanique classique.

Pour un système composé de N noyaux et n électrons en régime permanent l'équation de Schrödinger est décrit par la relation suivant (Eq.1) :

$$\hat{H} \Psi(\mathbf{r}, \mathbf{R}) = E \Psi(\mathbf{r}, \mathbf{R}) \quad (1)$$

Où :

E : désigne l'énergie totale du système étudié à l'état fondamental.

$\Psi$ : est la fonction d'onde qui contient toutes les informations sur les propriétés dynamiques du système.

( $r$  et  $R$ ) : sont respectivement les positions des électrons et des noyaux

$\hat{H}$  est l'opérateur Hamiltonien non relativiste du système, qui réunit toutes les contributions énergétiques du système (cinétique des électrons  $T_e$ , cinétique des noyaux  $T_N$ , répulsion entre électrons  $V_{ee}$ , répulsion entre noyaux  $V_{NN}$ , et le terme d'attraction électrons-noyaux  $V_{eN}$  .

$$\hat{H} = \hat{T}_e + \hat{T}_N + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{NN} + \hat{V}_{eN} \quad (2)$$

On peut simplifier cette expression en appliquant l'approximation de Born-Oppenheimer [9] selon laquelle le mouvement des noyaux est négligé devant celui des électrons, la masse de ces derniers étant bien inférieure. Les noyaux sont considérés comme statiques, on peut alors écrire un hamiltonien électronique indépendant des termes  $T_N$  et  $V_{NN}$  :

$$\hat{H} = \hat{T}_e + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{eN} \quad (3)$$

Cette approximation de Born-Oppenheimer permet de résoudre les problèmes nucléaires et électroniques de façon indépendante, ainsi, on écrit la fonction d'onde approchée du système sous la forme d'un produit de deux fonctions [10] :

$$\Psi = \Psi_{el}(r, R) \cdot \Psi_N(R) \quad (4)$$

où :

$\Psi_N(R)$  est la fonction d'onde nucléaire.

$\Psi_{el}(r, R)$  est la fonction d'onde électronique qui vérifie l'équation de Schrödinger électronique suivante:

$$\hat{H}_{el}\Psi_{el} = E_{el}\Psi_{el} \quad (5)$$

avec :

l'Hamiltonien, qui est défini par la relation suivante :

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \nabla_i^2 - \frac{1}{2} \sum_{K=1}^N \nabla_K^2 + \sum_{i=1}^n \sum_{i>j}^n \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{K=1}^N \sum_{K>L}^N \frac{Z_K Z_L}{R_{KL}} - \sum_{k=1}^N \sum_{i=1}^n \frac{Z_K}{r_{ki}} \quad (6)$$

Où :

$\nabla$  est l'opérateur énergie cinétique correspondant à l'électron  $i$

$Z_K$  est le numéro atomique de l'atome  $A$

$r_{ij}$  est la distance entre les électrons  $i$  et  $j$ .

Le premier terme de l'hamiltonien correspond à l'hamiltonien mono électronique, calculé pour chaque électron du système, le deuxième correspond à l'hamiltonien bi-électronique, qui nous permet de déterminer les interactions entre électrons.

La résolution exacte de l'équation de Schrödinger (Equation 1) est impossible dans les systèmes poly-électroniques et multiélectroniques. Cependant, il est possible d'arriver à des solutions approchées grâce à des approximations successives différentes.

#### **II-4- Résolutions approchées**

Nous pouvons simplifier l'équation de Schrödinger en appliquant l'approximation de Born-Oppenheimer 1927 [11] où le mouvement des noyaux est supposé plus lent que celui des électrons et la distribution de ces derniers au sein d'une molécule dépend de la position des noyaux fixés. Il existe plusieurs méthodes qui ont été conçues et appliquées afin de résoudre l'équation de Schrödinger multiélectroniques, parmi lesquelles celles qui considèrent l'énergie d'un système électronique en fonction de sa densité, dites méthodes de la fonctionnelle de la densité (DFT).

#### **II-5- Théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)**

La théorie fonctionnelle de la densité est une méthode de calcul quantique qui permet avec précision d'étudier les structures électroniques des systèmes. C'était l'une des méthodes les plus couramment utilisées en informatique quantique en physique de la matière condensée et en chimie quantique en raison de son application possible à des systèmes de différentes tailles, de quelques atomes à des centaines d'atomes. La DFT, un concept introduit initialement par Thomas et Fermi en 1927, a été formalisé par Hohenberg et Kohn à travers deux théorèmes fondamentaux [12]. Le premier théorème stipule qu'une densité électronique donnée correspond à une seule fonction d'onde, tandis que le second affirme que la densité électronique en fonction de l'énergie obéit au principe variationnel. Par conséquent, selon les deux théorèmes de Hohenberg et Kohn, l'état du système électronique peut être entièrement compris en déterminant la densité électronique du système électronique, et la densité électronique de l'état fondamental peut être obtenue en minimisant l'énergie du système.

## II-6- Approximations utilisées en DFT

L'objectif des développements récents dans le cadre de la méthode de la fonctionnelle de la densité est de calculer l'énergie échange-corrélation. Nous présentons ci-après les fonctionnels standards, qui ont déjà été largement utilisés.

### II-6-1- Approximation de la densité locale (LDA)

Dans l'approximation de la densité locale (LDA pour Local Density Approximation), la densité est localement traitée comme un gaz uniforme d'électrons, c'est-à-dire variée légèrement. Même si la densité de spin est introduite (LSDA pour Local Spin Density Approximation), ce type d'approximation conduit généralement à des erreurs supérieures à l'énergie de corrélation.

### II-6-2- Approximation du gradient généralisé (GGA)

La méthode LDA est basée sur un modèle de gaz d'électrons et suppose donc une densité électronique uniforme. Or, les systèmes atomiques ou moléculaires sont souvent très différents des gaz d'électrons homogènes, et plus généralement, on peut considérer tous les systèmes réels comme inhomogènes, c'est-à-dire avec variation spatiale de la densité électronique. Des méthodes dites GGA (Generalized Gradient Approximation), parfois appelées méthodes non locales, ont été développées pour rendre compte de cette variation de densité en exprimant l'énergie d'échange et de corrélation en fonction de la densité et de son gradient (i.e. le gradient et sa première dérivée). L'équation est donnée par :

$$E_{XC}^{GGA}[\rho(\mathbf{r})] = \int \rho(\mathbf{r}) \epsilon_{XC}[\rho(\mathbf{r}), \nabla \rho(\mathbf{r})] d\mathbf{r} \quad (7)$$

Globalement, la fonction GGA est structurée selon deux types de procédures différentes. L'une est de nature empirique, consiste à une interpolation numérique des résultats expérimentaux obtenus pour un grand nombre de molécules. On peut donner des exemples de fonctionnelles construites à partir de cette procédure, fonctionnelles commutatives notées B (Becke88) [13], PW (Perdew-Wang) [14] ou encore mPW (Perdew-Wang modifié) [15]. Le deuxième processus consiste à construire des fonctionnelles basées sur les principes de la mécanique quantique (et plus raisonnables en ce sens) comme les fonctionnelles d'échange B88 (Becke88) [16], P (Perdew86) [17] ou PBE (Perdew-Burke-Ernzerhof) [18].

### II-6-3- Fonctionnelle hybride « B3LYP

Dès les années 90, parallèlement à l'expérimentation de nouvelles approximations apparaissent et fournissent des énergies, des structures et des propriétés moléculaires.

Ces approximations consistent à ajouter à la fonctionnelle d'échange-corrélation de type Kohn et Sham un terme d'échange non local provenant de la méthode Hartree-Fock.

La première d'entre elles, la fonctionnelle B3 proposée par Becke en 1993, ouvre la voie à des modèles comme la B3LYP, largement utilisée. Plus récemment, les travaux de Zhao et Truhlar (M06-2X, M06-HF...) ont permis de développer des fonctionnelles encore plus précises, notamment pour les calculs énergétiques.

La B3LYP est actuellement la fonctionnelle hybride la plus employée en théorie DFT. Elle a été proposée par Becke et son équipe en 1993. Il s'agit d'une fonctionnelle hybride obtenue par combinaison linéaire entre des fonctionnelles d'échange et de corrélation GGA et de l'échange Hartree-Fock [19–21].

B3LYP signifie Becke - 3 paramètres - Lee, Yang, Parr [22,23], les trois paramètres font référence pour déterminer l'énergie d'échange.

L'énergie B3LYP échange-corrélation est comme suit :

$$E_{XC}^{B3LYP} = E_{XC}^{LDA} + \alpha_0(E_X^{HF} - E_X^{LDA}) + \alpha_X(E_X^{GGA} - E_X^{LDA}) + \alpha_C(E_C^{GGA} - E_C^{LDA}) \quad (8)$$

Les indices  $X$  et  $C$  désignent respectivement l'énergie d'échange et de corrélation.

Cette méthode présente quelques limitations telles que:

- La sous-estimation des hauteurs de barrières énergétiques.
- Elle ne prend pas en considération les interactions non-covalentes (incapable de décrire des liaisons de van der Waals pour des composés liés par des interactions).

Malgré ces inconvénients, cette méthode reste relativement efficace et la base de calculs pour la plupart des composés chimiques.

#### II-6-4- Fonctions de bases

Les fonctions d'onde artificielles utilisées dans Kohn-Sham DFT sont représentées comme un ensemble d'orbitales moléculaires de Kohn-Sham, chacune de ces orbitales est une combinaison linéaire des fonctions de base,  $\chi(r)$ :

$$\Psi_i(r) = \sum_{v=1}^k c_{vi} X_v(r) \quad (10)$$

Avec :

$v$  : est l'indice des fonctions de base.

$K$  : est le nombre total de fonctions de base.

$c_{vi}$  : est un coefficient qui représente la contribution de chaque orbitale atomique de base dans l'orbitale moléculaire. Ce sont des coefficients ajustés lors de l'optimisation de la fonction d'onde pour la minimisation de l'énergie électronique. Les fonctions de base elles-mêmes restent inchangées.

On peut représenter les différentes formes de fonctions de base Slater et Gaussiennes sous n'importe quelle forme mathématique, mais certaines formes sont plus populaires que d'autres. Voici quelques exemples de bases classiquement utilisées :

- **La base 6-31G** : Où les orbitales de cœurs sont représentées par une contraction de 6 primitives gaussiennes, tandis que les électrons de valence sont représentés à l'aide de deux fonctions de base différentes (base double zêta), l'une étant une fonction gaussienne simple et l'autre étant une fonction gaussienne qui découle de la contraction de trois gaussiennes, avec « zêta » est le nombre de chiffres de chaque terme.
- **La base 6-311G** : est un jeu de base de valence triple zêta. Les ensembles mono-zêta sont rarement utilisés car leur précision est assez faible et ne convient que pour des calculs qualitatifs rapides.

Deux autres types de fonctions permettant une meilleure représentation des hétéroatomes, des systèmes chargés ou radicalaires sont ajoutées à ces bases :

#### a) Fonction de polarisation

La fonction de polarisation décrit la modification de la densité électronique autour d'un noyau en ajustant la forme des orbitales atomiques. Cela se fait en ajoutant des orbitales de type  $\pi$ - $\pi$  pour l'hydrogène, dd pour le carbone, etc. Ces orbitales de polarisation sont notées avec un (\*) à la base correspondante.

#### b) Fonction diffuse

Les orbitales diffuses décrivent la densité électronique à longue distance du noyau, surtout pour les atomes chargés ou radicalaires. Elles sont obtenues en ajoutant une orbitale de même type, mais avec un nombre quantique principal plus élevé. Pour

indiquer l'ajout des orbitales diffuses, nous rajouterons un ++ à la base considérée.

Parmi ces bases, on trouve :

- **La base 6-31+G** : orbitales diffuses ajoutées sur les atomes lourds.
- **La base 6-31++G** : ajout supplémentaire sur les atomes d'hydrogène.

## II.7- Théorie de la fonctionnelle de la densité dépendante du temps (TD-DFT)

Les propriétés des états excités notamment les énergies d'excitation, présentent un intérêt considérable, et plusieurs approches ont été proposées par Kohn et Sham [13]. Cependant, ces méthodes manquent de bases théoriques solides, mais fournissent des énergies d'excitation calculées pour des molécules relativement grosses.

Une autre approche tout à fait différente basée sur la DFT en fonction du temps (TD-DFT) [24,25], a été proposée par Runge et Gross depuis plus de 30 ans, est devenue prometteuse pour le calcul des énergies d'excitation. C'est une extension de DFT ayant des bases conceptuelles et informatiques analogues. Elle est basée sur les propriétés de l'état fondamental, à savoir les énergies orbitales.

Aujourd'hui, la méthode TD-DFT prend de l'ampleur dans le domaine du calcul de diverses propriétés, en particulier les spectres d'absorption UV-Visible. Les énergies d'excitation par TD-DFT peuvent être calculées avec une précision de 0,1 eV mais la valeur réelle dépend de manière significative du système et du type d'excitation considéré.

## II.8- Orbital Frontières moléculaires (FMO)

Le calcul FMO permet d'expliquer la réactivité chimique des molécules et de prédire leurs activités biologiques [26]. L'interaction entre HOMO et LUMO est un facteur important dans la définition des interactions chimiques quantiques. Leur mécanisme d'action est connu en DFT sous le nom de transfert de charge d'électrons. Plus l'écart entre ces orbitales frontières ( $\Delta E = E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}}$ ) est grand, plus la réactivité diminue. Les molécules à grand écart sont plus stables que les molécules à petit écart, ces dernières sont généralement plus polarisables [27].

## II.9- Les descripteurs globaux de réactivité

La théorie des orbitales frontières (FMO) [28,29] et le principe HSAB (Hard and Soft Acides and Bases) [30] permettent de comprendre la réactivité et la sélectivité de certains systèmes chimiques. Divers indices tels que l'affinité électronique (A), le potentiel d'ionisation (I),

l'électronégativité ( $\chi$ ), le potentiel chimique ( $\mu$ ), la dureté chimique ( $\eta$ ), la douceur chimique (S) et l'indice d'électrophilicité ( $\omega$ ) sont connus comme les descripteurs de réactivité globaux. Dans ce travail, ces indices ont été évalués pour une série des molécules, leurs valeurs sont calculées à partir des énergies des orbitales moléculaires frontières (HOMO et LUMO).

Selon le théorème de Koopmans [31], le potentiel d'ionisation (I) est défini comme étant l'énergie nécessaire pour arracher un électron d'une molécule, il peut être donné par l'équation suivante [32]:

$$I = -E_{HOMO} \quad (11)$$

L'affinité électronique (A) est définie comme l'énergie libérée à la suite de la capture d'un électron [32], elle peut être donnée par l'équation suivante :

$$A = -E_{LUMO} \quad (12)$$

L'indice d'électronégativité ( $\chi$ ), le potentiel chimique ( $\mu$ ) sont définis comme suit [33,34] :

$$\chi = -\mu = -1/2 (E_{LUMO} + E_{HOMO}) \quad (13)$$

$$\mu = 1/2 (E_{LUMO} + E_{HOMO}) \quad (14)$$

La dureté chimique ( $\eta$ ), qui reflète la stabilité et la réactivité d'un système chimique peut être calculée comme :

$$\eta = 1/2 (E_{LUMO} - E_{HOMO}) \quad (15)$$

La douceur chimique (S) exprime l'étendue de la diffusion du nuage électronique dans un système moléculaire (l'inverse de la dureté globale ( $\eta$ )), elle est définie par:

$$S = 1/\eta \quad (16)$$

L'indice d'électrophilicité globale ( $\omega$ ) introduit par Parr et al est donné comme suit :

$$\omega = \mu^2 / 2\eta \quad (17)$$

## II-10- Docking moléculaire (Amarrage)

Le Docking (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire) est une technique informatique de calcul dont le but est de prédire l'affinité et les interactions possibles entre deux molécules : un ligand (substrats, activateurs ou inhibiteurs) et les acides aminés qui composent la structure protéique (protéine cible ou récepteur). Le Docking permet la régulation de certains processus biologiques ainsi que la transmission de signaux ou la catalyse de diverses réactions biochimiques, il est facile à mettre en œuvre et rapide par rapport aux méthodes expérimentales. Dans le domaine de la chimie théorique, il est défini comme une méthode de prédiction de la conformation la plus favorable (position relative et orientation) de deux molécules en interaction en formant un complexe stable. La connaissance de cette conformation préférentielle permet alors d'estimer la force de liaison ou l'affinité de la liaison (binding affinity) entre ces deux structures. Cependant, chaque programme d'amarrage diffère des autres dans son algorithme d'échantillonnage, la façon dont il gère la flexibilité des ligands et des protéines, et sa fonction d'évaluation complexe [35].

### II-10-1- Outils du Docking moléculaire

#### a. Le récepteur

La première approche majeure de l'étude et de la conception de molécules biologiquement actives par modélisation moléculaire est celle basée sur la structure des récepteurs. Cela est basé sur l'exploitation de la structure moléculaire tridimensionnelle de la protéine cible. Le PDB (Protein Data Bank) (<http://www.rcsb.org/pdb/>) est la base de référence mondiale d'informations sur la structure tridimensionnelle des protéines et des acides nucléiques. Ces molécules proviennent de tous les règnes biologiques.

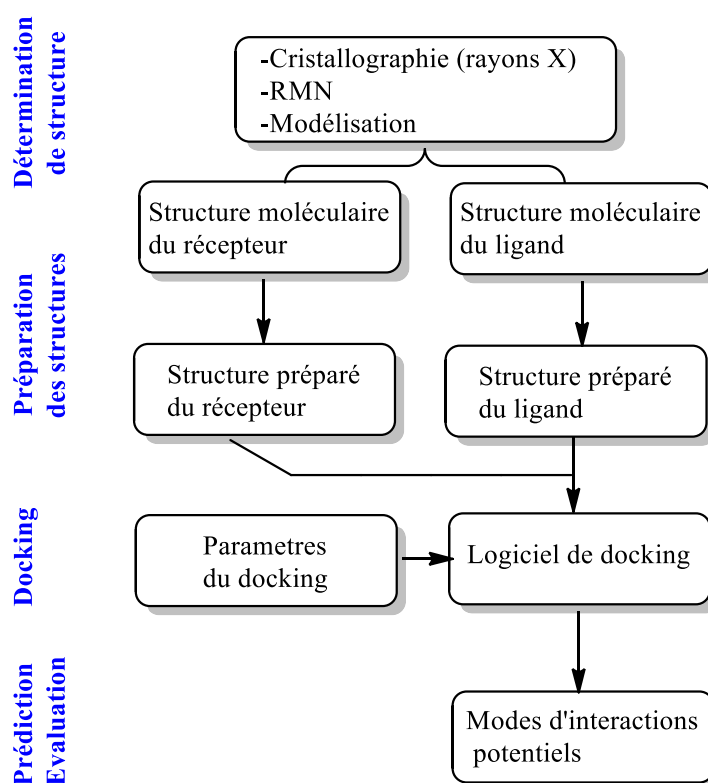
#### b. Le ligand

Dans le Docking moléculaire, la sélection des ligands est une étape très importante. Ce choix doit être pertinent car la spécificité du site actif cible évite les tests moléculaires inutiles, ce donneur doit également être sous forme 3D. Actuellement, il existe deux façons d'obtenir la structure chimique d'un ligand donné : La première est au niveau de la base de données de structures chimiques appelées bibliothèques chimiques ou espaces chimiques. La deuxième approche consiste à utiliser des ligands issus de la PDB ou de la littérature, qui peuvent être construits à l'aide de logiciels de construction moléculaire tels que Arguslab, ChemDraw, Titan ou Sybil...etc.

## II-10-2- Processus du Docking

La procédure générale du Docking moléculaire (**Schéma II.1**) comprend essentiellement deux étapes complémentaires :

- **Le Docking** proprement dit est l'étape de sélection, consiste à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- **Le scoring** (ou fonction de score) est l'étape de classement qui permet d'évaluer ces conformations par un calcul rapide de leur énergie d'interaction entre le ligand et la protéine, c.à.d. donner un score aux conformations obtenues lors du Docking. Ce score permettra de retenir la meilleure conformation parmi toutes celles proposées.



**Schéma II.1** : Etapes typiques d'un Docking moléculaire

L'étude par docking moléculaire a été réalisée à l'aide du logiciel AutoDock Vina 4.2 (Trott et Olson, 2010), avec l'interface graphique MGLTools 1.5.7. Cette approche a permis de prédire les

modes de liaison préférentiels et les affinités de liaison entre les composés étudiés et leurs protéines cibles.

Pour déterminer comment les molécules isolées interagissent avec les enzymes cibles. Nos molécules, ainsi que des molécules de référence (Amastatine et Actinonine), ont été optimisées et converties au format PDB à l'aide de l'outil Open Babel GUI. Les structures cibles ont été obtenues à partir de la base de données RSC Protein Data Base (<https://www.rcsb.org/>). Les erreurs sont résolues et les sites actifs probables des protéines sont prédits à l'aide du logiciel Molegro Virtual Docker (MVD 7.0). La meilleure conformation ancrée avec l'énergie minimisée est analysée et les interactions Protéine-ligand sont visualisées à l'aide de Discovery Studio Visualizer 2021 (BIOVIA).

## II-11- Etude *in silico*

### II-11-1- Plateforme Molinspiration

Les composés principaux ont été évalués à l'aide du serveur en ligne [Molinspiration](https://www.molinspiration.com/) (<https://www.molinspiration.com/>) pour estimer leurs descripteurs moléculaires et leurs propriétés de similarité avec les médicaments (*drug-likeness*). Les propriétés moléculaires estimées comprenaient :

- Le LogP : représente la lipophilicité d'une molécule, c'est-à-dire sa capacité à se dissoudre dans des solvants organiques ou aqueux
- La TPSA (Surface topologique polaire) : c'est la surface polaire d'une molécule liée à sa capacité à former des liaisons hydrogène.
- HBD (Hydrogen Bond Donors) (nombre de donneurs de liaisons hydrogène) : indique le nombre de groupes capables de donner une liaison hydrogène (comme les groupes hydroxyles ou amines).
- HBA (Hydrogen Bond Acceptors) (nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène) : représente le nombre de groupes capables d'accepter une liaison hydrogène .

De plus, la propriété de similarité avec les médicaments de chaque composé a été analysée en fonction du potentiel des composés en tant que :

- Récepteurs couplés aux protéines G ligands des GPCR (Récepteurs couplés aux protéines G) : Ces récepteurs sont impliqués dans de nombreuses voies de signalisation cellulaire. Les ligands GPCR sont essentiels pour la transmission de signaux dans le corps.

- Modulateurs de canaux ioniques (ICM) : ces composés affectent le transport des ions à travers les membranes cellulaires, un mécanisme critique dans la régulation du potentiel membranaire et des fonctions cellulaires.
- Inhibiteurs de kinases KI : Les kinases sont des enzymes cruciales dans les processus de phosphorylation des protéines, qui sont impliqués dans la signalisation cellulaire et la régulation de nombreuses fonctions biologiques.
- Ligands des récepteurs nucléaires NRL : Les récepteurs nucléaires régulent la transcription des gènes en réponse aux hormones et autres molécules.
- Inhibiteurs de protéases PI : Les inhibiteurs de protéases empêchent la dégradation des protéines, un mécanisme clé dans certaines maladies comme les infections virales ou les cancers.
- Inhibiteurs d'enzymatiques EI : Les enzymes jouent un rôle fondamental dans toutes les réactions biochimiques, et les inhibiteurs enzymatiques

### II-11-2- Propriétés pharmacocinétiques

La plateforme pkCSM (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm>) est un système d'apprentissage automatique qui prédit les propriétés pharmacocinétiques des petits composés en utilisant des signatures basées sur des graphes. L'application comprend 28 modèles de régression et de classification bien entraînés et validés, couvrant un large éventail de descripteurs ADMET issus de divers ensembles de données expérimentales. Ces descripteurs incluent des métriques importantes telles que la perméabilité CaCo-2, la solubilité dans l'eau, l'absorption intestinale chez l'humain, et les substrats/inhibiteurs de la P-glycoprotéine. De plus, des caractéristiques liées à la distribution, comme le volume de distribution humain et la perméabilité de la Barrière Hémato-Encéphalique (BHE), sont également incluses.

Le serveur pkCSM évalue également les caractéristiques métaboliques en utilisant des modèles qui analysent les caractéristiques des substrats et l'inhibition du cytochrome, tandis que des modèles pour le substrat OCT2 rénal et la clairance totale sont utilisés pour prendre en compte l'excrétion. En outre, une variété de points de fin, tels que la DL50 chez le rat, la toxicité AMES, la sensibilisation cutanée et la toxicité chez le poisson, sont couverts par les prédictions de toxicité [36].

### II-11-3- SwissADME

Le site web swissADME (<http://www.swissadme.ch/>) [37] soutient le développement de médicaments en calculant les caractéristiques physiques, les qualités pharmacocinétiques, la nature de similarité avec les médicaments et l'aptitude en chimie médicamenteuse des composés principaux isoquercétine, 3-méthoxyquercétine et quercétine.

### II-11-4- ProTox III

Une étape essentielle dans la création de nouveaux médicaments est la prédiction de la toxicité des composés. En plus d'être plus rapide que la détermination des doses létales chez les animaux, les prédictions de toxicité computationnelles peuvent également contribuer à réduire le nombre de tests sur animaux réalisés. En conséquence, le serveur en ligne ProTox III de Drwal et al (<https://comptox.charite.de/protox3/>) [38] un laboratoire virtuel pour estimer les toxicités des petits composés, a été utilisé pour l'investigation toxicologique *in silico* des composés isolés. Les prédictions incluent : l'hépatotoxicité, la neurotoxicité, la néphrotoxicité, la toxicité respiratoire, la cardiotoxicité, la cancérogénicité, l'immunotoxicité, la mutagénicité, la cytotoxicité, la barrière hémato-encéphalique (BHE), l'écotoxicité, la toxicité clinique, la toxicité nutritionnelle, le récepteur des hydrocarbures aromatiques (AhR), le récepteur des androgènes (AR), le domaine de liaison du récepteur des androgènes (AR-LBD), l'aromatase, le récepteur alpha des œstrogènes (ER), le domaine de liaison du récepteur des œstrogènes (ER-LBD), le récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes gamma (PPAR-Gamma), le facteur nucléaire (érythroïde dérivé 2)-like 2/élément de réponse antioxydant (nrf2/ARE), l'élément de réponse du facteur de choc thermique (HSE), le potentiel de membrane mitochondriale (MMP), la phosphoprotéine (suppresseur de tumeur) p53, la protéine de domaine AAA de la famille ATPase (ATAD5), le récepteur des hormones thyroïdiennes alpha (THR $\alpha$ ), le récepteur des hormones thyroïdiennes beta (THR $\beta$ ), la transthyretine (TTR), le récepteur à la ryanodine (RYR), le récepteur GABA (GABAR), le récepteur au glutamate N-méthyl-D-aspartate (NMDAR), le récepteur alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionate (AMPA), le récepteur au kainate (KAR), l'acétylcholinestérase (AChE), le récepteur androstane constitutif (CAR), le récepteur PXR (Pregnane X), la NADH-quinone oxydoréductase (NADHOX), le canal sodique voltage-dépendant (VGSC), le symport Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> (NIS), le cytochrome CYP1A2, le cytochrome CYP2C19, le cytochrome CYP2C9, le cytochrome CYP2D6, le cytochrome CYP3A4 et le cytochrome CYP2E1.

### II-11-5- PASS Online server (Way2Drug)

Le site web PASS Online (<https://www.way2drug.com/passonline/>) prédit plus de 4000 types différents d'activité biologique, y compris celles liées à la pharmacologie, les modes d'action, les effets toxiques et indésirables, les interactions avec les enzymes métaboliques et les transporteurs, ainsi que l'influence sur l'expression génique.

### II-11-6- Simulations de dynamique moléculaire (MD)

L'analyse de docking moléculaire a été réalisée sur les composés principaux et le médicament de référence (Actinonine) pour évaluer leur ajustement dans la cavité active de la protéine aminopeptidase humaine N (hAPN/CD13) (PDB ID : 4FYT). Par la suite, des simulations MD ont été effectuées en utilisant le package Amber 22 [39]. Les paramètres des ligands ont été générés à l'aide du module Antechamber et du champ de force général Amber (GAFF) [40]. Les charges atomiques du ligand ont été déterminées en utilisant le protocole de potentiel électrostatique restreint (RESP) avec la base de données B3LYP/6-311G++(2d, 2p) [41]. Pour les simulations MD, le champ de force 14SB a été utilisé [42,43] et des ions Na<sup>+</sup> de contre-ion et une boîte d'eau TIP3P [43,44] ont été ajoutés pour simuler la concentration saline physiologique et neutraliser le système. Le programme Sander. MPI a été utilisé pour la minimisation de l'énergie, tandis que PMEMD. CUDA a été utilisé pour le chauffage, l'équilibrage et les simulations MD. Après l'équilibrage, les simulations MD ont été effectuées à une température constante de 310 K et une pression de 1 atm. Enfin, les trajectoires MD [45] de tous les systèmes ont été analysées pour obtenir le RMSD, la décomposition de l'énergie et l'analyse des principales composantes (PCA).

### II-11-7- Analyse MM/GBSA (Mécanique Moléculaire/Surface Born Généralisée)

L'affinité de liaison des complexes protéine-ligand sélectionnés a été calculée en utilisant le module Prime MMGBSA du protocole MM/GBSA décrit par Rodriguez et al [46]. Cette méthode a impliqué le traitement des complexes moléculaires dockés à partir des trajectoires de simulation MD de 100 ns en supprimant les molécules d'eau explicites TIP4P et les ions, comme rapporté par Mena-Ulecia et al [47]. Après traitement, l'énergie libre nette de liaison ( $\Delta G$ ) pour chaque complexe protéine-ligand a été calculée en utilisant l'équation (18) :

$$\Delta G_{\text{MMGBSA bind}} = \Delta G_{\text{complex (minimisé)}} - (\Delta G_{\text{ligand (minimisé)}} + \Delta G_{\text{récepteur (minimisé)}}) \quad (18)$$

Où :  $\Delta G_{\text{MMGBSA bind}}$  représente l'énergie libre nette de liaison.

$\Delta G_{\text{complex}}$  représente l'énergie de liaison du complexe récepteur-ligand

$\Delta G_{\text{ligand}}$  et  $\Delta G_{\text{récepteur}}$  représentent respectivement l'énergie pour le ligand et le récepteur.

### II-11-8- Analyse en Composantes Principales (ACP)

En simulations de dynamique moléculaire (MD), l'ACP (Analyse en Composantes Principales) est une technique puissante pour analyser et interpréter l'espace conformationnel exploré par le système. Avant de réaliser l'analyse en composantes principales (ACP) sur les trajectoires de dynamique moléculaire (MD), les trajectoires MD de 100 nanosecondes des complexes de type sauvage et mutants ont subi un traitement de suppression des solvants et des ions à l'aide du module CPPTRAJ implémenté dans AMBER 22. Le calcul de l'ACP a été effectué en utilisant les trajectoires alignées par rapport à la structure entièrement minimisée. L'ACP est utilisée pour réduire la dimensionnalité des ensembles de données complexes obtenues à partir des simulations MD et pour identifier les principaux motifs ou tendances dans les données.

---

## Références Bibliographiques

- [1] N. Zegheb, Etude par la modélisation moléculaire, analyse in vitro et in silico de l'activité anticancer du sein de quelques N-ferrocénylméthylanilines, (2022).
- [2] D.E. Mostaganem, N. Benhalima, DIPLOME DE DOCTORAT 3 EME CYCLE, (2017). <http://e-biblio.univ-mosta.dz/bitstream/handle/123456789/964/CD50.pdf> (accessed April 28, 2025).
- [3] Julien Diharce, Étude par modélisation moléculaire de systèmes multi enzymatiques impliqués dans la biosynthèse des flavonoïdes , Iversité Nice Sophia Antipolis, (2014).
- [4] Y. ROUAHNA, Étude multivariée de plusieurs séries de composés hétérocycliques à intérêt thérapeutique., (2016). <http://thesis.univ-biskra.dz/2414/> (accessed April 28, 2025).
- [5] E. Schrödinger, Quantisierung als Eigenwertproblem, Ann Phys 386 (1926) 109–139. <https://doi.org/10.1002/ANDP.19263861802>.
- [6] D. Ribeiro dos Santos, Study of fireflies' bioluminescence emission via MD simulations and QM/MM calculations, (2020) 255. <https://doi.org/10.34894/VQ1DJA>.
- [7] H. AYACHI, Compréhension du mécanisme enzyme-substrat par modélisation moléculaire, (n.d.).
- [8] T. Driant, On the role of protons in the reactivation of acetylcholinesterase : quantum and molecular mechanics studies, (2017). <https://doi.org/10.34894/VQ1DJA>.
- [9] M. BORN, R. OPPENHEIMER, ON THE QUANTUM THEORY OF MOLECULES, (2000) 1–24. [https://doi.org/10.1142/9789812795762\\_0001](https://doi.org/10.1142/9789812795762_0001).
- [10] M. Born, R. Oppenheimer, Zur Quantentheorie der Molekeln, Ann Phys 389 (1927) 457–484. <https://doi.org/10.1002/ANDP.19273892002>.
- [11] M. BORN, R. OPPENHEIMER, ON THE QUANTUM THEORY OF MOLECULES, (2000) 1–24. [https://doi.org/10.1142/9789812795762\\_0001](https://doi.org/10.1142/9789812795762_0001).

- 
- [12] K. Burke, J.P. Perdew, Y. Wang, Derivation of a Generalized Gradient Approximation: The PW91 Density Functional, *Electronic Density Functional Theory* (1998) 81–111. [https://doi.org/10.1007/978-1-4899-0316-7\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-0316-7_7).
- [13] A.D. Becke, Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior, *Phys Rev A (Coll Park)* 38 (1988) 3098–3100. <https://doi.org/10.1103/PHYSREVA.38.3098>.
- [14] J.P. Perdew, K. Burke, Generalized gradient approximation for the exchange-correlation hole of a many-electron system, *Phys Rev B* 54 (1996) 16533. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.54.16533>.
- [15] C. Adamo, V.B.-T.J. of chemical physics, undefined 1998, Exchange functionals with improved long-range behavior and adiabatic connection methods without adjustable parameters: The and models, *Pubs.Aip.Org* (1998). <https://pubs.aip.org/aip/jcp/article-abstract/108/2/664/182704> (accessed April 28, 2025).
- [16] A.D. Becke, Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior, *Phys Rev A (Coll Park)* 38 (1988) 3098–3100. <https://doi.org/10.1103/PHYSREVA.38.3098>.
- [17] J.P. Perdew, W. Yue, Accurate and simple density functional for the electronic exchange energy: Generalized gradient approximation, *Phys Rev B* 33 (1986) 8800. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.33.8800>.
- [18] J.P. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, Generalized gradient approximation made simple, *Phys Rev Lett* 77 (1996) 3865–3868. <https://doi.org/10.1103/PHYSREVLETT.77.3865>.
- [19] L.A. Curtiss, K. Raghavachari, P.C. Redfern, J.A. Pople, Assessment of Gaussian-2 and density functional theories for the computation of enthalpies of formation, *J Chem Phys* 106 (1997) 1063–1079. <https://doi.org/10.1063/1.473182>.
- [20] S. Kohara, A. Goldbach, N. Koura, M.L. Saboungi, L.A. Curtiss, Vibrational frequencies of small selenium molecules, *Chem Phys Lett* 287 (1998) 282–288. [https://doi.org/10.1016/S0009-2614\(98\)00184-5](https://doi.org/10.1016/S0009-2614(98)00184-5).
-

- 
- [21] R.A. Friesner, M.D. Beachy, Quantum mechanical calculations on biological systems, *Curr Opin Struct Biol* 8 (1998) 257–262. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(98\)80048-1](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(98)80048-1).
- [22] K. Kim, K.D. Jordan, Comparison of density functional and MP2 calculations on the water monomer and dimer, *Journal of Physical Chemistry* 98 (1994) 10089–10094. [https://doi.org/10.1021/J100091A024/ASSET/J100091A024.FP.PNG\\_V03](https://doi.org/10.1021/J100091A024/ASSET/J100091A024.FP.PNG_V03).
- [23] P.J. Stephens, F.J. Devlin, C.F. Chabalowski, M.J. Frisch, Ab Initio calculation of vibrational absorption and circular dichroism spectra using density functional force fields, *Journal of Physical Chemistry®* 98 (1994) 11623–11627. [https://doi.org/10.1021/J100096A001/ASSET/J100096A001.FP.PNG\\_V03](https://doi.org/10.1021/J100096A001/ASSET/J100096A001.FP.PNG_V03).
- [24] G. Scalmani, M.J. Frisch, B. Mennucci, J. Tomasi, R. Cammi, V. Barone, Geometries and properties of excited states in the gas phase and in solution: Theory and application of a time-dependent density functional theory polarizable continuum model, *Journal of Chemical Physics* 124 (2006). <https://doi.org/10.1063/1.2173258/186201>.
- [25] M.E. Casida, Time-dependent density-functional theory for molecules and molecular solids, *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 914 (2009) 3–18. <https://doi.org/10.1016/J.THEOCHEM.2009.08.018>.
- [26] V.K. Choudhary, A.K. Bhatt, D. Dash, N. Sharma, DFT calculations on molecular structures, HOMO–LUMO study, reactivity descriptors and spectral analyses of newly synthesized diorganotin(IV) 2-chloridophenylacetohydroxamate complexes, *J Comput Chem* 40 (2019) 2354–2363. <https://doi.org/10.1002/JCC.26012>.
- [27] Ayla Balaban Gündüzalp, Neslihan Özbek, Nurcan Karacan, Synthesis, characterization, and antibacterial activity of the ligands including thiophene/furan ring systems and their Cu(II), Zn(II) complexes, *Medicinal Chemistry Research* 21 (2012) 3435–3444.
- [28] K. Fukui, T. Yonezawa, H. Shingu, A Molecular Orbital Theory of Reactivity in Aromatic Hydrocarbons, *JChPh* 20 (1952) 722–725. <https://doi.org/10.1063/1.1700523>.
- [29] K. Fukui, T. Yonezawa, C. Nagata, H. Shingu, K. Fukui, T. Yonezawa, C. Nagata, H. Shingu, Molecular Orbital Theory of Orientation in Aromatic, Heteroaromatic, and
-

- 
- Other Conjugated Molecules, *JChPh* 22 (1954) 1433–1442.  
<https://doi.org/10.1063/1.1740412>.
- [30] R.G. Pearson, Hard and Soft Acids and Bases, *J Am Chem Soc* 85 (1963) 3533–3539.  
[https://doi.org/10.1021/JA00905A001/ASSET/JA00905A001.FP.PNG\\_V03](https://doi.org/10.1021/JA00905A001/ASSET/JA00905A001.FP.PNG_V03).
- [31] T. Koopmans, Über die Zuordnung von Wellenfunktionen und Eigenwerten zu den Einzelnen Elektronen Eines Atoms, *Physica* 1 (1934) 104–113.  
[https://doi.org/10.1016/S0031-8914\(34\)90011-2](https://doi.org/10.1016/S0031-8914(34)90011-2).
- [32] T. Ziegler, Approximate Density Functional Theory as a Practical Tool in Molecular Energetics and Dynamics, *Chem Rev* 91 (1991) 651–667.  
<https://doi.org/10.1021/CR00005A001>.
- [33] R.G. Parr, R.A. Donnelly, M. Levy, W.E. Palke, Electronegativity: The density functional viewpoint, *J Chem Phys* 68 (1978) 3801–3807.  
<https://doi.org/10.1063/1.436185>.
- [34] R.G. Parr, L. V. Szentpály, S. Liu, Electrophilicity Index, *J Am Chem Soc* 121 (1999) 1922–1924. <https://doi.org/10.1021/JA983494X>.
- [35] Y. Aimene, Synthèse et étude physico-chimique des complexes de rhénium(I) avec des ligands contenant le pharmacophore sulfonamide : Approche expérimentale et théorique, (2019). <https://dspace.univ-guelma.dz/jspui/handle/123456789/3672> (accessed June 29, 2025).
- [36] D.E.V. Pires, T.L. Blundell, D.B. Ascher, pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures, *J Med Chem* 58 (2015) 4066–4072.  
[https://doi.org/10.1021/ACS.JMEDCHEM.5B00104/SUPPL\\_FILE/JM5B00104\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/ACS.JMEDCHEM.5B00104/SUPPL_FILE/JM5B00104_SI_001.PDF).
- [37] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules, *Scientific Reports* 2017 7:1 7 (2017) 1–13.  
<https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- [38] M.N. Drwal, P. Banerjee, M. Dunkel, M.R. Wettig, R. Preissner, ProTox: a web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity, *Nucleic Acids Res* 42 (2014) W53–W58. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKU401>.
-

- 
- [39] D.A. Case, H.M. Aktulga, K. Belfon, D.S. Cerutti, G.A. Cisneros, V.W.D. Cruzeiro, N. Forouzes, T.J. Giese, A.W. Götz, H. Gohlke, S. Izadi, K. Kasavajhala, M.C. Kaymak, E. King, T. Kurtzman, T.S. Lee, P. Li, J. Liu, T. Luchko, R. Luo, M. Manathunga, M.R. Machado, H.M. Nguyen, K.A. O’Hearn, A. V. Onufriev, F. Pan, S. Pantano, R. Qi, A. Rahnamoun, A. Rishch, S. Schott-Verdugo, A. Shajan, J. Swails, J. Wang, H. Wei, X. Wu, Y. Wu, S. Zhang, S. Zhao, Q. Zhu, T.E. Cheatham, D.R. Roe, A. Roitberg, C. Simmerling, D.M. York, M.C. Nagan, K.M. Merz, AmberTools, *J Chem Inf Model* 63 (2023) 6183–6191.  
[https://doi.org/10.1021/ACS.JCIM.3C01153/ASSET/IMAGES/LARGE/CI3C01153\\_0002.JPEG](https://doi.org/10.1021/ACS.JCIM.3C01153/ASSET/IMAGES/LARGE/CI3C01153_0002.JPEG).
- [40] J. Wang, R.M. Wolf, J.W. Caldwell, P.A. Kollman, D.A. Case, Development and testing of a general amber force field, *J Comput Chem* 25 (2004) 1157–1174.  
<https://doi.org/10.1002/JCC.20035>.
- [41] W.D. Cornell, P. Cieplak, C.I. Bayly, P.A. Kollman, Application of RESP Charges To Calculate Conformational Energies, Hydrogen Bond Energies, and Free Energies of Solvation, *J Am Chem Soc* 115 (1993) 9620–9631.  
[https://doi.org/10.1021/JA00074A030/SUPPL\\_FILE/JA9620.PDF](https://doi.org/10.1021/JA00074A030/SUPPL_FILE/JA9620.PDF).
- [42] J.A. Maier, C. Martinez, K. Kasavajhala, L. Wickstrom, K.E. Hauser, C. Simmerling, ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from ff99SB, *J Chem Theory Comput* 11 (2015) 3696–3713.  
[https://doi.org/10.1021/ACS.JCTC.5B00255/SUPPL\\_FILE/CT5B00255\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/ACS.JCTC.5B00255/SUPPL_FILE/CT5B00255_SI_001.PDF).
- [43] D.J. Price, C.L. Brooks, A modified TIP3P water potential for simulation with Ewald summation, *J Chem Phys* 121 (2004) 10096–10103.  
<https://doi.org/10.1063/1.1808117>.
- [44] W.L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J.D. Madura, R.W. Impey, M.L. Klein, Comparison of simple potential functions for simulating liquid water, *J Chem Phys* 79 (1983) 926–935. <https://doi.org/10.1063/1.445869>.
- [45] D.R. Roe, T.E. Cheatham, PTRAJ and CPPTRAJ: Software for processing and analysis of molecular dynamics trajectory data, *J Chem Theory Comput* 9 (2013) 3084–3095.  
[https://doi.org/10.1021/CT400341P/SUPPL\\_FILE/CT400341P\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/CT400341P/SUPPL_FILE/CT400341P_SI_001.PDF).
-

- 
- [46] Y.A. Rodríguez, M. Gutiérrez, D. Ramírez, J. Alzate-Morales, C.C. Bernal, F.M. Güiza, A.R. Romero Bohórquez, Novel N-allyl/propargyl tetrahydroquinolines: Synthesis via Three-component Cationic Imino Diels–Alder Reaction, Binding Prediction, and Evaluation as Cholinesterase Inhibitors, *Chem Biol Drug Des* 88 (2016) 498–510. <https://doi.org/10.1111/CBDD.12773>.
- [47] K. Mena-Ulecia, W. Tiznado, J. Caballero, Study of the Differential Activity of Thrombin Inhibitors Using Docking, QSAR, Molecular Dynamics, and MM-GBSA, *PLoS One* 10 (2015) e0142774. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0142774>.

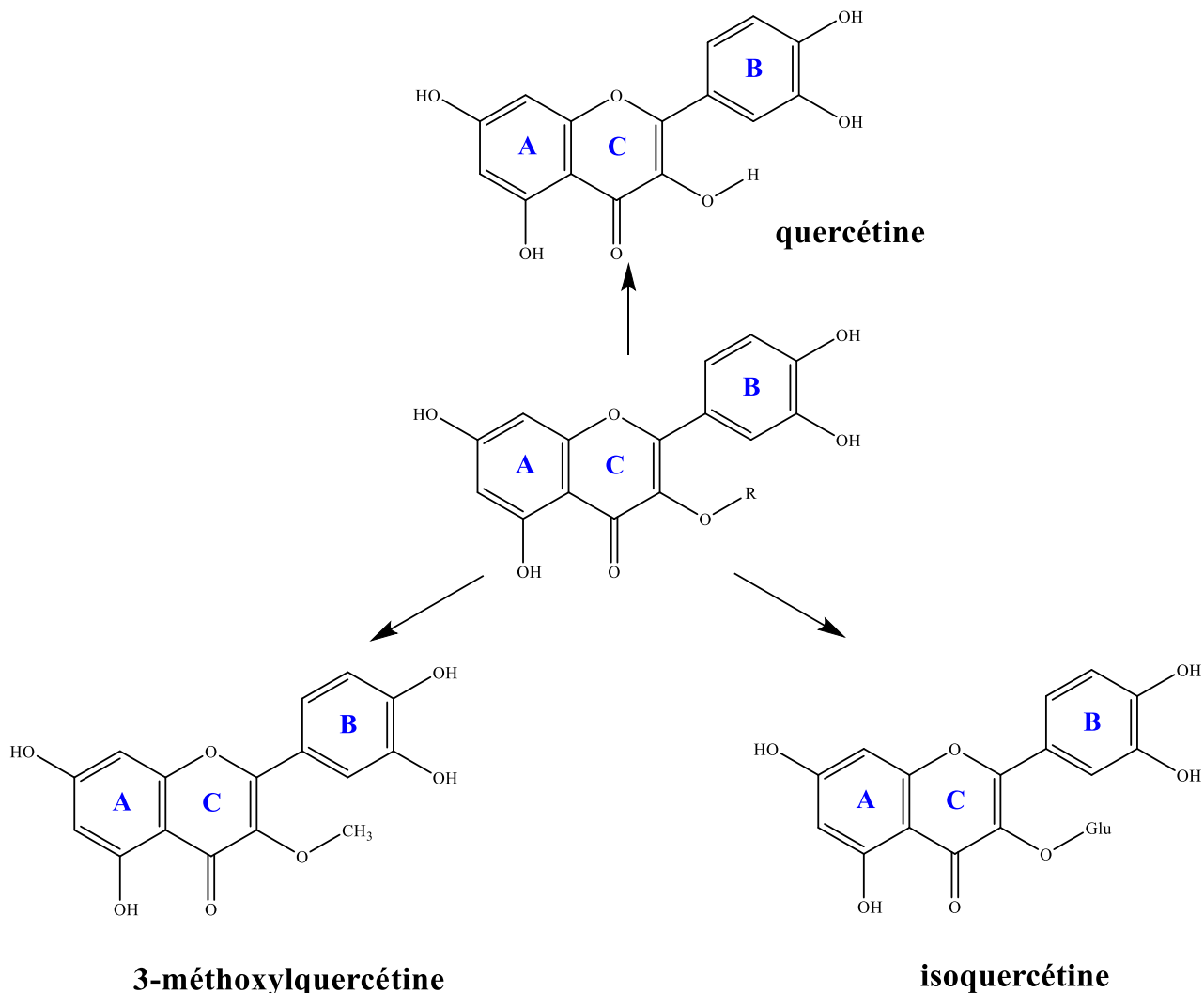
# *Chapitre III*

## *Caractérisation et étude des formes activées des flavonoïdes*

*Partie I : Etudes Structurales*

### III.1- Introduction

Les flavonoïdes présentent plusieurs fonctions hydroxyles susceptibles de réagir avec des espèces oxydantes, radicalaires et acido-basiques lors de processus chimiques et biochimiques [1]. Les molécules étudiées, à savoir « la quercétine, la 3-méthoxyquercétine et l'isoquercétine » possèdent quatre fonctions hydroxyles en position : C-5, C-7 dans le cycle A, ainsi qu'en C-4', C-5' dans le cycle B. De plus la quercétine possède également un cinquième groupe hydroxyle en position :C-3 [2] (**Figure III.1**).



**Figure III.1** : Structure des flavonoïdes étudiés

Ces fonctions hydroxyles sont susceptibles d'être déshydrogénées par la perte d'un radical libre (abstraction du radical  $H\cdot$ ), déprotonées ( $H^{\oplus}$ ), ou oxydées au cours des mécanismes biologiques. Le nombre relativement important de ces fonctions oxygénées existant est à l'origine d'un nombre important de différentes formes activées telles que des espèces semi quinones, quinones...etc [2].

Cette diversité de formes activées joue un rôle crucial dans la catalyse des réactions chimiques et biochimiques, influençant la réactivité et les interactions des flavonoïdes avec d'autres molécules

et systèmes biologiques. Par conséquent, les flavonoïdes peuvent participer à un large éventail de processus physiologiques et pathologiques, notamment dans la neutralisation des radicaux libres et la modulation de l'activité enzymatique.

## III-2-Structure électronique

### III-2-1- Les radicaux libres et mécanismes d'oxydation

Les radicaux libres (RL) sont des espèces chimiques, atomiques ou moléculaires, caractérisées par la présence d'un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. Cette configuration leur confère une grande instabilité à la fois énergétique et cinétique, les rendant extrêmement réactifs [3]. Ils se forment principalement lors de deux processus : la rupture homolytique d'une liaison covalente, ou via des réactions d'oxydoréduction impliquant un transfert d'électrons à partir de composés initialement non radicalaires [4].

Ce déséquilibre électronique est généralement transitoire et peut être stabilisé par l'acceptation ou le transfert d'un électron vers une autre molécule [2,4]. En raison de leur forte réactivité, impliqués les RL interviennent dans de nombreuses réactions chimiques et biologiques, jouant un rôle crucial dans divers processus cellulaires et pathologiques.

Les espèces pro-oxydantes comprennent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN) [5]. Parmi les ERO figurent des dérivés oxygénés radicalaires, comme le radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le radical hydroxyle ( $HO^{\bullet}$ ), et des espèces non radicalaires mais toxiques, telles que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Les ERN incluent le monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ) et l'ion peroxydrite ( $ONOO^-$ ). Bien que non radicalaires,  $H_2O_2$  et  $ONOO^-$  participent activement au stress oxydatif en endommageant les biomolécules (lipides, protéines, ADN) ou en générant des radicaux secondaires via des réactions chimiques. Leur toxicité s'explique par leur capacité à traverser les membranes biologiques ou à former des intermédiaires réactifs, comme le peroxydrite en présence de  $CO_2$  [6]. Les caractéristiques des principaux ERO sont regroupés dans le **Tableau III.1**

**Tableau III.1** : Caractéristiques des principaux ERO [7]

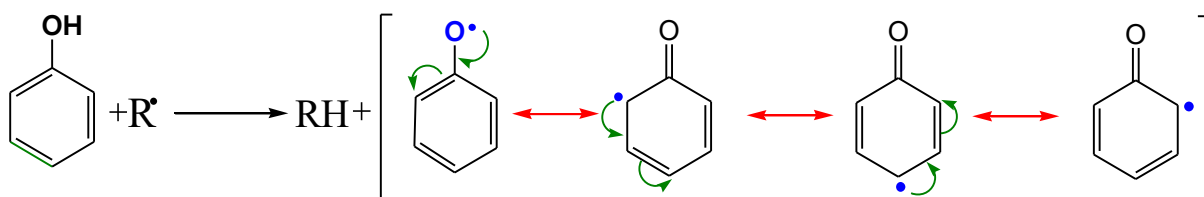
ERO	Structure chimique	Réactivité et origine
Anion Superoxyde	$O_2^{\bullet-}$	Produit dans les mitochondries et le système cardiovasculaire [8].
Radical hydroxyle	$OH^{\bullet}$	Très réactif, produit lors d'une surcharge en fer ou dans des conditions similaires pour l'organisme [9].

<b>Peroxyde d'hydrogène</b>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Formé à partir de nombreuses réactions, il conduit à des ERO puissants comme le radical hydroxyle [10].
<b>Radical peroxyde</b>	ROO <sup>•</sup>	Formé à partir des lipides, des protéines, de l'ADN, des sucres lors des dommages oxydatifs [11,12].
<b>Hydroperoxyde</b>	ROOH	Réagit avec les métaux de transition pour conduire à des espèces réactives [13].
<b>Oxygène singulet</b>	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Très réactif formé par la photosensibilisation et des réactions chimiques [14].

Nous présentons ci-après les trois principaux mécanismes oxydants dans les milieux biologiques :

**a) Transfert d'hydrogène (HAT - Hydrogen Atom Transfer):**

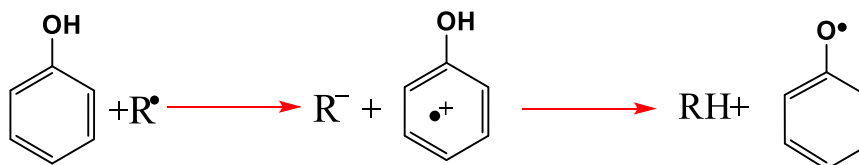
Dans ce mécanisme l'antioxydant phénolique agit avec le radical libre par transfert d'un atome d'hydrogène via la rupture homolytique de la liaison O-H [15].



**Figure III. 2 :** Mécanisme de transfert d'hydrogène de l'antioxydant phénolique

Le radical libre (R•) extrait un atome d'hydrogène du groupe hydroxyle (ROH), formant ainsi une molécule stable (RH) et un radical (RO•) moins réactif stabilisé par effet de résonance.

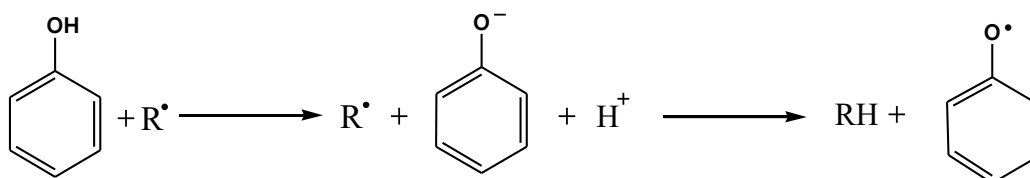
**b) Transfert électronique suivi d'une abstraction de proton (SET-PT - Single Electron Transfer followed by Proton Transfer) :**



**Figure III.3 :** Mécanisme de transfert électronique suivi d'une abstraction de proton de l'antioxydant phénolique

Dans ce cas, le radical libre ( $R^\bullet$ ) extrait d'abord un électron du groupe hydroxyle ( $ArOH$ ), formant ainsi un cation radical ( $ROH^{+\bullet}$ ) qui perd ensuite un proton ( $H^+$ ), conduisant à un radical phénoxy ( $ArO^\bullet$ ) [16,17].

**c) Transfert d'un proton suivi d'un électron (SPLET, Sequential Proton Loss Electron Transfer)**



**Figure III.4 :** Mécanisme de Transfert de proton suivi d'un transfert électronique de l'antioxydant phénolique

Ce mécanisme (SPLET) représente également un mécanisme de dissociation inhomogène [18,19].

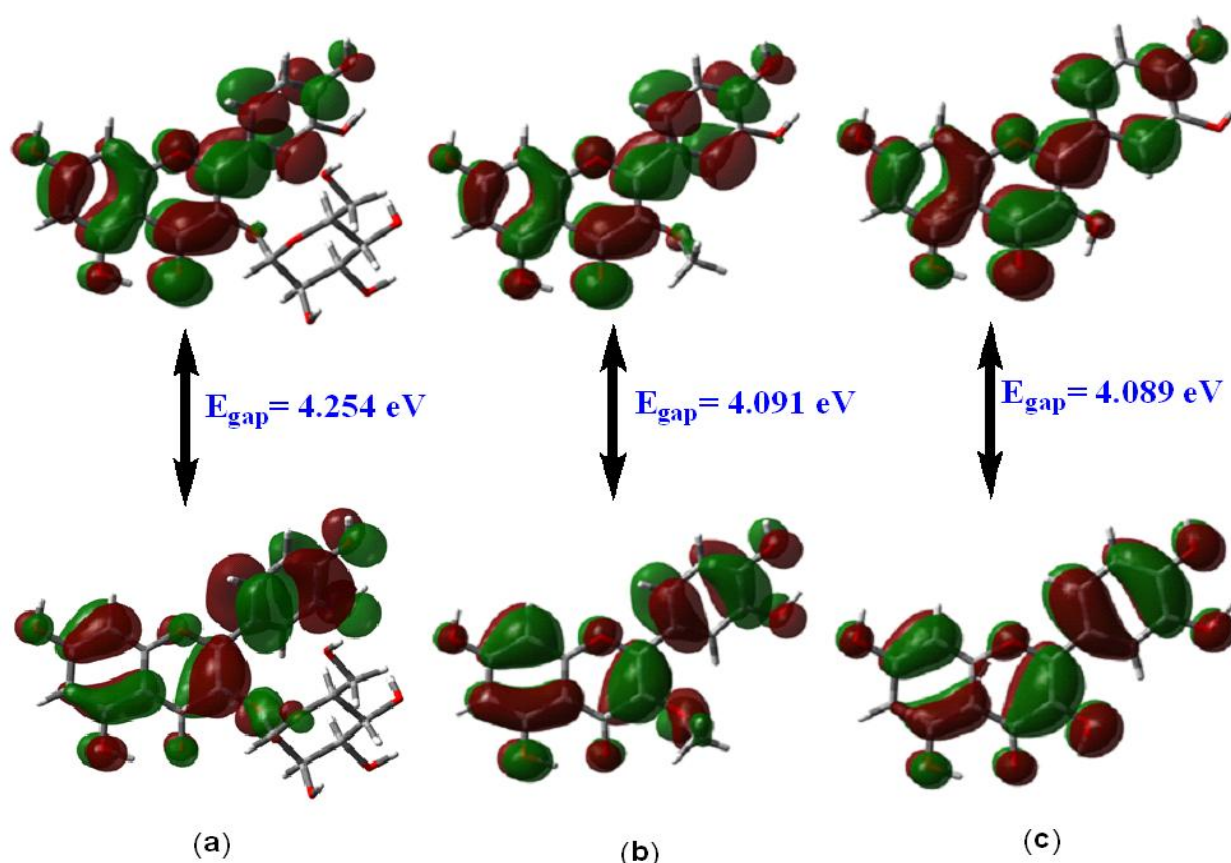
### III-2-2- Structure énergétique

La structure plane des flavonoïdes résulte de la conjugaison électronique entre les cycles A, B et C, rendue possible par la double liaison entre les atomes C2 et C3. Cette délocalisation du nuage électronique stabilise le flavonoïde, influençant ses propriétés chimiques et biologiques, notamment son activité antioxydante et sa capacité à interagir avec des cibles biologiques comme les enzymes ou les récepteurs [20]. Les liaisons hydrogènes intramoléculaires, notamment entre les groupements hydroxyles des cycles A et B et le groupement carbonyle du cycle C, jouent un rôle clé dans la stabilisation de la structure et dans la modulation des propriétés énergétiques de la molécule [21–23]. Contrairement à la rotation des groupements hydroxyles étudiée par Vasilescu [24], qui a peu d'effet, ces interactions influencent significativement les deux paramètres énergétiques essentiels pour l'évaluation du pouvoir. En effet, les flavonoïdes peuvent neutraliser les radicaux libres, en particulier, formant ainsi des radicaux phénoxy stables par deux mécanismes principaux : le transfert d'hydrogène (HAT) et le transfert électronique suivi d'une abstraction de proton (SET-PT). Les composés qui présentent des valeurs de BDE plus faible facilite la rupture homolytique de la liaison O–H, tandis qu'un IP bas favorise le transfert d'électron. Dans les deux cas, la stabilité du radical phénoxy ( $ArO^\bullet$ ) formé est déterminante pour éviter un comportement pro-oxydant. Le phénol est souvent utilisé comme référence en raison de son activité antioxydante bien documentée et anti-radicalaire. Ainsi, les composés aromatiques présentent des valeurs de BDE ou d'IP inférieures à celles du phénol sont considérés comme de meilleurs antioxydants vis-à-vis les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les radicaux libres [21,25]. L'identification de tels composés permet de prédire

leur efficacité à protéger contre le stress oxydatif avec des applications potentielles en pharmacologie, en nutrition ou en cosmétique.

### III-3-Analyse orbitalaire

Dans notre étude, nous avons utilisé la méthode DFT avec la fonctionnelle B3LYP pour déterminer les énergies des orbitales moléculaires frontières HOMO et LUMO ainsi que l'écart énergétique  $\Delta E_{(LUMO-HOMO)}$ . Ce paramètre est un indicateur de la capacité de la molécule à accepter ou à donner des électrons, influençant ainsi sa réactivité chimique et sa stabilité [26,27] (**Figure III.5**). Cette approche permet de mieux comprendre les propriétés électroniques spécifiques du flavonoïde, offrant des perspectives précieuses sur son comportement dans divers contextes biologiques et chimiques. Ces données sont essentielles pour orienter la conception de composés pharmacologiques ou nutraceutiques basés sur les flavonoïdes, en optimisant leurs activités antioxydantes et d'autres propriétés bénéfiques pour la santé [28,29].



**Figure III.5 :** Diagramme orbitalaire des orbitales LUMO et HOMO des molécules étudiées

L'analyse des orbitales frontières (HOMO et LUMO) des trois flavonoïdes, quercétine (Que), 3-méthoxyquercétine (Que-Me) et isoquercétine (Que-Iso), montre des différences dans leur réactivité électronique. La quercétine présente le plus faible écart énergétique ( $\Delta E = 4.089 \text{ eV}$ ), ce qui indique qu'elle peut donner ou capter un électron plus facilement. Ceci reflète une meilleure

réactivité chimique, et donc un potentiel antioxydant plus élevé. En revanche, Que-Me et Que-Iso possèdent des écarts légèrement plus grands (respectivement 4,091 eV et 4,254 eV), ce qui suggère une plus grande stabilité, mais moins de réactivité. La visualisation des orbitales montre que les électrons de l'orbitale HOMO sont localisés principalement sur la liaison C-2-C-3 de caractère liant, sur les atomes d'oxygène des fonctions hydroxyles en positions 5, 7, 4' et 5' ainsi que les liaisons C-C des cycles A et B. La configuration de cette orbitale frontière nous renseigne sur les sites réactifs de ces molécules et met en avant le rôle de ces motifs structuraux dans son activité antioxydante [30].

L'orbitale LUMO de caractère anti-liante, quant à elle, est délocalisée sur l'ensemble du squelette aromatique, indiquant une bonne capacité à accepter un électron. Ces résultats montrent que les modifications chimiques (la méthylation ou la glycosylation), influencent la distribution des électrons et l'efficacité antioxydante des molécules. Ainsi, la quercétine, avec son faible écart HOMO-LUMO, semble être la plus réactive des trois, ce qui renforce son intérêt en tant qu'antioxydant naturel. La plupart des études se sont appuyées sur l'analyse de la densité de spin, la variation des charges atomiques, qui entraîne une modification du moment dipolaire de la molécule, ainsi que sur la caractérisation de l'orbitale contenant un électron non apparié [31].

### III-4-Formes activées étudiées

Les formes fondamentales et les différentes formes activées des molécules étudiées sont présentées par la méthode DFT dans le **Figure III.6**.

La forme fondamentale (notée Que), la forme radicalaire (Quer) provenant de la molécule étudiée par perte d'un électron, ainsi que les formes déprotonées (DQue) et doublement déprotonées (DDQue) provenant par l'abstraction d'un ou de deux protons par des espèces chargées négativement comme  $\text{OH}^-$  ou par la chaîne latérale d'un acide aminé sont examinées [32,33]. Les formes semi-quinones (SQue) et quinones (OQue) qui résultent de l'abstraction d'un ou deux radicaux hydrogène  $\text{H}^\cdot$  se rencontrent dans les processus de capture des espèces réactives de l'oxygène ERO mais également dans les processus pro-oxydants dans le cas des flavonoïdes. En outre, Les formes semi-quinones déprotonée (SDQue) sont également des intermédiaires importants [34–36]. Cette représentation permet de visualiser comment les propriétés électroniques et structurales des flavonoïdes étudiés peuvent être modifiées sous l'influence de réactions chimiques ou biologiques spécifiques. Ces différentes formes peuvent avoir des effets significatifs sur leur activité biologique, y compris leurs effets antioxydants et leur interaction avec des cibles biologiques telles que les acides aminés dans les protéines [36].

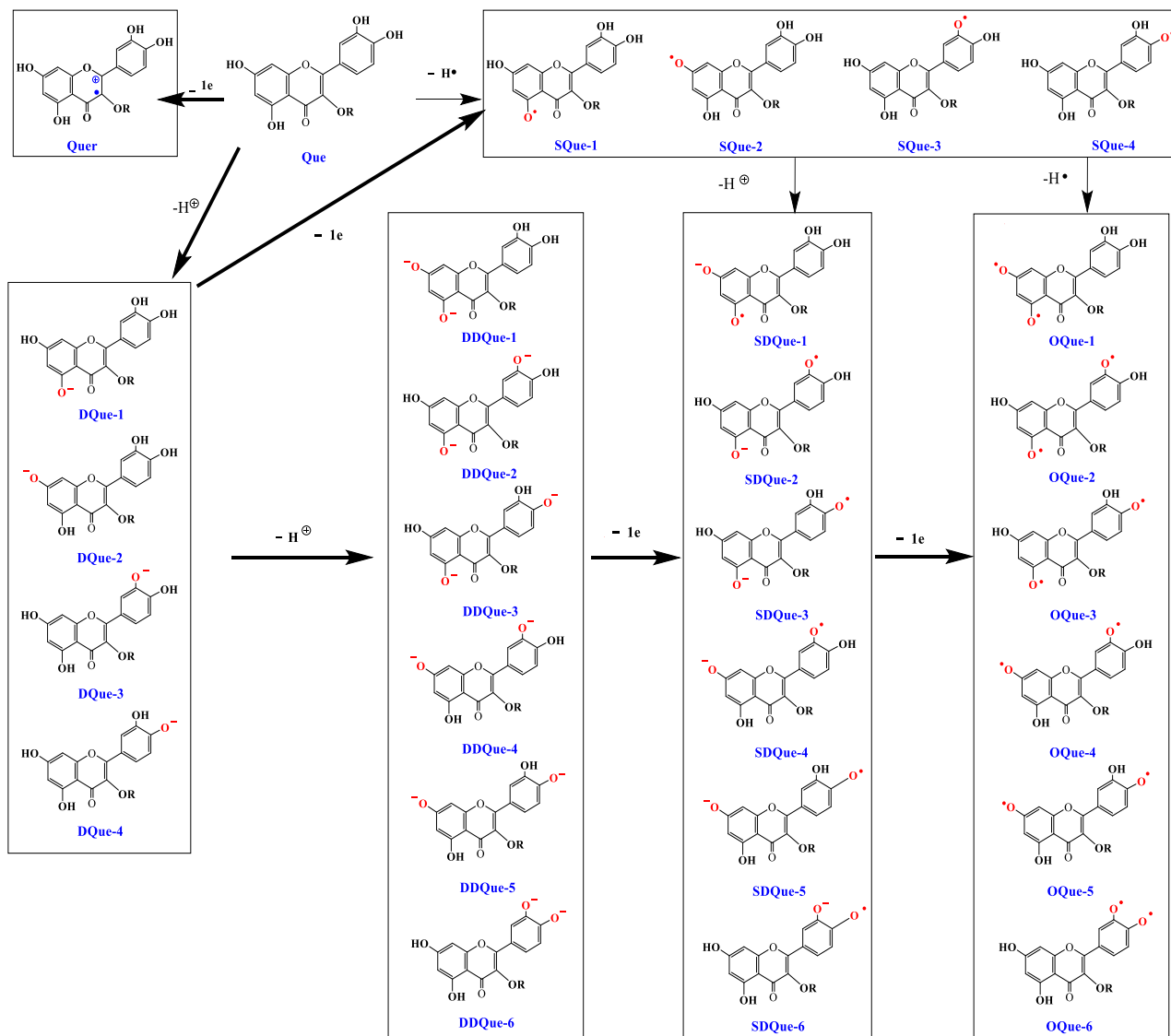


Figure III.6 : Formes activées des flavonoïdes étudiées

III-4-1- Autres espèces co-réactives étudiées

D'autres espèces co-réactives sont étudiées, impliquant les trois processus oxydatifs élémentaires :

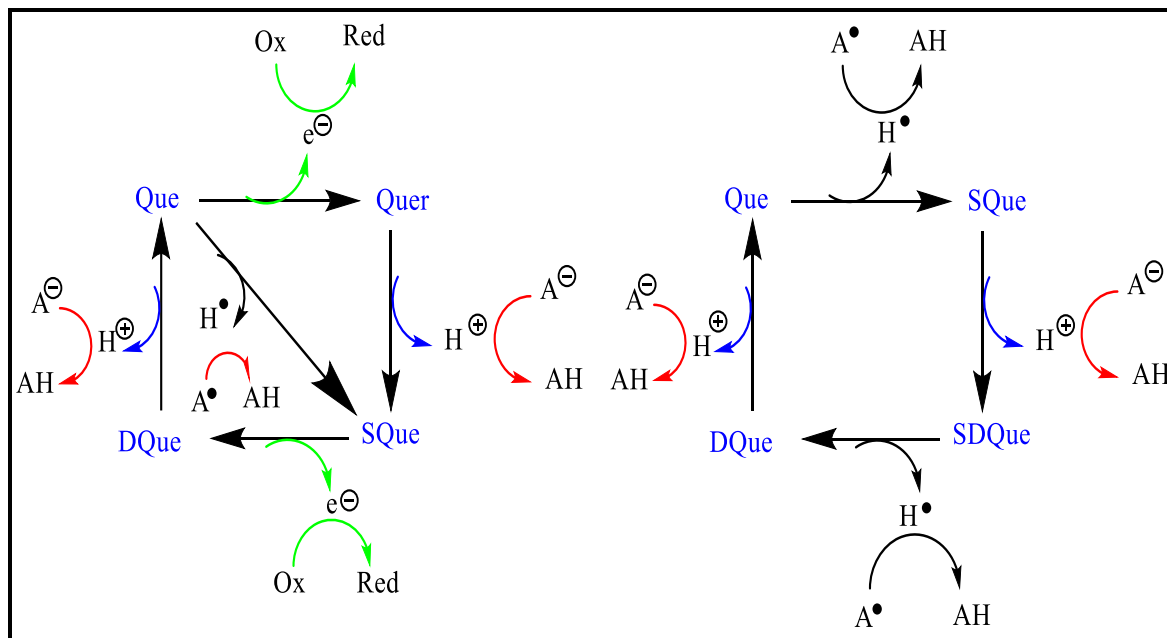
- Transferts d'électron
- Transferts de proton
- Transferts d'hydrogène

Ces processus sont sélectionnés en fonction des mécanismes détaillés dans le **Tableau III.2** qui répertorie les espèces co-réactives potentiellement impliquées dans la formation des formes activées du flavonoïde.

**Tableau III.2 :** Espèces co-réactives pouvant intervenir dans la formation des formes activées du flavonoïde

Transferts d'électron (+e <sup>-</sup> )	Transferts de proton (+H <sup>+</sup> )	Transferts d'hydrogène (+H•)
H <sup>+</sup> → H•	HO <sup>-</sup> → H <sub>2</sub> O	OH• → H <sub>2</sub> O
OH• → OH <sup>-</sup>	O <sub>2</sub> <sup>-</sup> → HO <sub>2</sub> •	HO <sub>2</sub> • → H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> → O <sub>2</sub> •	HO <sub>2</sub> <sup>-</sup> → H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	HCOO• → HCOOH
HOO• → HOO <sup>-</sup>	HCOO <sup>-</sup> → HCOOH	O <sub>2</sub> → HO <sub>2</sub> •
HCOO• → HCOO <sup>-</sup>	/	O <sub>2</sub> • → HO <sub>2</sub> <sup>-</sup>

Ces co-réactifs seront exploités pour établir les cycles thermodynamiques présentés dans le **Figure III.7**.



**Figure III.7 :** Cycles thermodynamiques impliquant les formes activées de la quercétine [37]

La **Figure III.7** montre comment la quercétine ainsi que les deux autres flavonoïdes peuvent agir comme un antioxydant à travers différents mécanismes d'échange d'électrons et de protons. La molécule de quercétine initiale Que peut réagir avec un radical libre (A•) en cédant un proton (H<sup>+</sup>) et un électron, ce qui donne la forme SQue (semi-quinone). SQue peut ensuite soit capter un proton pour revenir à Que, soit poursuivre son oxydation pour former SDQue (semi-quinone déprotonée).

De l'autre côté du cycle, Que peut aussi perdre un électron directement pour former DQue (dérivé oxydé de la quercétine), qui peut ensuite capturer un proton et revenir dans le cycle. L'intérêt de ce schéma est de montrer que la quercétine est capable d'agir par deux grands mécanismes antioxydants :

- Le transfert d'hydrogène ( $H\bullet$ ) pour neutraliser des radicaux libres.
- Le transfert d'électron suivi de transfert de proton (proton-coupled electron transfer PCET).

Cela illustre parfaitement pourquoi la quercétine est un antioxydant si puissant : elle est très flexible dans ses réponses chimiques, et peut donc s'adapter selon le type de stress oxydatif rencontré. De plus, les différentes formes oxydées restent relativement stables, ce qui évite la création de produits secondaires toxiques.

### III-4-2- Analyse des formes activées

#### a- Flavonoïde (Que) et Flavonoïde radicalaire (Quer):

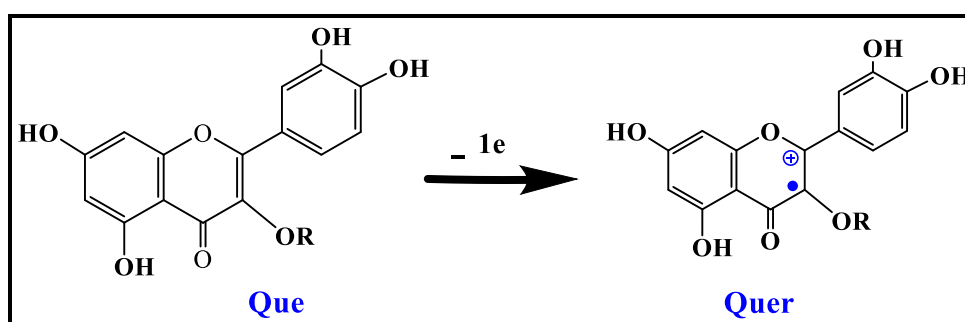


Figure III.8 : Forme radicalaire

L'optimisation des structures des molécules étudiées (Que) et la forme radicalaire (Quer), en phase gazeuse et en phase aqueuse, ainsi que les valeurs obtenues correspondantes de l'enthalpie libre associées à ces structures sont regroupées dans le **Tableau III.3** et représentent trois valeurs spécifiques à chaque molécule la quercétine, la 3-méthoxyquercétine et l'isoquercétine dans l'ordre.

**Tableau III.3** : Longueurs de liaison (Å) et les valeurs d'enthalpie libre des formes (Que) et (Quer) en phase gazeuse et en phase aqueuse.

	Longueur de liaison de forme Que (Å)		Longueur de liaison de forme Quer (Å)	
	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse
C2-C3	1,365/1,366/1,366	1,367/1,368/1,366	1,400/1,418/1,416	1,400/1,420/1,411
C2-C1'	1,464 /1,471/1,469	1,463/1,469/1,468	1,435/1,441/1,440	1,431/1,437/1,437
C3-OR	1,354/1,363/1,371	1,358/1,368/1,376	1,315/1,311/1,309	1,316/1,309/1,322
C5-OH	1,340/1,338/1,337	1,348/1,346/1,346	1,326/1,325/1,324	1,338/1,336/1,335
C7-OH	1,361/1,362/1,361	1,357/1,358/1,357	1,341/1,343/1,343	1,345/1,347/1,346
C4'-OH	1,373/1,373/1,371	1,365/1,365/1,365	1,339/1,343/1,345	1,332/1,338/1,335
C5'-OH	1,363/1,363/1,370	1,366/1,366/1,365	1,342/1,346/1,350	1,347/1,352/1,348
$\Delta G(\text{Kcal/mol})$	/	/	+166,689/+164,458/ +161,554	+131,816/+131,698/ +135,500

L'analyse comparative des longueurs de liaison entre les formes (Que) et radicalaires (Quer) des trois flavonoïdes étudiés "quercétine, 3-méthoxyquercétine et isoquercétine" met en évidence l'impact de l'ionisation sur la structure moléculaire, aussi bien en phase gazeuse qu'en phase aqueuse. Globalement, l'ionisation provoque un allongement de certaines liaisons, notamment C2–C3 lors du passage à la forme radicalaire, particulièrement marquée pour la 3-méthoxyquercétine, dont la valeur passe de 1,366 Å à 1,418 Å. Cet allongement suggère une perte de conjugaison ou une redistribution électronique après ionisation dans cette zone du squelette flavonoïque. La liaison C2–C1', reliant les cycles A et B, subit au contraire une diminution de longueur chez les trois composés, passant par exemple de 1,464 Å à 1,435 Å pour la quercétine. Ce qui pourrait être dû à une redistribution des charges favorisant un rapprochement des centres atomiques ce qui suggère une stabilisation de cette liaison dans les milieux polaires. Cette observation complète l'idée que les interactions électrostatiques avec l'eau peuvent rigidifier certaines parties de la molécule. Pour la liaison C3–OR, sensible à la nature du substituant (R : H, CH<sub>3</sub> ou glucose), on observe une réduction marquée de sa longueur dans les formes radicalaires, avec une valeur minimale de 1,309 Å pour l'isoquercétine. Cette variation, indépendante du solvant, semble principalement liée à un effet inductif ou mésomère du groupement R, modulant la densité électronique autour du carbone C3. Cette diminution suggère également une interaction intra- ou intermoléculaire propre au groupe glucose, absente dans les autres dérivés (R : H ou CH<sub>3</sub>), ce qui pourrait expliquer son comportement distinctif.

Les longueurs de liaison des groupes hydroxyles (C5–OH, C7–OH, C4'–OH, C5'–OH) montrent également une tendance générale à la réduction dans la forme radicalaire. L'allongement de C5–OH et C5'–OH en présence d'eau suggère un étirement dû à la formation de ponts H, tandis que la contraction observée pour C4'–OH peut être interprétée comme une stabilisation spécifique de cette liaison, renforcée par des interactions orientées avec le solvant. Cette contraction des liaisons O–H peut refléter une participation plus importante à la délocalisation électronique après perte d'un électron, ce qui est cohérent avec le rôle antioxydant de ces groupes.

Enfin, les valeurs d'enthalpie libre ( $\Delta G$ ) associées à la formation du radical montrent une ionisation plus favorable (donc plus stable) en phase aqueuse qu'en phase gazeuse pour les trois composés. Par exemple, la quercétine présente une  $\Delta G = +166,689$  kcal/mol en phase gazeuse contre  $+131,816$  kcal/mol en phase aqueuse. Cela met en évidence l'effet stabilisant du solvant polaire sur la forme radicalaire, ce qui renforce l'hypothèse d'une meilleure efficacité antioxydante des flavonoïdes en milieu biologique.

L'enthalpie libre du phénol correspond à la réaction est de 186,4 Kcal/mol ce qui est supérieur aux valeurs obtenues pour la forme radicalaire des flavonoïdes étudiées en phase aqueuse. Ce résultat montre que la stabilisation du radical est plus importante pour une structure de type flavonoïde que

pour un phénol, en raison de leur structure complexe et des interactions spécifiques qu'ils peuvent former. En phase gazeuse, les valeurs d'enthalpie libre sont encore plus faibles, ce qui suggère que l'environnement aqueux joue un rôle crucial dans la stabilisation des radicaux.

L'analyse des longueurs de liaison et des valeurs d'enthalpie libre révèle que les flavonoïdes sont influencés de manière significative par leur environnement. Les interactions avec l'eau peuvent stabiliser certaines liaisons, les rendant plus courtes, ou les allonger légèrement, selon la nature des groupes fonctionnels et des interactions spécifiques avec les molécules d'eau. En outre, la stabilisation accrue des radicaux des flavonoïdes par rapport au phénol suggère un potentiel antioxydant élevé, ce qui est important pour leur rôle dans la protection contre les dommages oxydatifs. Ces observations sont essentielles pour comprendre le comportement des flavonoïdes dans différents environnements, leur stabilité en tant que radicaux, et leur potentiel antioxydant.

### b- Formes Déprotonées (DQue)

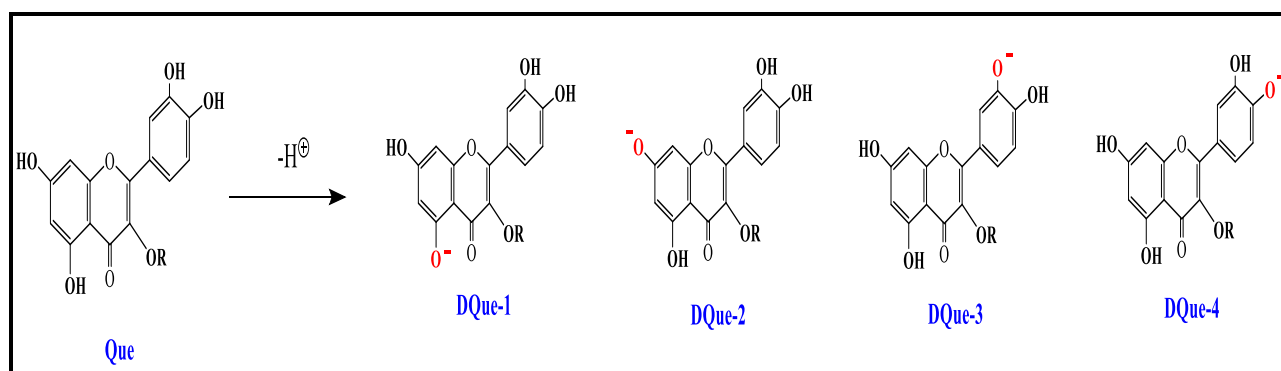


Figure III.9 : Formes déprotonées

La déprotonation n'affecte pas particulièrement les paramètres structuraux de la molécule étudiée, les longueurs de liaisons C-O et C-C vicinales des fonctions impliquées dans l'abstraction du proton, varient de façon significative.

Les longueurs de liaisons de toutes les formes des structures déprotonées dans les deux phases (gazeuse et aqueuse) et l'enthalpie libre des réactions sont rassemblés dans le **Tableau III.4**.

Les résultats montrent que les dérivés de quercétine présentent des variations distinctes de longueurs de liaison et d'enthalpie libre ( $\Delta G$ ) entre les phases gazeuse et aqueuse, reflétant leur adaptation au milieu. Le noyau central demeure particulièrement stable, comme en témoigne la liaison C2-C3, dont les variations infimes ( $\pm 0,01-0,02$  Å) indiquent une résistance à la solvation. En revanche, certaines liaisons périphériques s'ajustent subtilement : la liaison C2-C1' se raccourcit légèrement en phase aqueuse (ex.  $1,462 \rightarrow 1,444$  Å), sous l'effet d'interactions hydrogène, tandis que la liaison C3-OR montre une flexibilité modérée (ex.  $1,382 \rightarrow 1,375$  Å), trahissant une sensibilité accrue aux effets hydrophiles.

Les groupes hydroxyles (C5-OH, C7-OH) subissent les modifications les plus marquées, avec des variations de longueur significatives. Ainsi, si l'architecture globale de la quercétine reste stable, ces ajustements localisés soulignent l'influence du solvant sur les interactions électroniques et stériques, particulièrement au niveau des groupes fonctionnels polaires.

Les valeurs d'enthalpie libre ( $\Delta G$ ) montrent une  $\Delta G$  plus faible en phase aqueuse pourrait expliquer la stabilisation énergétique des conformations adaptées, favorisant des interactions optimales avec les cibles biologiques. Ces résultats illustrent la capacité de la quercétine à maintenir un équilibre entre rigidité structurale (C2-C3) et flexibilité adaptative (C3-OR). Les valeurs de  $\Delta G$  varient pour chaque dérivé entre les phases gazeuse et aqueuse. Ces variations reflètent les différences de stabilité énergétique des dérivés dans les deux environnements.

**Tableau III.4** : Longueurs de liaison (Å) et les valeurs d'enthalpie libre des formes (DQue) en phase gazeuse et en phase aqueuse.

	<b>D1Que</b>		<b>D2Que</b>		<b>D3Que</b>	
	<b>Gazeuse</b>	<b>Aqueuse</b>	<b>Gazeuse</b>	<b>Aqueuse</b>	<b>Gazeuse</b>	<b>Aqueuse</b>
<b>C2-C3</b>	1,416/1,354/1,359	1,413/1,356/1,361	1,351/1,360/1,353	1,351/1,363/1,354	1,356/1,396/1,388	1,356/1,385/1,383
<b>C2-C1'</b>	1,449/1,476/1,473	1,447/1,474/1,471	1,464/1,476/1,473	1,464/1,472/1,473	1,465/1,431/1,436	1,464/1,446/1,445
<b>C3-OR</b>	1,257/1,372/1,385	1,256/1,373/1,381	1,351/1,374/1,384	1,352/1,372/1,383	1,360/1,376/1,384	1,360/1,375/1,383
<b>C5-OH</b>	1,340/1,244/1,358	1,339/1,267/1,359	1,244/1,359/1,243	1,245/1,359/1,266	1,362/1,341/1,341	1,362/1,347/1,347
<b>C7-OH</b>	1,379/1,387/1,251	1,378/1,373/1,270	1,384/1,253/1,385	1,384/1,272/1,373	1,252/1,374/1,371	1,252/1,362/1,361
<b>C4'-OH</b>	1,394/1,386/1,381	1,394/1,369/1,381	1,388/1,385/1,382	1,388/1,368/1,368	1,386/1,265/1,265	1,386/1,281/1,280
<b>C5'-OH</b>	1,377/1,373/1,378	1,376/1,368/1,367	1,373/1,372/1,378	1,373/1,368/1,367	1,373/1,366/1,373	1,373/1,371/1,376
<b><math>\Delta G</math> (Kcal/mol)</b>	+334,780/+345,4+ 25/321,455	+291,135/+296,046/ +284,074	+339,089/+328,172/ +338,104	+293,94/+285,643 /+294,162	+325,555/+317,284 /+309,678	+285,558/+282,464 /+282,970
	<b>D4Que</b>		<b>D5Que</b>			
	<b>Gazeuse</b>	<b>Aqueuse</b>	<b>Gazeuse</b>	<b>Aqueuse</b>		
<b>C2-C3</b>	1,385/1,384/1,379	1,384/1,374/1,376	1,392/-/-	1,392/-/-		
<b>C2-C1'</b>	1,446/1,453/1,457	1,445/1,464/1,462	1,426/-/-	1,425/-/-		
<b>C3-OR</b>	1,363/1,370/1,374	1,363/1,371/1,377	1,369/-/-	1,369/-/-		
<b>C5-OH</b>	1,345/1,341/1,340	1,345/1,347/1,346	1,346/-/-	1,346/-/-		
<b>C7-OH</b>	1,373/1,372/1,370	1,373/1,360/1,359	1,375/-/-	1,375/-/-		
<b>C4'-OH</b>	1,349/1,350/1,354	1,349/1,362/1,362	1,265/-/-	1,265/-/-		
<b>C5'-OH</b>	1,285/1,284/1,296	1,284/1,299/1,308	1,366/-/-	1,365/-/-		
<b><math>\Delta G</math> (Kcal/mol)</b>	+326,886/+323,91 2/+310,591	+288,796/+286,106/ +283,543	+318,392/-/-	+283,539/-/-		

## c- Formes Doublement Déprotonées (DDQue):

A' partir de la forme la plus stable de chaque structure déprotonée, on effectue une abstraction d'un proton pour donner des formes doublement déprotonées (DDQue) et la réaction :

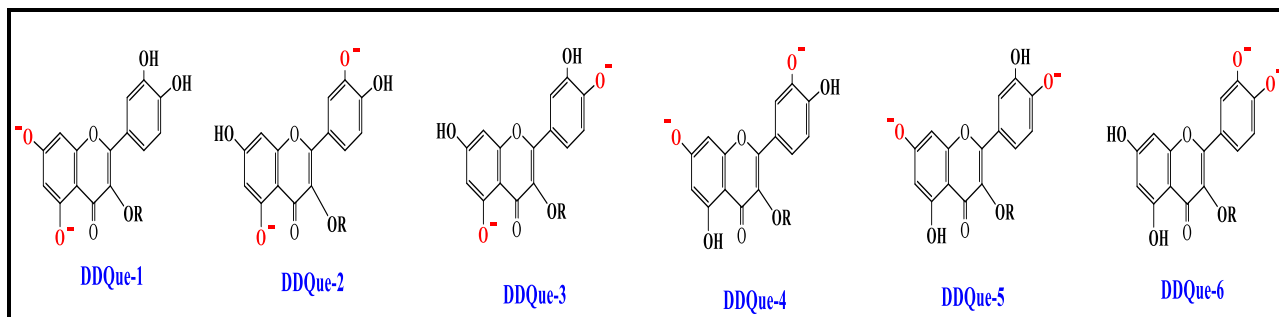


Figure III.10 : Formes doublement déprotonées

Les valeurs de l'enthalpie libre et de longueur des liaisons sont représentées dans le **Tableau III.5** suivant :

**Tableau III.5** : Les longueurs de liaison (Å) et les valeurs d'enthalpie libre des formes (DDQue) en phase gazeuse et en phase aqueuse.

	DD1 Que		DD2 Que		DD3 Que	
	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse
C2-C3	1,418/1,357/1,356	1,394/1,353/1,353	1,432/1,365/1,374	1,412/1,366/1,375	1,400/1,359/1,368	1,395/1,358/1,370
C2-C1'	1,408/1,472/1,466	1,429/1,476/1,474	1,449/1,465/1,457	1,454/1,460/1,454	1,445/1,478/1,473	1,445/1,473/1,469
C3-OR	1,375/1,380/1,396	1,374/1,377/1,386	1,266/1,384/1,397	1,288/1,379/1,388	1,298/1,379/1,388	1,305/1,376/1,382
C5-OH	1,354/1,263/1,261	1,352/1,281/1,281	1,339/1,251/1,364	1,349/1,269/1,360	1,253/1,250/1,363	1,266/1,268/1,360
C7-OH	1,391/1,277/1,275	1,365/1,289/1,288	1,394/1,397/1,261	1,369/1,375/1,274	1,394/1,396/1,260	1,372/1,375/1,272
C4'-OH	1,248/1,396/1,396	1,276/1,371/1,369	1,290/1,286/1,281	1,296/1,289/1,286	1,287/1,369/1,385	1,291/1,367/1,376
C5'-OH	1,268/1,382/1,387	1,298/1,369/1,370	1,380/1,376/1,383	1,378/1,374/1,378	1,377/1,295/1,290	1,375/1,301/1,302
$\Delta G$ (Kcal, mol <sup>-1</sup> )	+405,722/+411,61 /+421,964	+300,857/+296,625 /+306,644	+387,080/+373,720 /+362,267	+289,031/+285,690 /+285,817	+387,556/+377,155 /+371,487	+295,108/+288,067 /+291,372
	DD4Que		DD5Que		DD6Que	
	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse
C2-C3	1,398/1,376/1,363	1,400/1,376/1,365	-/1,367/1,359	-/1,366/1,362	-/1,426/1.420	-/1,400/1.400
C2-C1'	1,441/1,459/1,462	1,422/1,456/1,458	-/1,477/1,476	-/1,471/1,471	-/1,410/1.409	-/1,432/1.431
C3-OR	1,312/1,385/1,396	1,306/1,379/1,389	-/1,379/1,387	-/1,375/1.383	-/1,383/1.390	-/1,379/1.387
C5-OH	1,379/1,365/1,249	1,369/1,361/1,268	-/1,364/1,248	-/1,360/1,267	-/1,345/1.344	-/1,349/1.349
C7-OH	1,263/1,264/1,394	1,272/1,275/1,375	-/1,263/1,394	-/1,273/1,374	-/1,389/1.385	-/1,365/1.364
C4'-OH	1,285/1,283/1,283	1,289/1,287/1,288	-/1,393/1,387	-/1,380/1,377	-/1,248/1.248	-/1,275/1.274
C5'-OH	1,376/1,375/1,383	1,374/1,373/1,379	-/1,270/1,290	-/1,289/1,302	-/1,268/1.292	-/1,298/1.313
$\Delta G$ (Kcal, mol <sup>-1</sup> )	+377,739/+353,53 2 /+381,379	+292,918/+274,553/ +296,844	/390,864/	//301,978/	-/+392,515 /+389,017	-/+293,229 /+299,944

Les longueurs de liaison C2-C3 restent relativement stables entre les phases gazeuse et aqueuse pour la plupart des dérivés, soulignant une résistance aux perturbations environnementales. En revanche, la liaison C2-C1' présente des variations légèrement plus prononcées, reflétant des interactions modérées avec le milieu aqueux. La liaison C3-OR montre des fluctuations significatives entre les deux phases, révélant une sensibilité accrue à la solvataion et une adaptation structurale marquée en solution aqueuse.

Pour les groupes hydroxyle, les liaisons C5-OH et C7-OH se distinguent par des écarts importants, traduisant des interactions hydrophiles intenses avec l'eau. À l'inverse, les liaisons C4'-OH conservent une remarquable stabilité, même en phase aqueuse.

Les valeurs d'enthalpie libre  $\Delta G$  varient pour chaque dérivé entre les phases gazeuse et aqueuse, reflétant les différences de stabilité énergétique. Ces valeurs montrent une tendance générale à être plus élevées en phase aqueuse par rapport à la phase gazeuse. Cela suggère une diminution de la stabilité énergétique des dérivés de la quercétine en présence d'eau due à des interactions supplémentaires avec les molécules d'eau et d'autres composants de la solution.

#### d- Formes Semiquinones (SQue)

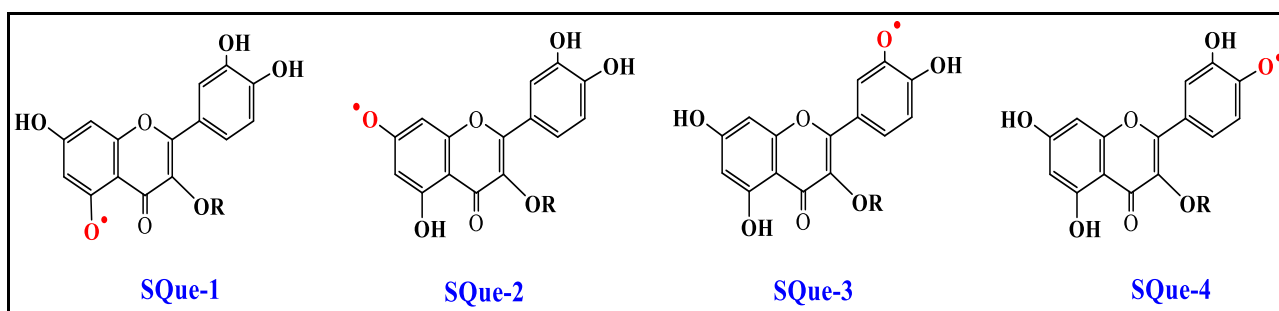
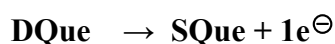


Figure III.11 : Formes Semiquinones

La forme semi-quinone obtenir à partir des deux formes : la forme Que par coupure homolytique d'une liaison O-H et la forme déprotonée DQue par perte d'un électron, selon 2 schéma suivant :



L'enthalpie libre correspondant à l'énergie de dissociation homolytique (BDE) et les longueurs des liaisons sont rassemblées dans le **Tableau III.6**.

Les liaisons C2-C3 et C2-C1' présentent une stabilité remarquable, tandis que les groupes hydroxyle (C3-OH, C5-OH, C7-OH, C5'-OH) subissent des ajustements conformationnels subtils mais significatifs sous l'effet de la solvataion, modulant ainsi leur réactivité et leur affinité pour les cibles biologiques. Les valeurs d'enthalpie libre ( $\Delta G$ ), plus faibles en milieu aqueux, soulignent une stabilisation énergétique favorisée par les interactions eau-molécule.

Tableau III.6 : Longueurs de liaison (Å) et valeurs d'enthalpie libre de formes (SQue) en phase gazeuse et en phase aqueuse.

	S1Que		S2Que		S3Que	
	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse
C2-C3	1,447/1.365/1.373	1.444/1.366/1.378	1,366/1.375/1.363	1.370/1.381/1.364	1,375/1.376/1.374	1.385/1.374/1.371
C2-C1'	1,444/1.469/1.466	1.441/1.467/1.461	1,461/1.467/1.468	1.459/1.461/1.466	1,459/1.458/1.456	1.452/1.458/1.459
C3-OR	1,235/1.355/1.366	1.243/1.361/1.367	1,339/1.358/1.364	1.342/1.358/1.370	1,346/1.354/1.361	1.341/1.357/1.366
C5-OH	1,333/1.239/1.340	1.340/1.245/1.343	1,237/1.340/1.239	1.244/1.343/1.245	1,343/1.337/1.336	1.346/1.344/1.344
C7-OH	1,358/1.363/1.252	1.353/1.356/1.254	1,362/1.252/1.362	1.355/1.254/1.355	1,249/1.359/1.358	1.253/1.356/1.355
C4'-OH	1,367/1.372/1.368	1.356/1.365/1.360	1,371/1.369/1.371	1.363/1.360/1.364	1,368/1.247/1.247	1.357/1.251/1.251
C5'-OH	1,361/1.363/1.369	1.363/1.366/1.363	1,362/1.361/1.370	1.365/1,364/1.365	1,361/1.333/1.339	1.363/1.336/1.334
$\Delta G(\text{Kcal/mol})$	74,294/90,807 /80.424	71,101/85,134 /80.230	87,433/79,858 /90.977	83,114/79,628 /85.375	79,629/66,765 /67,250	78,359/68.679/
	S4Que		S44Que		S5Que	
	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse
C2-C3	1,363/1.365/1.367	1.365/1.365/1.363	1.364/-/-	1.365/-/-	1.375/-/-	1.377/-/-
C2-C1'	1,466/1.472/1.469	1.466/1.472/1.471	1.465/-/-	1.465/-/-	1.446/-/-	1.444/-/-
C3-OR	1,350/1.359/1.336	1.352/1.363/1.371	1.350/-/-	1.351/-/-	1.344/-/-	1.343/-/-
C5-OH	1,339/1.337/1.359	1.346/1.345/1.345	1.339/-/-	1.346/-/-	1.339/-/-	1.345/-/-
C7-OH	1,359/1.360/1.359	1.356/1.357/1.356	1.359/-/-	1.356/-/-	1.357/-/-	1.354/-/-
C4'-OH	1,340/1.328/1.327	1.337/1.329/1.328	1.327/-/-	1.329/-/-	1.246/-/-	1.251/-/-
C5'-OH	1,246/1.253/1.257	1.253/1.257/1.256	1.253/-/-	1.258/-/-	1.334/-/-	1.339/-/-
$\Delta G(\text{Kcal/mol})$	77,105/68.806/	76,184/70.179/	74,294/-/-	72,312/-/-	74,294/-/-	68,064/-/-

e- Formes Semi-Quinones Déprotonées (DSQue)

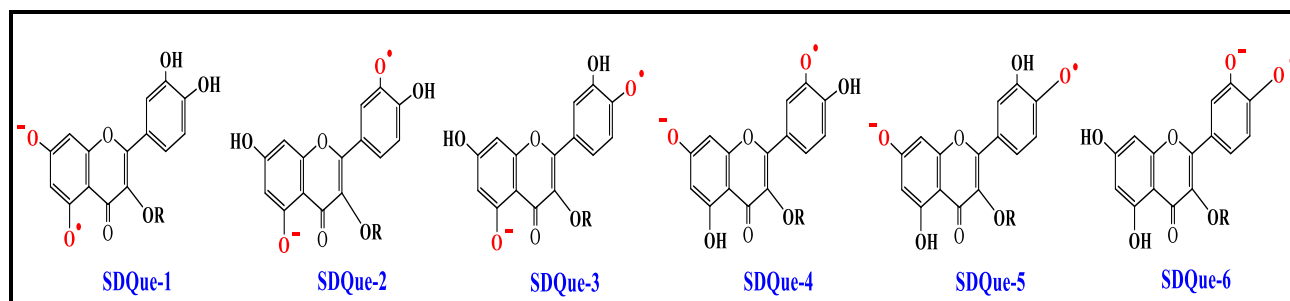


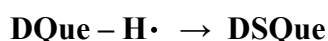
Figure III.12 : Formes Semiquinones déprotonées

Les formes Semi-Quinones Déprotonées sont obtenues à partir trois processus :

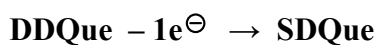
- La forme Semi-Quinone (SQue) par déprotonation,



- La forme Déprotonée (DQue) par abstraction d'un H• ,



- La forme Doublement déprotonée (DDQue) par perte d'un électron (Oxydation),



Les longueurs de liaison et des formes (SDQue) en phase gazeuse et en phase aqueuse sont regroupées dans le **Tableau III.7**.

**Tableau III.7** : Les longueurs de liaison (Å) et les valeurs d'enthalpie libre des formes (SDQue) en phase gazeuse et en phase aqueuse.

	SD1Que		SD2Que		SD3Que	
	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse
C2-C3	1.387/1.355/1.353	1.374/1.362/1.360	1.445/1.385/1.392	1.438/1.375/1.377	1.420/1.364/1.368	1.421/1.356/1.365
C2-C1'	1.437/1.475/1.473	1.454/1.471/1.470	1.416/1.442/1.436	1.419/1.450/1.449	1.416/1.468/1.473	1.416/1.473/1.470
C3-OR	1.363/1.370/1.382	1.359/1.366/1.375	1.247/1.351/1.373	1.256/1.355/1.368	1.267/1.361/1.388	1.269/1.367/1.374
C5-OH	1.345/1.250/1.249	1.348/1.256/1.255	1.339/1.242/1.349	1.344/1.262/1.355	1.239/1.243/1.363	1.253/1.265/1.358
C7-OH	1.373/1.256/1.255	1.359/1.272/1.272	1.373/1.380/1.250	1.359/1.370/1.265	1.374/1.380/1.260	1.361/1.372/1.268
C4'-OH	1.235/1.385/1.381	1.253/1.367/1.366	1.260/1.259/1.256	1.265/1.256/1.254	1.258/1.341/1.385	1.262/1.331/1.336
C5'-OH	1.248/1.372/1.378	1.262/1.367/1.366	1.359/1.355/1.363	1.360/1.345/1.343	1.357/1.268/1.290	1.358/1.259/1.257
$\Delta G$ (Kcal/mol)	1.387/1.355/1.353	1.374/1.362/1.360	1.445/1.385/1.392	1.438/1.375/1.377	1.420/1.364/1.368	1.421/1.356/1.365
	SD4Que		SD5Que		SD6Que	
	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse
C2-C3	1.423/1.390/1.381	1.425/1.381/1.370	-/1.365/1.365	-/1.361/1.353	-/1.389/1.384	-/1.374/1.376
C2-C1'	1.413/1.440/1.442	1.414/1.448/1.451	-/1.471/1.467	-/1.473/1.473	-/1.444/1.449	-/1.461/1.459
C3-OR	1.272/1.362/1.369	1.270/1.357/1.367	-/1.367/1.369	-/1.368/1.378	-/1.371/1.374	-/1.368/1.374
C5-OH	1.365/1.351/1.241	1.359/1.355/1.261	-/1.355/1.242	-/1.358/1.265	-/1.341/1.340	-/1.346/1.346
C7-OH	1.245/1.251/1.376	1.257/1.265/1.369	-/1.252/1.377	-/1.270/1.372	-/1.372/1.369	-/1.359/1.358
C4'-OH	1.257/1.257/1.259	1.261/1.255/1.255	-/1.353/1.358	-/1.338/1.338	-/1.236/1.237	-/1.253/1.252
C5'-OH	1.357/1.354/1.364	1.358/1.345/1.343	-/1.251/1.265	-/1.253/1.253	-/1.249/1.259	-/1.262/1.269
$\Delta G$ (Kcal/mol)	1.423/1.390/1.381	1.425/1.381/1.370	-/1.365/1.365	-/1.361/1.353	-/1.389/1.384	-/1.374/1.376

Les données du **Tableau III.7** mettent en évidence des variations de longueurs de liaison spécifiques pour la quercétine, la 3-méthoxyquercétine et l'isoquercétine respectivement entre les phases gazeuse et aqueuse. Par exemple, la liaison C2-C3 passe de 1,387 Å en phase gazeuse à 1,353 Å en milieu aqueux, révélant un raccourcissement significatif lié aux interactions avec le solvant. Ces ajustements, observés pour d'autres liaisons (C2-C1', C3-OR, etc.), reflètent des changements

conformationnels et une adaptation moléculaire à l'environnement aqueux, probablement induits par des liaisons hydrogène ou des effets de polarisation.

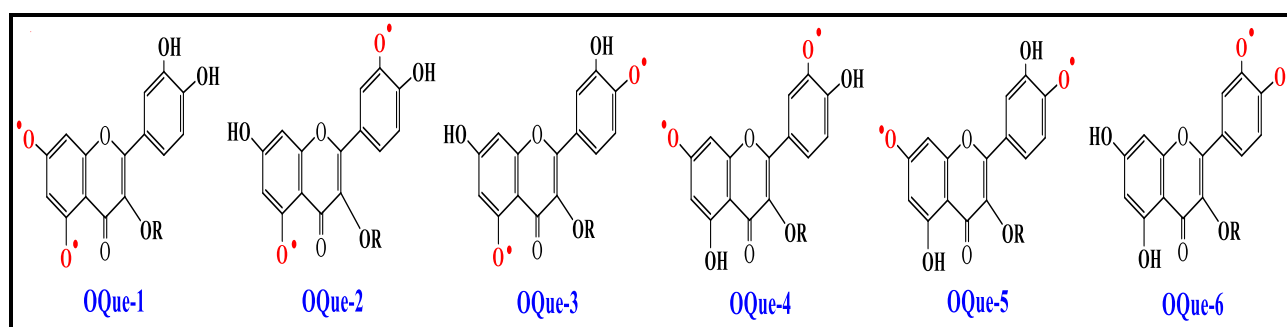
Pour les deux cas, la Déprotonation d'une forme SQue et l'abstraction d'un H• à partir d'une forme DQue. Les espèces les plus stables de ces catégories sont pris comme des structures de références, Alors que dans le cas de l'oxydation par perte d'un e<sup>⊖</sup> à partir d'une forme DDQue, chaque forme DDQue correspond à une forme SDQue, L'enthalpie libre de chaque forme active sont présentées dans le **Tableau III.8**.

**Tableau III.8** : Enthalpie libre de formation des espèces SDQue à partir de différentes formes activées

	SQue - H <sup>⊕</sup> → SDQue		DQue - H• → SDQue		DDQue - 1e <sup>⊖</sup> → SDQue	
	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse
<b>SD1Que</b>	+343,83	+295,88	+89,20	+78,95	+30,36	+113,89
<b>SD2Que</b>	+332,18	+290,81	+77,55	+73,88	+18,71	+108,82
<b>SD3Que</b>	+337,55	+293,90	+82,92	+76,97	+24,08	+111,91
<b>SD4Que</b>	+313,71	+280,27	+59,07	+63,34	+0,23	+98,286
<b>SD5Que</b>	+319,84	+283,27	+65,21	+66,34	+6,37	+101,28
<b>SD6Que</b>	+320,59	+277,55	+65,96	+60,62	+7,12	+95,56

La forme Semi-Quinone (Déprotonation) demande beaucoup plus d'énergie que la déprotonation de l'espèce (Que) et la forme DDQue (l'oxydation) demande moins d'énergie que l'oxydation d'une forme (Que) ou d'une forme (DQue). Donc une espèce doublement chargée négativement cède plus facilement un e<sup>⊖</sup> par rapport à une espèce simplement chargée ou une espèce neutre.

**f- Formes Quinones (OQue)**



**Figure III.13** : Formes Quinones

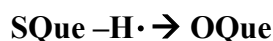
Les formes Quinone sont la suite de deux processus de déprotonation et d'oxydation, au cours de la transformation ou de la métabolisation des flavonoïdes, elles sont souvent considérées comme

des intermédiaires stables. Nous présentons ci-dessous les voies d'obtention de la forme Quinone (OQue):

- L'oxydation d'une forme Semi-Quinone Déprotonée



- Perte d'un hydrogène à partir d'une forme Semi-Quinone (abstraction)



Les longueurs de liaison des formes (OQue) en phase gazeuse et en phase aqueuse sont récapitulées dans le **Tableau III.9**

**Tableau III.9** : Longueurs de liaison (Å) des formes (OQue) en phase gazeuse et en phase aqueuse

	O1Que		O2Que		O3Que	
	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse
C2-C3	1.366/1.387/1.353	1.368/1.417/1.360	1.484/1.418/1.392	1.481/1.424/1.377	1.459/1.393/1.368	1.461/1.399/1.365
C2-C1'	1.462/1.461/1.473	1.459/1.444/1.470	1.386/1.416/1.436	1.387/1.412/1.449	1.389/1.448/1.473	1.389/1.443/1.470
C3-OR	1.343/1.334/1.382	1.341/1.311/1.375	1.213/1.310/1.373	1.218/1.296/1.368	1.231/1.324/1.388	1.230/1.316/1.374
C5-OH	1.338/1.226/1.249	1.345/1.241/1.255	1.331/1.231/1.349	1.337/1.247/1.355	1.226/1.231/1.363	1.238/1.247/1.358
C7-OH	1.356/1.241/1.255	1.353/1.261/1.272	1.354/1.363/1.250	1.348/1.359/1.265	1.357/1.363/1.260	1.350/1.359/1.268
C4'-OH	1.210/1.367/1.381	1.216/1.349/1.366	1.230/1.234/1.256	1.235/1.235/1.254	1.231/1.310/1.385	1.237/1.304/1.336
C5'-OH	1.213/1.360/1.378	1.221/1.359/1.366	1.338/1.336/1.363	1.343/1.336/1.343	1.338/1.252/1.290	1.343/1.255/1.257
$\Delta G$ (Kcal/mol)	1.366/1.387/1.353	1.368/1.417/1.360	1.484/1.418/1.392	1.481/1.424/1.377	1.459/1.393/1.368	1.461/1.399/1.365
	O4Que		O5Que		O6Que	
	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse
C2-C3	1.458/1.423/1.381	1.462/1.430/1.370	-/1.399/1.365	-/1.406/1.353	-/1.368/1.384	-/1.366/1.376
C2-C1'	1.387/1.415/1.442	1.387/1.412/1.451	-/1.445/1.467	-/1.440/1.473	-/1.470/1.449	-/1.470/1.459
C3-OR	1.235/1.316/1.369	1.232/1.299/1.367	-/1.330/1.369	-/1.318/1.378	-/1.352/1.374	-/1.355/1.374
C5-OH	1.352/1.340/1.241	1.350/1.345/1.261	-/1.341/1.242	-/1.346/1.265	-/1.336/1.340	-/1.344/1.346
C7-OH	1.229/1.236/1.376	1.242/1.250/1.369	-/1.238/1.377	-/1.253/1.372	-/1.358/1.369	-/1.355/1.358
C4'-OH	1.230/1.232/1.259	1.235/1.233/1.255	-/1.305/1.358	-/1.298/1.338	-/1.210/1.237	-/1.216/1.252
C5'-OH	1.337/1.334/1.364	1.342/1.333/1.343	-/1.251/1.265	-/1.251/1.253	-/1.212/1.259	-/1.218/1.269
$\Delta G$ (Kcal/mol)	1.458/1.423/1.381	1.462/1.430/1.370	-/1.399/1.365	-/1.406/1.353	-/1.368/1.384	-/1.366/1.376

L'analyse comparative des longueurs de liaison de la quercétine (O1, O2, O3 Que) entre les phases gazeuse et aqueuse révèle des ajustements structuraux significatifs, dictés par les interactions

avec le solvant. Les liaisons C2-C3 et C5-OH s'allongent systématiquement en milieu aqueux (ex. C2-C3 : 1.387 → 1.417 Å pour O1 Que), reflétant une polarisation accrue ou des liaisons hydrogène avec l'eau. À l'inverse, C2-C1' et C4'-OH se raccourcissent légèrement (ex. C2-C1' : 1.462 → 1.444 Å pour O1 Que), suggérant un resserrement conformationnel sous l'effet stabilisateur du solvant. Les liaisons C3-OR et C7-OH restent relativement stables, indiquant une moindre sensibilité à l'environnement. Ces variations, bien que subtiles, révèlent des mécanismes distincts : l'eau module la géométrie moléculaire via des interactions électrostatiques (allongement de liaisons polaires) ou des effets stériques (raccourcissement de liaisons clés). Les différences entre les formes O1, O2 et O3 Que soulignent également l'impact des substitutions spécifiques (ex. groupes hydroxyle vs méthoxy) sur la flexibilité structurale.

Enfin, les tendances observées (allongement majoritaire en phase aqueuse) confirment le rôle central de la solvation dans la stabilisation énergétique et la réactivité moléculaire. On va prendre comme référence les espèces les plus stables des formes SDQ-Me, et SQ-Me pour obtenir les enthalpies libres de formation des espèces Quinone, les valeurs des enthalpies libres sont représentées dans le **Tableau III.10**.

**Tableau III.10:** Enthalpie libre de formation des espèces OQue à partir de différentes formes activées

	SQue-H• → OQue		DSQue - 1e <sup>⊖</sup> → OQue	
	Gazeuse	Aqueuse	Gazeuse	Aqueuse
<b>O1Q</b>	+115,01	+103,40	+121,90	+146,44
<b>O2Q</b>	+95,30	+86,84	+102,18	+129,88
<b>O3Q</b>	+105,20	+96,51	+112,09	+139,56
<b>O4Q</b>	+81,46	+77,37	+88,34	+120,41
<b>O5Q</b>	+92,51	+88,08	+99,40	+131,12
<b>O6Q</b>	+63,48	+60,13	+70,37	+82,77

Les résultats obtenus montrent que les valeurs d'enthalpies libres de l'oxydation de (DSQue) sont moins stables que celle de la perte d'un hydrogène (SQue) dans les deux milieux, Ceci est important lorsque l'on sait que la forme Quinone (OQue) est impliquée dans les mécanismes de prooxydation. En effet la réduction de la forme OQue engendrerait bien des formes Semi-Quinone (SQue) que des formes Semi-Quinone Déprotonées (DSQue), L'analyse structurale confirme le caractère simple, double et aromatique des liaisons pour la structure Quinone qui est considéré comme la plus stable (O6Que).

L'étude des formes activées nous a permis de préciser les spécificités structurales et énergétiques de chaque forme, pour rationaliser la réactivité de ces espèces dans un milieu biologique. Les résultats de calcul en solvation rendent les formes issues d'une déprotonations très stables.

L'examen de l'effet de groupement hydroxyle (OH) par différents paramètres (longueurs de liaison a permis de mieux cerner la réactivité et les différents sites réactifs de chaque forme activée.

---

## Références Bibliographiques

- [1] A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids - PDFCOFFEE.COM, (n.d.). <https://pdfcoffee.com/a-review-of-phytochemistry-and-pharmacology-of-flavonoids-pdf-free.html> (accessed April 30, 2025).
- [2] S. Fiorucci, J. Golebiowski, D. Cabrol-Bass, S. Antonczak, DFT study of quercetin activated forms involved in antiradical, antioxidant, and prooxidant biological processes, *J Agric Food Chem* 55 (2007) 903–911. <https://doi.org/10.1021/JF061864S/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF061864SN00001.GIF>.
- [3] M.P. Lehucher-Michel, J.F. Lesgards, O. Delubac, P. Stocker, P. Durand, M. Prost, [Oxidative stress and human disease. Current knowledge and perspectives for prevention]., *Presse Med* 30 (2001) 1076–1081. <https://europepmc.org/article/med/11471285> (accessed April 30, 2025).
- [4] V. Afonso, R. Champy, D. Mitrovic, P. Collin, A. Lomri, Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales, *Rev Rhum* 74 (2007) 636–643. <https://doi.org/10.1016/J.RHUM.2006.12.009>.
- [5] C. Groussard, Stress oxydatif et exercice anaérobie, *Sci Sports* 21 (2006) 62–67. <https://doi.org/10.1016/J.SCISPO.2005.06.005>.
- [6] D.B. Ré, I. Nafia, A. Nieoullon, L.K. Le Goff, L. Had-Aissouni, Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale, *Ann Fr Anesth Reanim* 24 (2005) 502–509. <https://doi.org/10.1016/J.ANNFAR.2005.03.004>.
- [7] B. Halliwell, M. Whiteman, Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?, *Br J Pharmacol* 142 (2004) 231–255. <https://doi.org/10.1038/SJ.BJP.0705776>.
- [8] M. IMANE, LE PROCESSUS OXYDATIF ET LES ANTIOXYDANTS EN PATHOLOGIE HUMAINE, (2020). <http://toubkal.imist.ma/handle/123456789/29747> (accessed June 26, 2025).

- 
- [9] J.A. Imlay, Pathways of Oxidative Damage, *Annu Rev Microbiol* 57 (2003) 395–418. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.MICRO.57.030502.090938/CITE/REFWORKS>.
- [10] C.C. Winterbourn, Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction, *Toxicol Lett* 82–83 (1995) 969–974. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(95\)03532-X](https://doi.org/10.1016/0378-4274(95)03532-X).
- [11] H. Yin, L. Xu, N.A. Porter, Free radical lipid peroxidation: Mechanisms and analysis, *Chem Rev* 111 (2011) 5944–5972. [https://doi.org/10.1021/CR200084Z/ASSET/CR200084Z.FP.PNG\\_V03](https://doi.org/10.1021/CR200084Z/ASSET/CR200084Z.FP.PNG_V03).
- [12] A. Favier, Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, (n.d.).
- [13] A.W. Girotti, Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems, *J Lipid Res* 39 (1998) 1529–1542. [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)32182-9/ASSET/958C59EC-3266-4C10-9988-957C4DAA50BC/MAIN.ASSETS/GR6.JPG](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)32182-9/ASSET/958C59EC-3266-4C10-9988-957C4DAA50BC/MAIN.ASSETS/GR6.JPG).
- [14] S.F. Mujtaba, A. Dwivedi, M.K.R. Mudiam, D. Ali, N. Yadav, R.S. Ray, Production of ROS by Photosensitized Anthracene Under Sunlight and UV-R at Ambient Environmental Intensities, *Photochem Photobiol* 87 (2011) 1067–1076. <https://doi.org/10.1111/J.1751-1097.2011.00955.X>.
- [15] J.L. Pierre, F. Thomas, Homolytic C–H bond cleavage (H-atom transfer): chemistry for a paramount biological process, *Comptes Rendus Chimie* 8 (2005) 65–74. <https://doi.org/10.1016/J.CRCI.2004.09.005>.
- [16] A. El-Hadj Saïd, S.M. Mekelleche, T.E.A. Ardjani, Theoretical insight into the substituent effects on the antioxidant properties of 8-hydroxyquinoline derivatives in gas phase and in polar solvents, *Can J Chem* 96 (2018) 453–458. [https://doi.org/10.1139/CJC-2017-0457/SUPPL\\_FILE/CJC-2017-0457SUPPLA.DOC](https://doi.org/10.1139/CJC-2017-0457/SUPPL_FILE/CJC-2017-0457SUPPLA.DOC).
- [17] M. Najafi, M. Najafi, M. Najafi, Predicting the substituent and solvent effects on the radical scavenger activity of ethoxyquin derivatives: A DFT/B3LYP study, *Can J Chem* 91 (2013) 457–464. <https://doi.org/10.1139/CJC-2013-0049/ASSET/IMAGES/LARGE/CJC-2013-0049CON.JPEG>.
- [18] A. El-Hadj Saïd, S.M. Mekelleche, T.E.A. Ardjani, Theoretical insight into the substituent effects on the antioxidant properties of 8-hydroxyquinoline derivatives in
-

- gas phase and in polar solvents, *Can J Chem* 96 (2018) 453–458.  
[https://doi.org/10.1139/CJC-2017-0457/SUPPL\\_FILE/CJC-2017-0457SUPPLA.DOC](https://doi.org/10.1139/CJC-2017-0457/SUPPL_FILE/CJC-2017-0457SUPPLA.DOC).
- [19] M. Najafi, M. Najafi, M. Najafi, Predicting the substituent and solvent effects on the radical scavenger activity of ethoxyquin derivatives: A DFT/B3LYP study, *Can J Chem* 91 (2013) 457–464. <https://doi.org/10.1139/CJC-2013-0049/ASSET/IMAGES/LARGE/CJC-2013-0049CON.JPEG>.
- [20] Modélisation moléculaire de l'acétylation de la quercétine par des lipases: étude des interactions enzyme-substrat | Enhanced Reader, (n.d.).
- [21] E.G. Bakalbassis, A.T. Lithoxidou, A.P. Vafiadis, Theoretical calculation of accurate absolute and relative gas- and liquid-phase O-H bond dissociation enthalpies of 2-mono- and 2,6-disubstituted phenols, using DFT/B3LYP, *Journal of Physical Chemistry A* 107 (2003) 8594–8606.  
[https://doi.org/10.1021/JP034400V/SUPPL\\_FILE/JP034400VSI20030612\\_082936.PDF](https://doi.org/10.1021/JP034400V/SUPPL_FILE/JP034400VSI20030612_082936.PDF).
- [22] H.Y. Zhang, Y.M. Sun, X.L. Wang, Substituent Effects on O-H Bond Dissociation Enthalpies and Ionization Potentials of Catechols: A DFT Study and Its Implications in the Rational Design of Phenolic Antioxidants and Elucidation of Structure–Activity Relationships for Flavonoid Antioxidants, *Chemistry – A European Journal* 9 (2003) 502–508.  
<https://doi.org/10.1002/CHEM.200390052>.
- [23] M. Guerra, R. Amorati, G.F. Pedulli, Water effect on the O-H dissociation enthalpy of para-substituted phenols: A DFT study, *Journal of Organic Chemistry* 69 (2004) 5460–5467.  
[https://doi.org/10.1021/JO0495236/SUPPL\\_FILE/JO0495236SI20040430\\_010810.PDF](https://doi.org/10.1021/JO0495236/SUPPL_FILE/JO0495236SI20040430_010810.PDF).
- [24] J. Mestres, M. Duran, J. Bertrán, I.G. Csizmadia, The effect of substituents on the deprotonation energy of selected primary, secondary and tertiary alcohols, *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 358 (1995) 229–249. [https://doi.org/10.1016/0166-1280\(95\)04353-5](https://doi.org/10.1016/0166-1280(95)04353-5).
- [25] J.S. Wright, E.R. Johnson, G.A. DiLabio, Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants: Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects, and Application to

- 
- Major Families of Antioxidants, *J Am Chem Soc* 123 (2001) 1173–1183.  
<https://doi.org/10.1021/JA002455U>.
- [26] D. Vasilescu, R. Girma, Quantum molecular modeling of quercetin—Simulation of the interaction with the free radical t-BuOO•\*, *Int J Quantum Chem* 90 (2002) 888–902.  
<https://doi.org/10.1002/QUA.1801>.
- [27] P. Trouillas, C. Fagnère, R. Lazzaroni, C. Calliste, A. Marfak, J.L. Duroux, A theoretical study of the conformational behavior and electronic structure of taxifolin correlated with the free radical-scavenging activity, *Food Chem* 88 (2004) 571–582.  
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2004.02.009>.
- [28] S.A.B.E. Van Acker, D.J. Van Den Berg, M.N.J.L. Tromp, D.H. Griffioen, W.P. Van Bennekom, W.J.F. Van Der Vijgh, A. Bast, Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids, *Free Radic Biol Med* 20 (1996) 331–342. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02047-0](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02047-0).
- [29] P. Trouillas, P. Marsal, D. Siri, R. Lazzaroni, J.L. Duroux, A DFT study of the reactivity of OH groups in quercetin and taxifolin antioxidants: The specificity of the 3-OH site, *Food Chem* 97 (2006) 679–688. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.05.042>.
- [30] K.E. Heim, A.R. Tagliaferro, D.J. Bobilya, Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *J Nutr Biochem* 13 (2002) 572–584.  
[https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5).
- [31] M. Leopoldini, N. Russo, S. Chiodo, M. Toscano, Iron Chelation by the Powerful Antioxidant Flavonoid Quercetin, *J Agric Food Chem* 54 (2006) 6343–6351.  
<https://doi.org/10.1021/JF060986H>.
- [32] M. Leopoldini, N. Russo, M. Toscano, The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants, *Food Chem* 125 (2011) 288–306.  
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.08.012>.
- [33] G. Cao, E. Sofic, R.L. Prior, Antioxidant and Prooxidant Behavior of Flavonoids: Structure-Activity Relationships, *Free Radic Biol Med* 22 (1997) 749–760.  
[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(96\)00351-6](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(96)00351-6).
- [34] A. Gliszczynska-Swiglo, H. Van Der Woude, L. De Haan, B. Tyrakowska, J.M.M.J.G. Aarts, I.M.C.M. Rietjens, The role of quinone reductase (NQO1) and quinone
-

- chemistry in quercetin cytotoxicity, *Toxicology in Vitro* 17 (2003) 423–431.  
[https://doi.org/10.1016/S0887-2333\(03\)00047-X](https://doi.org/10.1016/S0887-2333(03)00047-X).
- [35] G. Galati, T. Chan, B. Wu, P.J. O'Brien, Glutathione-Dependent Generation of Reactive Oxygen Species by the Peroxidase-Catalyzed Redox Cycling of Flavonoids, *Chem Res Toxicol* 12 (1999) 521–525. <https://doi.org/10.1021/TX980271B>.
- [36] C.A. Rice-Evans, N.J. Miller, G. Paganga, Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radic Biol Med* 20 (1996) 933–956.  
[https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9).
- [37] S. Fiorucci, J. Golebiowski, D. Cabrol-Bass, S. Antonczak, DFT study of quercetin activated forms involved in antiradical, antioxidant, and prooxidant biological processes, *J Agric Food Chem* 55 (2007) 903–911.  
<https://doi.org/10.1021/JF061864S/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF061864SN0001.GIF>.

*Partie II : Etudes Spectroscopiques*

### III-1- Spectre RMN

La spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) occupe une place centrale dans la recherche moderne, grâce à sa précision atomique et son rôle clé dans des avancées scientifiques pluridisciplinaires [1]. Fondée sur le phénomène de résonance des spins nucléaires, technique exploite les propriétés magnétiques des noyaux atomiques [2,3]. En chimie organique, les spectres RMN du proton ( $^1\text{H}$ ) et du carbone-13 ( $^{13}\text{C}$ ) en solution liquide constituent des outils incontournables pour la détermination structurale et l'étude dynamique des molécules [4,5]. La RMN s'étend cependant à tout noyau possédant un spin non nul, y compris dans les phases solides, élargissant ainsi son champ d'application à l'analyse de matériaux complexes.

Particulièrement pertinente pour des études comparatives, la RMN permet de confronter efficacement les prédictions théoriques aux observations expérimentales, validant ainsi des modèles moléculaires ou en révélant les limites. Les calculs de chimie quantique (tels que la DFT ou la dynamique moléculaire) prédisent avec une précision croissante les paramètres RMN [6] (déplacements chimiques, couplages spin-spin, temps de relaxation), dont l'accord avec les données expérimentales sert de critère essentiel pour évaluer leur pertinence, notamment pour des systèmes complexes.

#### III-1- 1- Etude antérieure

Une étude phytochimique de *Fumana montana* Pomel a été réalisée au Laboratoire de Chimie et Chimie de l'Environnement (LCCE) de l'Université de Batna 1 par l'équipe du Professeur Hamada Haba [7].



**Figure III.1 :** Espèce *Fumana montana* Pomel

Les différentes fractions ont été séparées et purifiées selon les protocoles chromatographiques suivants :

- Chromatographie sur couche mince (CCM)
- Chromatographie liquide sous vide (VLC)
- Chromatographie sur colonne ouverte (CC)
- Chromatographie sur cartouche RP-18 (Chromabond)

La détermination structurale des composés isolés a été réalisée par une approche spectroscopique multi technique :

- RMN 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) et 2D (COSY H-H, HSQC  $J$ -modulé, HMBC, NOESY)
- Spectroscopie UV-Visible
- Spectrométrie de masse haute résolution (HR-ESI-MS)

Dans ce travail, nous exploitons ces potentialités pour établir une comparaison systématique entre :

- Les déplacements chimiques expérimentaux ( $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ ) des flavonoïdes isolés.
- Les données théoriques calculées pour ces mêmes composés dans différents environnements solvatants.

### III-1- 2- Etude spectroscopique comparative de la quercétine

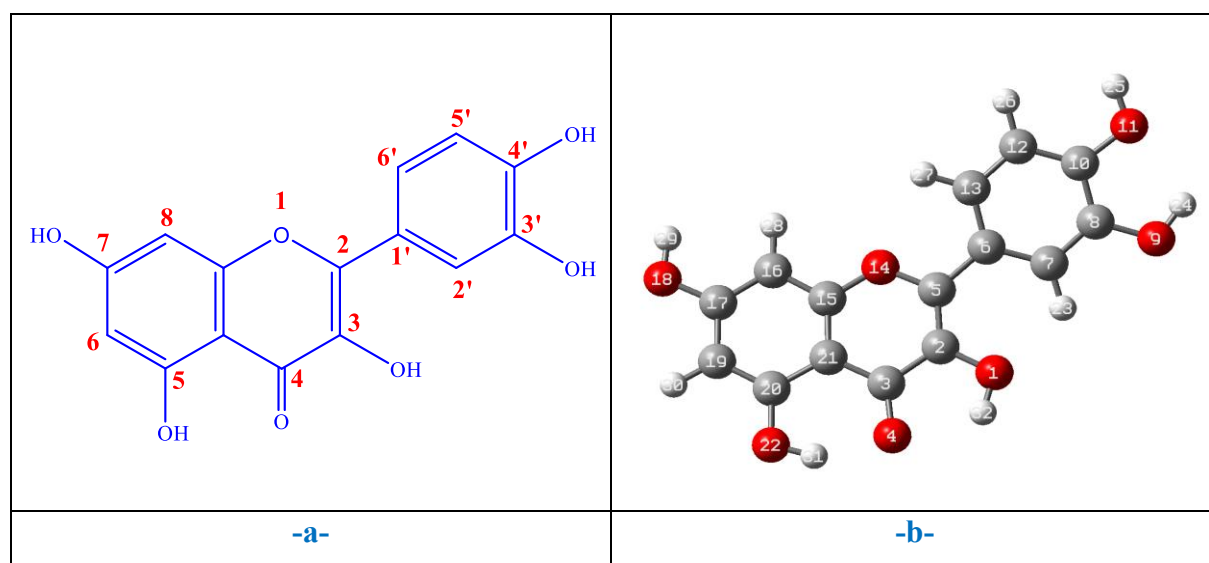
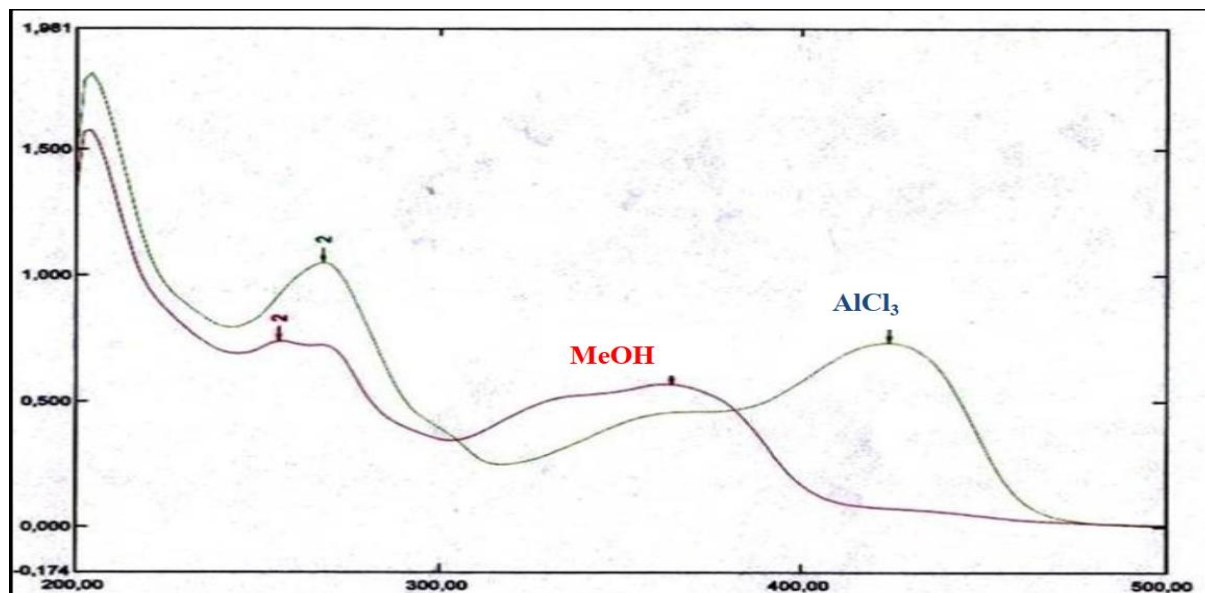


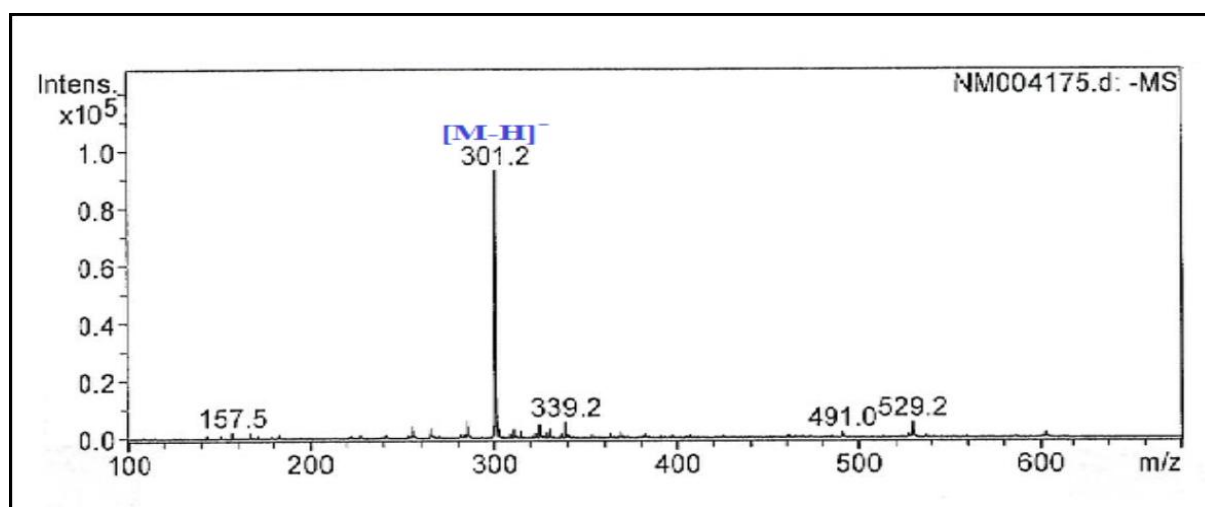
Figure III.2 : Numérotation expérimentale -a- et théorique -b- de la quercétine.

Le spectre UV-Visible de ce composé (**Figure III.3**) enregistré dans le méthanol montre deux bandes d'absorption maximales à 356 nm (bande I) et 257 nm (bande II) caractéristiques d'un système insaturé des flavonoïdes. L'addition de  $\text{AlCl}_3$  provoque un déplacement bathochromique de la bande I, indiquant la présence d'un groupement hydroxyle OH libre en position 5.



**Figure III.3** : Spectre UV [7] de la quercétine

L'analyse des spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (**Figure III.5 et III.6**), spectre de masse effectué en ESI mode négatif (**Figure III.4**) révèle un pic d'ion à  $m/z$  301 correspondant à la formule moléculaire  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ , ainsi que la comparaison avec les données de la littérature ont permis d'identifier la quercétine.



**Figure III.4** : Spectre de masse ESI<sup>-</sup> [7] de la quercétine

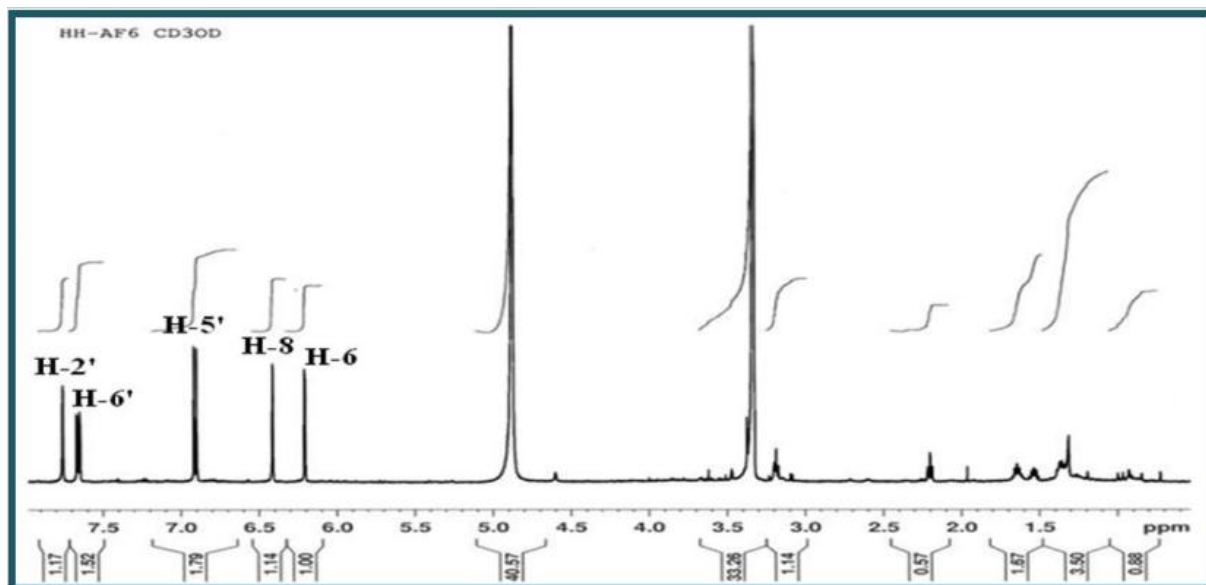


Figure III.5 : Spectre expérimentale RMN  $^1\text{H}$  [7] du quercétine

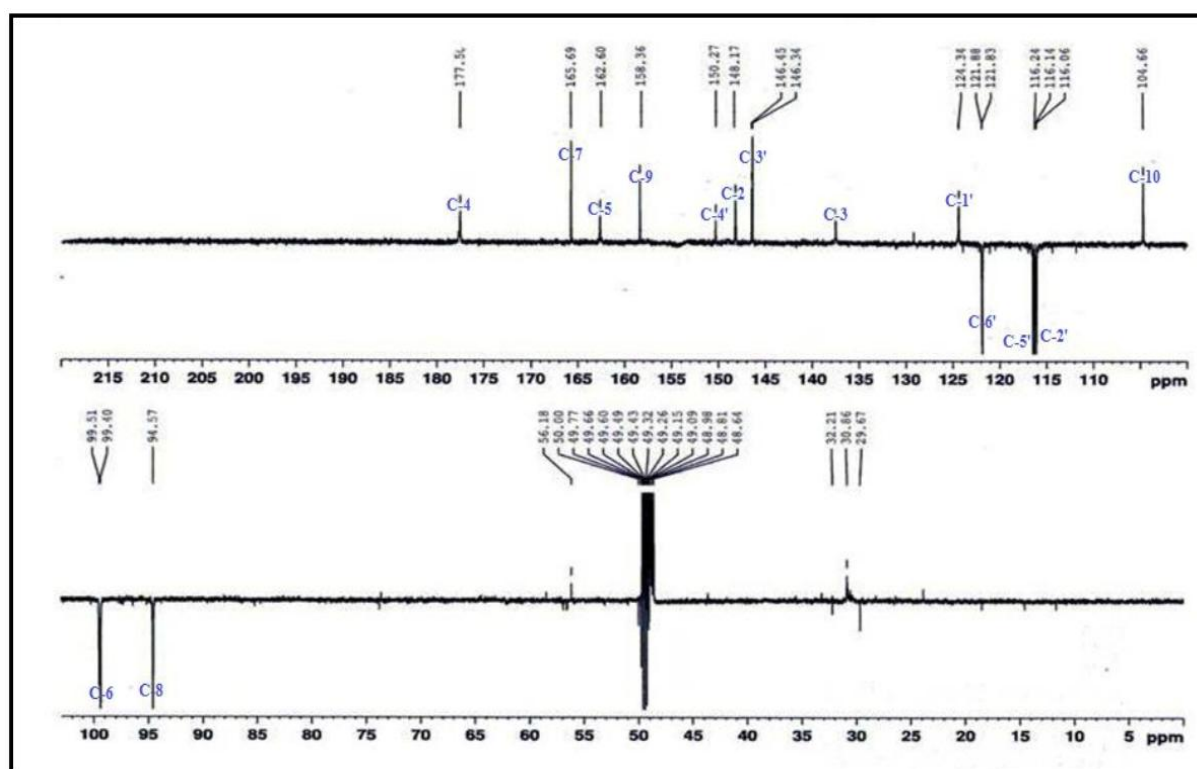


Figure III.6 : Spectre expérimentale RMN  $^{13}\text{C}$   $J$ -modulé [7] de la quercétine

Dans cette étude, des calculs DFT avec la méthode GIAO/ B3LYP/6-311+G (2d, 2p) seront effectués pour simuler les spectres RMN théoriques de la quercétine (Figure III.7, Figure III.8) en optimisant sa géométrie et en prédisant les déplacements chimiques afin de comparer avec les données expérimentales.

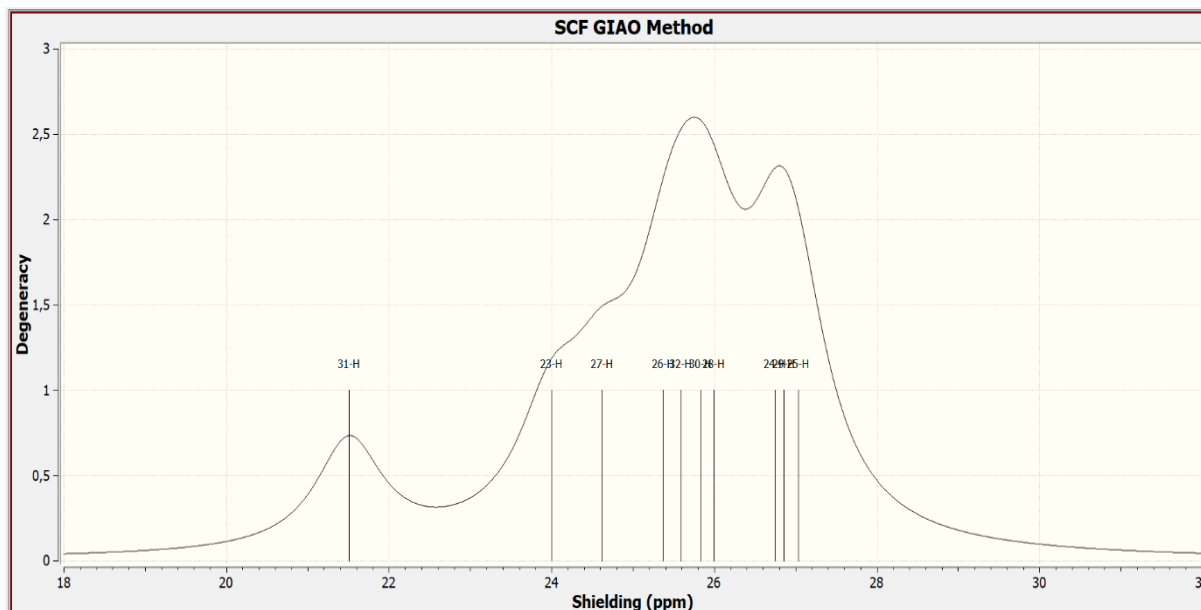


Figure III.7 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  théorique de la quercétine

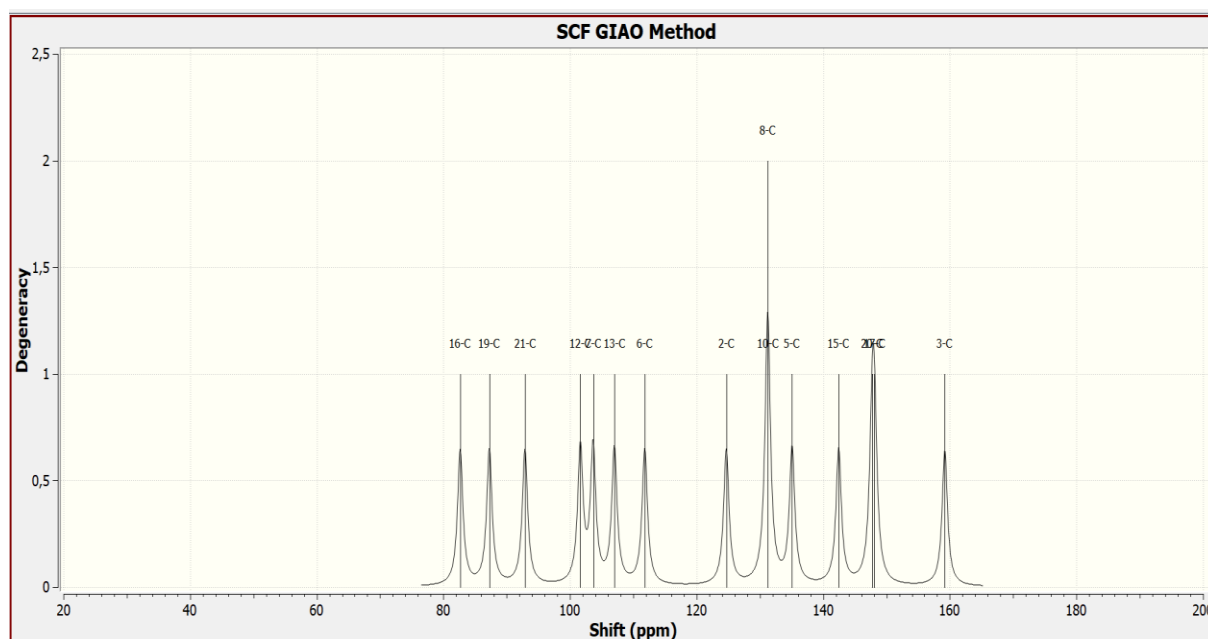


Figure III.8 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$   $J$ -modulé théorique de la quercétine

Notre étude présente une analyse comparative systématique entre les données Notre étude compare systématiquement les déplacements chimiques RMN expérimentaux ( $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ ) aux prédictions théoriques obtenues par la méthode SCF GIAO, dans différents solvants. Cette analyse précise permet de valider les modèles théoriques employés et d'extraire des informations structurales fines. Les résultats, présentés sous forme de tableaux comparatifs (Tableau III.1 et Tableau III.2) et de corrélations graphiques, démontrent la fiabilité des prédictions pour ce type de systèmes moléculaires.

Tableau III.1 : Valeurs théoriques du déplacement Chimique  $\delta_C$  de la quercétine

Numérotation selon le spectre expérimentale	Numérotation selon le spectre théorique	Valeur expérimentale du Déplacement chimique $\delta_C$ (ppm) dans MeOD	Valeur théorique du Déplacement Chimique $\delta_C$ (ppm)								
			Solvant								
			Acetone			Chloroforme			Cyclohexane		
			TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)
2	5	148.2	152.6	135.1	151.7	152.2	134.7	151.3	151.7	134.2	150.8
3	2	137.2	142.2	124.7	141.3	142.4	124.9	141.5	142.6	125.1	141.7
4	3	177.5	176.7	159.2	175.8	176.8	159.2	175.9	176.8	159.3	175.9
5	20	162.5	165.2	147.7	164.4	165.7	148.2	164.8	166.3	148.8	165.4
6	19	99.4	104.8	87.3	103.9	104.9	87.4	104.1	105.1	87.6	104.2
7	17	165.7	165.6	148.1	164.7	165.4	147.9	164.6	165.2	147.7	164.3
8	16	94.6	100.2	82.6	99.3	99.4	81.9	98.5	98.6	81.1	97.7
9	15	158.4	159.9	142.4	159.1	159.8	142.2	158.9	159.6	142.0	158.7
10	21	104.7	110.4	92.9	109.5	110.4	92.9	109.5	110.4	92.9	109.6
1'	6	124.3	129.3	111.8	128.4	129.7	112.1	128.8	130.1	112.6	129.2
2'	13	116.1	124.5	107.0	123.6	123.9	106.4	123.1	123.3	105.8	122.4
3'	12	146.3	119.1	101.6	118.3	118.4	100.9	117.5	117.6	100.0	116.7
4'	10	150.3	148.7	131.2	147.9	148.3	130.8	147.5	147.8	130.3	146.9
5'	8	116.2	148.7	131.2	147.8	148.9	131.5	148.1	149.3	131.7	148.4
6'	7	121.8	121.1	103.6	120.3	121.8	104.3	120.9	122.5	105.0	121.6

Numérotation selon le spectre expérimentale	Numérotation selon le spectre théorique	Valeur expérimentale du Déplacement chimique $\delta_c$ (ppm) dans MeOD	Valeur théorique du Déplacement Chimique $\delta_c$ (ppm)								
			Solvant								
			Methanol			THF			Eau		
			TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)
2	5	148.2	152.6	135.1	151.7	152.4	134.8	151.5	152.7	135.2	151.8
3	2	137.2	142.2	124.6	141.3	142.3	124.8	141.4	142.1	124.6	141.3
4	3	177.5	176.7	159.2	175.8	176.7	159.2	175.8	176.7	159.2	175.8
5	20	162.5	165.2	147.7	164.3	165.5	148.0	164.6	165.1	147.6	164.2
6	19	99.4	104.7	87.2	103.9	104.9	87.4	104.0	104.7	87.2	103.8
7	17	165.7	165.6	148.1	164.7	165.5	148.0	164.6	164.6	148.1	164.7
8	16	94.6	100.3	82.7	99.4	99.7	82.3	98.8	100.4	82.8	99.5
9	15	158.4	159.9	142.5	159.1	159.8	142.33	158.9	160.0	142.5	159.1
10	21	104.7	110.4	92.9	109.5	110.4	92.9	109.5	110.4	92.9	109.5
1'	6	124.3	129.3	111.7	128.4	129.5	112.0	128.6	129.2	111.7	128.3
2'	13	116.1	124.6	107.1	123.7	124.2	106.7	123.3	124.7	107.2	123.8
3'	12	146.3	119.2	101.7	118.4	118.7	101.2	117.8	119.35	101.8	118.5
4'	10	150.3	148.8	131.3	147.9	148.5	131.0	147.6	148.8	131.3	148.0
5'	8	116.2	148.7	131.2	147.8	148.8	131.3	147.9	148.6	131.3	147.7
6'	7	121.8	121.1	103.5	120.2	121.5	104.0	120.6	121.0	103.5	120.1

L'analyse comparative des déplacements chimiques  $\delta_C$  des atomes de carbone de la quercétine dans différents solvants révèle une sensibilité marquée aux interactions soluté-solvant, avec des variations atteignant 2.1 ppm selon la polarité du milieu. En effet, les solvants polaires protiques (eau, méthanol) induisent un blindage des carbones, en particulier au niveau des atomes de carbone porteurs ou voisins de groupes hydroxyles (C3', C4', C5'), conduisant à une diminution relative des valeurs de déplacement chimique  $\delta_C$  de 0.5-1.5 ppm. Ce phénomène peut s'expliquer par la formation de liaisons hydrogène entre les groupements hydroxyles de la quercétine et les molécules de solvant, qui modifient le champ magnétique local.

À l'inverse, dans des solvants apolaires (cyclohexane, chloroforme) les valeurs du déplacement chimique  $\delta_C$  sont globalement plus élevées, ce qui traduit un environnement électronique moins perturbé par des interactions de solvation.

Le carbone carbonyle en position C4, qui présente le déplacement chimique le plus élevé ( $\delta_C=177.5$  ppm), reste peu sensible à la nature du solvant, ce qui est cohérent avec son caractère fortement électroattracteur et sa faible implication dans des interactions intermoléculaires.

La comparaison entre les méthodes B3LYP/6-311++G(2d,p) et HF/6-31G(d) montre clairement que Les calculs de déplacements chimiques en RMN ne sont pas tous égaux en termes de précision. Les résultats de la méthode Hartree-Fock (HF) doivent être interprétés avec prudence. En effet, elle surestime souvent les déplacements chimiques de plusieurs ppm, notamment parce qu'elle ne tient pas compte de la corrélation électronique. En revanche, la B3LYP offre des prédictions bien plus fiables, avec des erreurs généralement inférieures à 2 ppm par rapport aux valeurs expérimentales. Cette amélioration s'explique par une meilleure description des effets électroniques, notamment la polarisation des liaisons et les interactions de dispersion. La base 6-311++G(2d,p), plus complète que le 6-31G(d), contribue aussi à cette précision en capturant plus finement la densité électronique autour des noyaux [8].

Enfin, Cette analyse montre bien que le choix de la méthode dépend avant tout des besoins : rapidité ou précision. Mais les résultats obtenus à l'aide de la méthode DFT B3LYP/6-311++G(2d,p) montrent une meilleure concordance avec les données expérimentales, soulignant la pertinence de ce niveau de calcul pour modéliser les effets de solvation sur les propriétés électroniques de la quercétine.

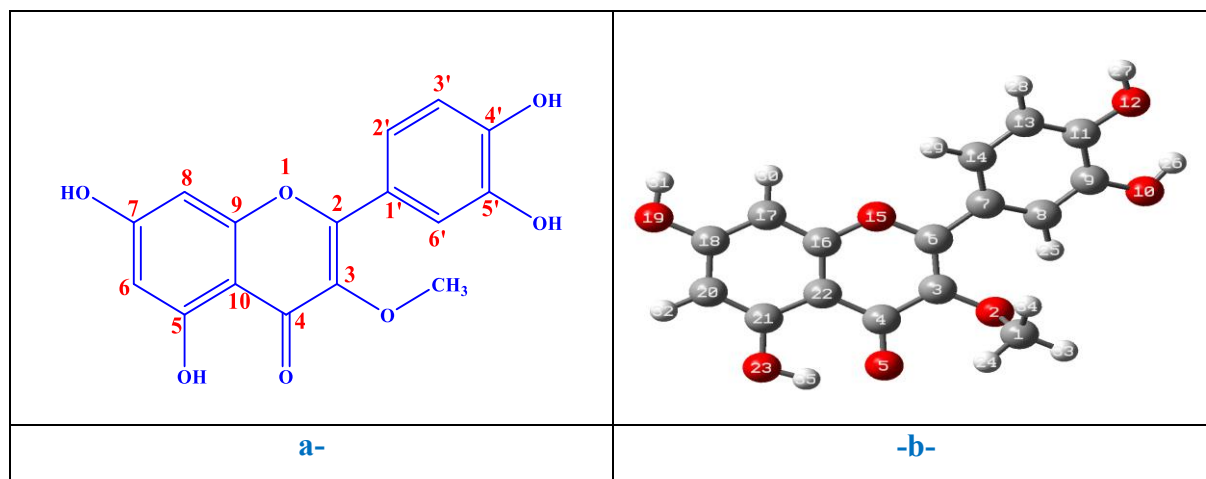
Tableau III.2 : Valeurs théoriques du déplacement Chimique  $\delta_H$  de la quercétine

Numérotation selon le spectre expérimentale	Numérotation selon le spectre théorique	Valeur expérimentale du Déplacement chimique $\delta_H$ (ppm) dans MeOD	Valeur théorique du Déplacement Chimique $\delta_H$ (ppm)											
			Solvant											
			Acetone		Chloroforme		Cyclohexane		Methanol		THF		Eau	
			TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	<b>30</b>	<b>6.20</b>	6.76	6.05	6.78	6.06	6.79	6.07	6.76	6.04	6.77	6.05	6.76	6.04
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	<b>28</b>	<b>6.40</b>	6.60	5.88	6.46	5.74	6.28	5.56	6.62	5.91	6.52	5.80	6.64	5.93
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2'	<b>27</b>	<b>7.75</b>	7.97	7.26	7.89	7.18	7.80	7.09	7.98	7.27	7.93	7.21	8.00	7.28
3'	<b>26</b>	-	7.22	6.51	7.09	6.37	6.92	6.21	7.24	6.53	7.15	6.43	7.26	6.55
4'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5'	<b>24</b>	<b>6.90</b>	5.84	5.13	5.77	5.05	5.66	4.94	5.85	5.14	5.80	5.08	5.87	5.15
6'	<b>23</b>	<b>7.65</b>	8.60	7.88	8.66	7.95	11.17	8.02	8.59	7.87	8.63	7.92	5.58	7.87

L'étude des déplacements chimiques des protons  $\delta_H$  de la quercétine dans différents solvants révèle une forte sensibilité aux effets de solvation, en particulier pour les protons phénoliques et aromatiques. Les solvants polaires exercent des effets distincts sur l'environnement électronique des atomes d'hydrogène. Les protons hydroxyles, notamment ceux en position 3, 5 et 7, montrent des déplacements chimiques plus élevés "un déblindage" (entre 6 et 8,5 ppm), en raison de leur implication potentielle dans des liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires. Cette tendance est particulièrement marquée pour le proton en position 6', dont le déplacement atteint 8,60 ppm dans l'acétone (calcul B3LYP), ce qui traduit un fort déblindage causé par des interactions avec le solvant. En revanche, dans des solvants apolaires comme le cyclohexane, les déplacements chimiques calculés sont généralement plus faibles, témoignant d'un blindage accru dû à l'absence d'interactions hydrogène significatives. Les protons aromatiques situés en position 2', 3', 4' ou 5' présentent des variations plus modérées, oscillant entre 6,0 et 7,9 ppm selon le solvant et la méthode de calcul utilisée.

La méthode HF/6-31G(d) présente une précision modérée, avec des erreurs systématiques comprises entre 0.5 et 1.5 ppm. Elle tend à surestimer les déplacements chimiques, particulièrement pour les protons aromatiques (H2': à 7.97 ppm vs 7.75 ppm expérimental). La méthode B3LYP/6-311+G(2d,p) offre des résultats nettement plus précis, avec des écarts moyens réduits à 0.1-0.4 ppm. Ces résultats confirment que la polarité et la capacité du solvant à former des liaisons hydrogène influencent fortement les déplacements chimiques des protons, et que la méthode DFT B3LYP/6-311+G(2d,p) permet de mieux prédire ces effets en tenant compte de la délocalisation électronique et des interactions soluté-solvant.

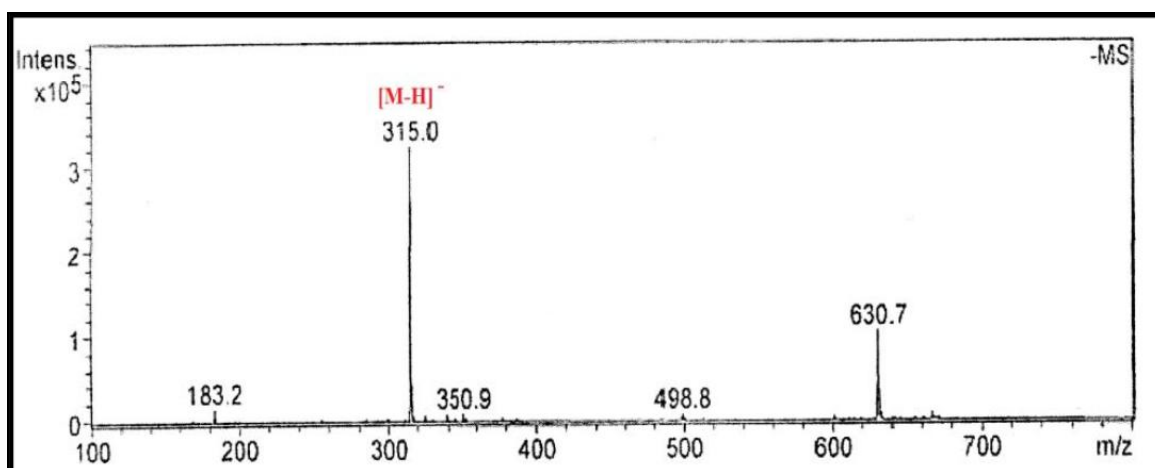
### III-1- 3- Etude spectroscopique comparative de la 3-méthoxyquercétine



**Figure III.9** : Numérotation expérimentale -a- et théorique -b- de la 3-méthoxyquercétine

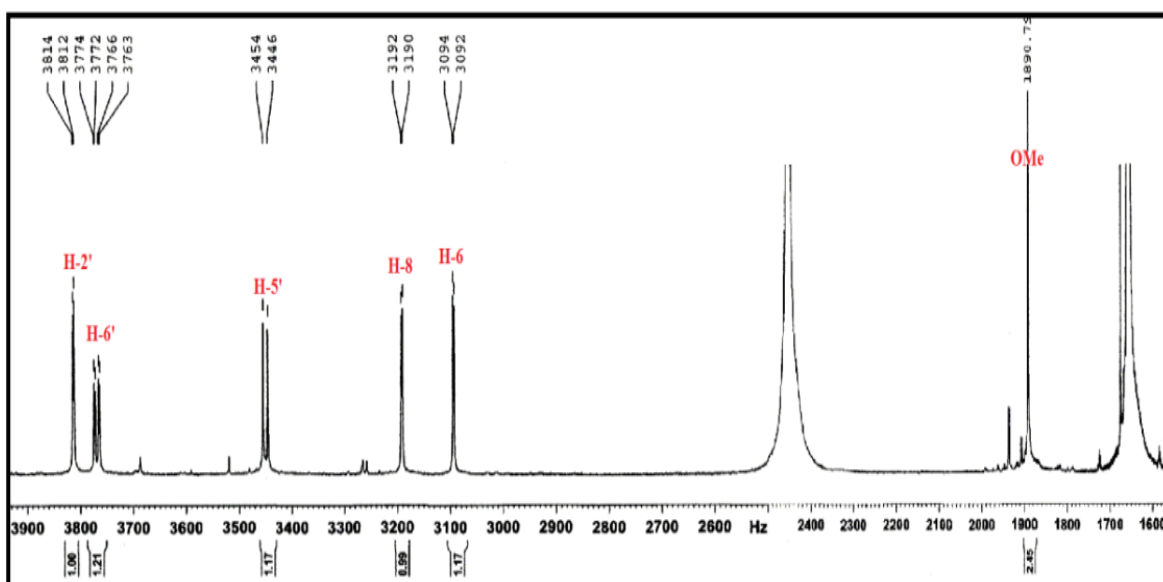
L'identification de la 3-méthoxyquercétine a été réalisée par une combinaison de techniques analytiques complémentaires.

Le spectre de masse ESI en mode négatif (**Figure III.10**) a révélé un pic moléculaire à  $m/z$  315 soit une masse moléculaire égale à 316 uma caractéristique de la masse moléculaire de la 3-méthoxyquercétine ( $C_{16}H_{12}O_7$ ).



**Figure III.10** : Spectre de masse ESI<sup>-</sup> [7] de la 3-méthoxyquercétine

Le spectre RMN  $^1H$  (**Figure III.11**) de ce composé montre une forte similitude avec celui du quercétine. La seule différence remarquable réside dans l'apparition d'un signal singulet résonant à 3,78 ppm, attestant la présence d'un groupement méthoxyle  $OCH_3$ .



**Figure III.11** : Spectre RMN  $^1H$  (500 MHz, MeOD) [7] expérimentale de la 3-méthoxyquercétine

Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (Figure III.12) montre clairement tous les signaux des carbones de la quercétine, à l'exception de la valeur du  $\delta_{\text{C}}$  du carbone C-2 est de l'ordre de 158,1 ppm au lieu de 148,2 ppm dans le cas de la quercétine. Le déblindage important de l'ordre de + 9,9 ppm de ce signal, traduit une substitution à ce niveau par le groupement méthoxyle  $\text{OCH}_3$  ( $\delta_{\text{C}}$  à 60,6ppm).

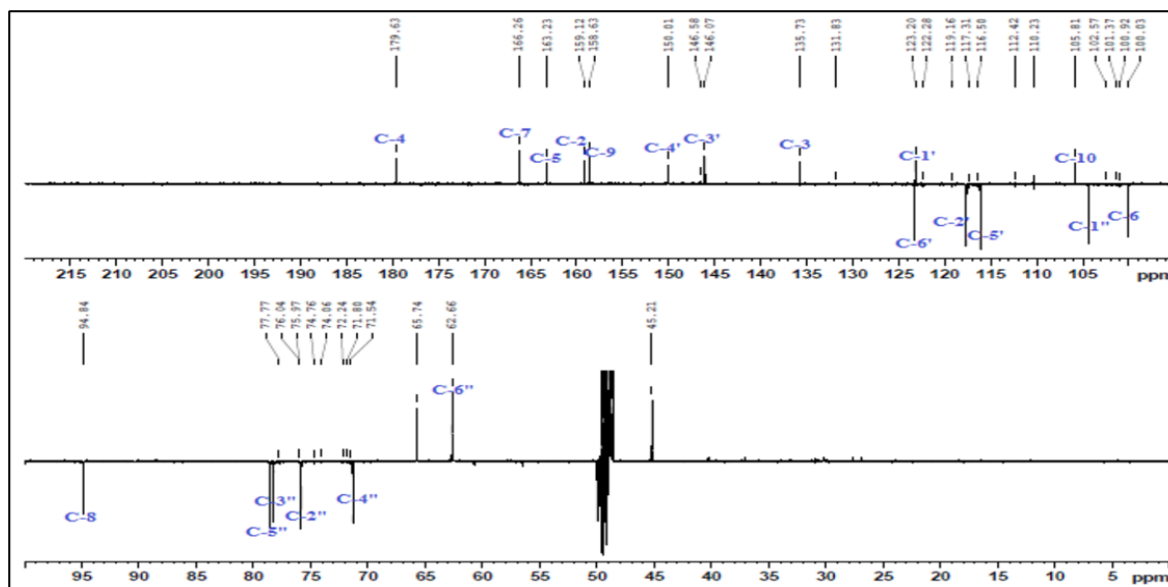


Figure III.12 : Spectres RMN  $^{13}\text{C}$   $J$ -modulé [7] expérimentale de la 3-méthoxyquercétine

L'étude théorique nous a permis d'obtenir les spectres RMN théoriques ( Figure III.13, Figure III.14) de la 3-méthoxyquercétine suivants :

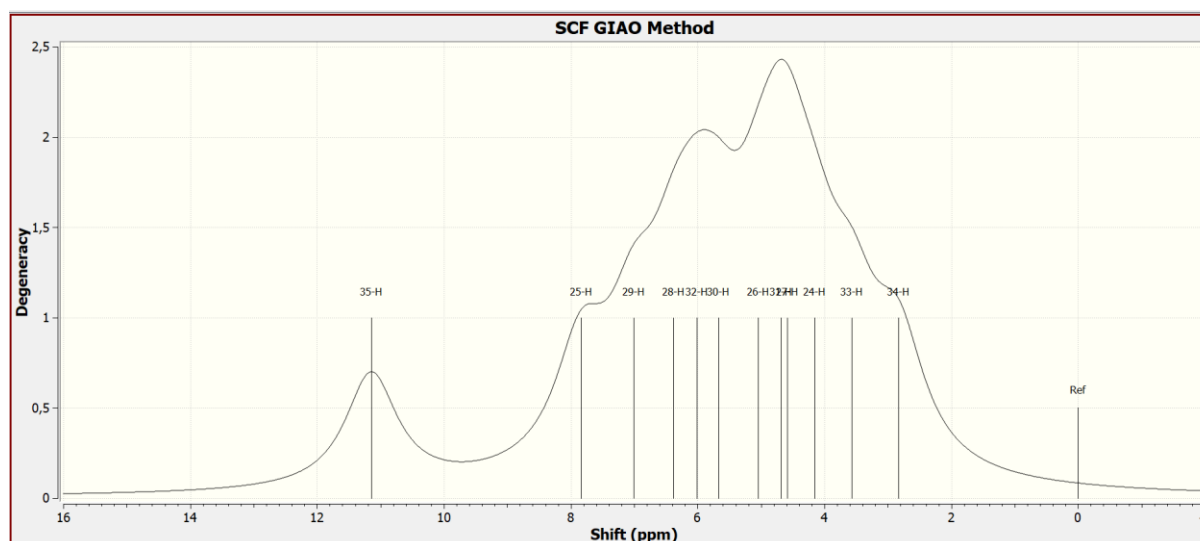
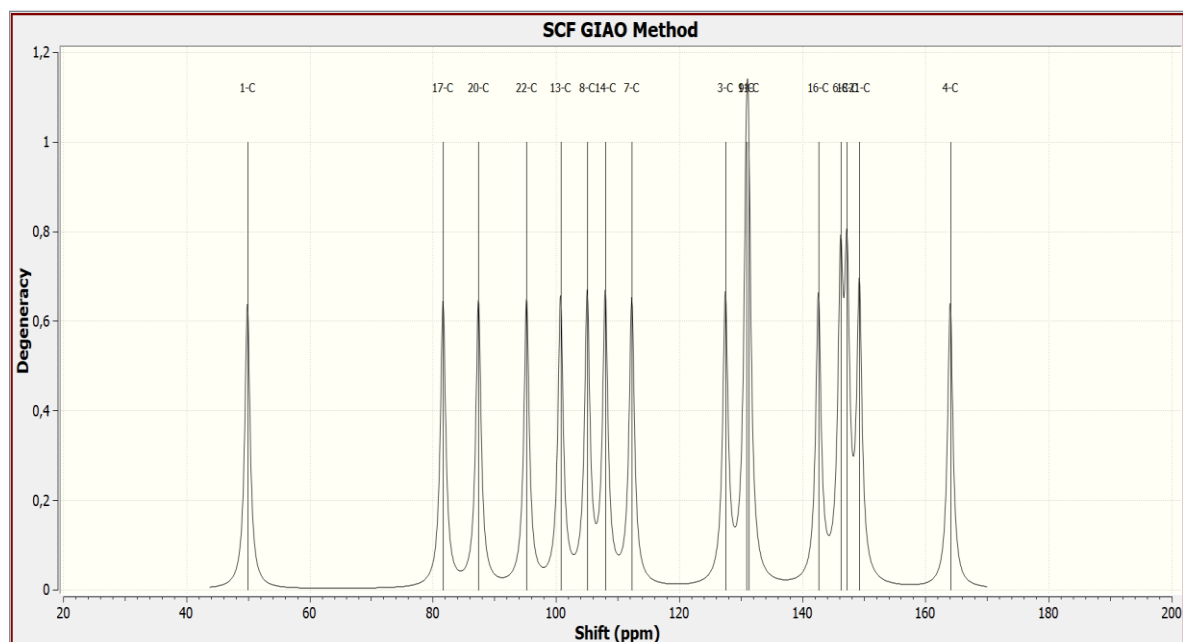


Figure III.13: Spectre RMN  $^1\text{H}$  [7] théorique de la 3-méthoxyquercétine



**Figure III.14 :** Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  *J*-modulé [7] théorique de la 3-méthoxyquercétine

Les données expérimentales des déplacements chimiques  $\delta_{\text{C}}$  montrent une bonne corrélation avec les valeurs théoriques regroupés dans **Tableau III.3**, particulièrement lorsque la méthode B3LYP/6-311+G(2d,p) est employée, confirmant sa supériorité par rapport à HF/6-31G(d) pour prédire les déplacements chimiques.

L'influence du solvant apparaît clairement dans les résultats. Les solvants polaires (eau, méthanol) provoquent des variations plus marquées des déplacements chimiques  $\delta_{\text{C}}$ , particulièrement pour les carbones liés à des groupes fonctionnels polaires (C=O, -OH, -OMe). Ce phénomène s'explique par les fortes interactions soluté-solvant, notamment par formation de liaisons hydrogène [9]. À l'inverse, les solvants apolaires montrent des effets plus modestes, avec des valeurs se rapprochant des calculs en phase aqueuse.

Certains carbones présentent des comportements caractéristiques. Le carbone carbonyle (C4 ~180 ppm) montre une stabilité remarquable dans tous les solvants, reflétant son environnement électronique peu sensible aux effets de solvation. En revanche, le carbone méthoxylé (3-OMe, ~60-68 ppm) et les carbones aromatiques hydroxylés présentent des variations plus importantes, particulièrement en milieu polaire, témoignant de leur participation active aux interactions avec le solvant.

Tableau III.3 : Valeurs théoriques du déplacement Chimique  $\delta_C$  de la 3-méthoxyquercétine

Numérotation selon le spectre expérimentale	Numérotation selon le spectre théorique	Valeur expérimentale du Déplacement chimique $\delta_C$ (ppm) dans MeOD	Valeur théorique du Déplacement Chimique $\delta_C$ (ppm)								
			Solvant								
			Acetone			Chloroforme			Cyclohexane		
			TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)
2	6	158.1	164.5	147.0	163.7	163.7	146.2	162.8	162.7	145.2	161.8
3	3	139.7	144.8	127.3	143.9	145.0	127.5	144.1	145.3	127.8	144.4
4	4	180.1	181.7	164.2	180.8	181.5	164.0	180.7	181.4	163.8	180.5
5	21	163.2	166.3	148.8	165.4	166.8	149.3	165.9	167.3	149.8	166.4
6	20	100.2	104.8	87.3	103.9	104.9	87.4	104.0	105.0	87.5	104.2
7	18	166.9	165.0	147.5	164.1	164.8	147.3	163.9	164.5	146.9	163.6
8	17	95.0	100.0	82.5	99.1	99.2	81.7	98.3	98.3	80.8	97.4
9	16	158.6	160.3	142.7	159.4	160.1	142.6	159.2	159.9	142.4	159.1
10	22	105.8	112.7	95.2	111.9	112.7	95.2	111.9	112.7	95.2	111.9
1'	7	123.1	129.3	111.8	128.5	129.8	112.3	128.9	130.4	112.9	129.6
2'	8	122.5	121.9	104.4	121.0	122.6	105.1	121.7	123.2	105.7	123.2
3'	9	146.7	148.3	130.8	147.4	148.4	130.9	147.5	148.6	131.1	147.7
4'	11	150.2	149.3	131.8	148.5	148.8	131.3	147.9	148.1	130.6	147.2
5'	13	116.6	119.0	101.5	118.1	118.3	100.7	117.4	117.4	99.9	116.5
6'	14	116.6	126.2	108.7	125.3	125.5	108.0	124.6	124.8	107.3	123.9
3-OMe	1	60.7	67.77	50.2	66.9	67.4	49.9	66.5	67.1	49.6	67.1

Numérotation selon le spectre expérimentale	Numérotation selon le spectre théorique	Valeur expérimentale du Déplacement chimique $\delta_c$ (ppm) dans MeOD	Valeur théorique du Déplacement Chimique $\delta_c$ (ppm)								
			Solvant								
			Methanol			THF			Eau		
			TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)
2	6	158.1	164.6	147.1	163.8	164.1	146.6	163.2	164.7	147.2	163.8
3	3	139.7	144.8	127.2	143.9	144.9	127.4	144.0	144.7	127.2	143.8
4	4	180.1	181.7	164.2	180.9	181.6	164.1	180.7	181.7	164.2	180.9
5	21	163.2	166.3	148.7	165.4	166.6	149.1	165.7	166.2	148.7	165.3
6	20	100.2	104.8	87.3	103.9	104.9	87.4	104.0	104.8	87.3	103.9
7	18	166.9	165.1	147.6	164.2	164.9	147.4	164.0	165.1	147.6	164.2
8	17	95.0	100.1	82.6	99.2	99.5	82.0	98.6	100.2	82.7	99.3
9	16	158.6	160.3	142.8	159.4	160.2	142.7	159.3	160.3	142.8	159.4
10	22	105.8	112.7	95.2	111.9	112.7	95.2	111.8	112.7	95.2	111.8
1'	7	123.1	129.3	111.8	128.4	129.6	112.1	128.7	129.2	111.7	128.3
2'	8	122.5	121.8	104.3	120.9	122.3	104.8	121.4	121.7	104.2	120.8
3'	13	146.7	119.1	101.6	118.2	118.6	101.1	117.7	119.2	101.7	118.8
4'	11	150.2	149.4	131.9	148.5	149.0	131.5	148.1	149.5	131.9	148.6
5'	9	116.6	148.3	130.8	147.4	148.4	130.9	147.5	148.3	130.7	147.4
6'	14	116.6	126.3	108.8	125.4	125.8	108.3	124.9	126.4	108.9	125.5
3-OMe	1	60.7	67.8	50.3	66.9	67.6	50.0	66.7	67.9	50.4	67.0

L'étude des déplacements chimiques des protons de la 3-méthoxyquercétine montre que la nature du solvant a une influence particulièrement pour les protons situés à proximité de groupes fonctionnels polaires. Les solvants polaires induisent des déplacements vers les champs faibles, avec des  $\delta_H$  augmentés de 0.2 à 0.5 ppm par rapport aux solvants apolaires. Les protons aromatiques (H6, H8, H2') montrent la réponse la plus prononcée, un comportement qui s'explique par deux phénomènes complémentaires :

1. La formation de liaisons hydrogène entre les groupements hydroxyle de la molécule et les solvants polaires.
2. Les interactions dipolaires qui modifient l'environnement électronique local.

Ces effets conjugués entraînent une redistribution de la densité électronique autour des noyaux concernés, se traduisant par des déplacements chimiques caractéristiques.

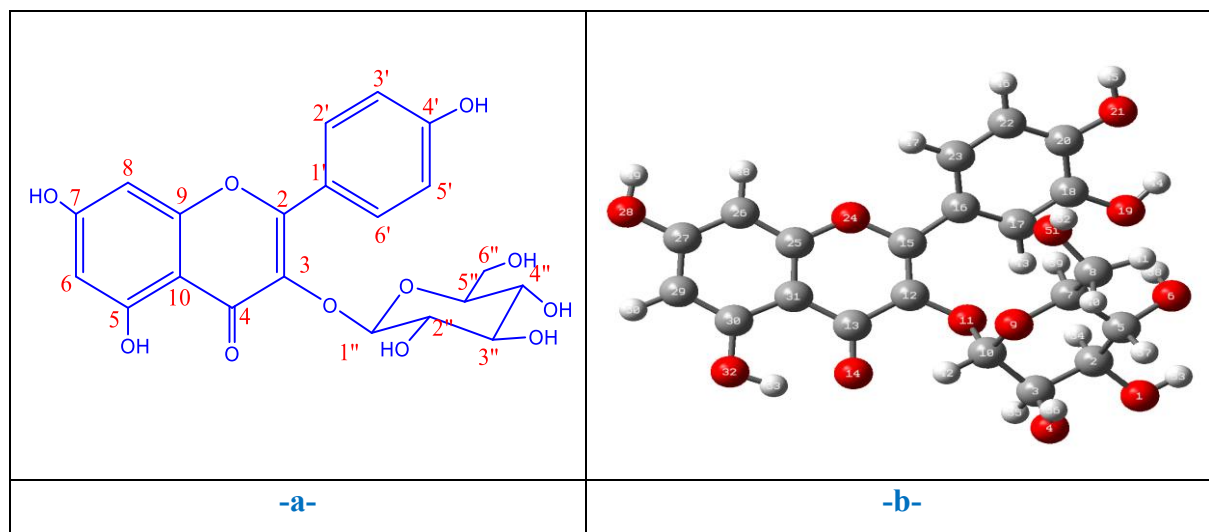
Le proton méthoxy (3-OMe) présente un comportement particulier : son déplacement chimique varie peu (3.78 ppm exp. vs 2.75-3.65 ppm théorique), confirmant sa moindre sensibilité aux effets de solvant. Cette observation est cohérente avec son environnement chimique plus isolé.

La comparaison entre les méthodes de calcul théoriques HF/6-31G(d) et B3LYP/6-311+G(2d,p) démontre la supériorité de la méthode B3LYP, avec des écarts moyens de seulement 0.1-0.4 ppm contre 0.5-1.5 ppm pour la méthode HF. Cette supériorité est particulièrement visible pour les protons H5' et H6', où la B3LYP capture mieux les effets de conjugaison.

Tableau III.4 : Valeurs théoriques du déplacement Chimique  $\delta_H$  de la 3-méthoxyquercétine

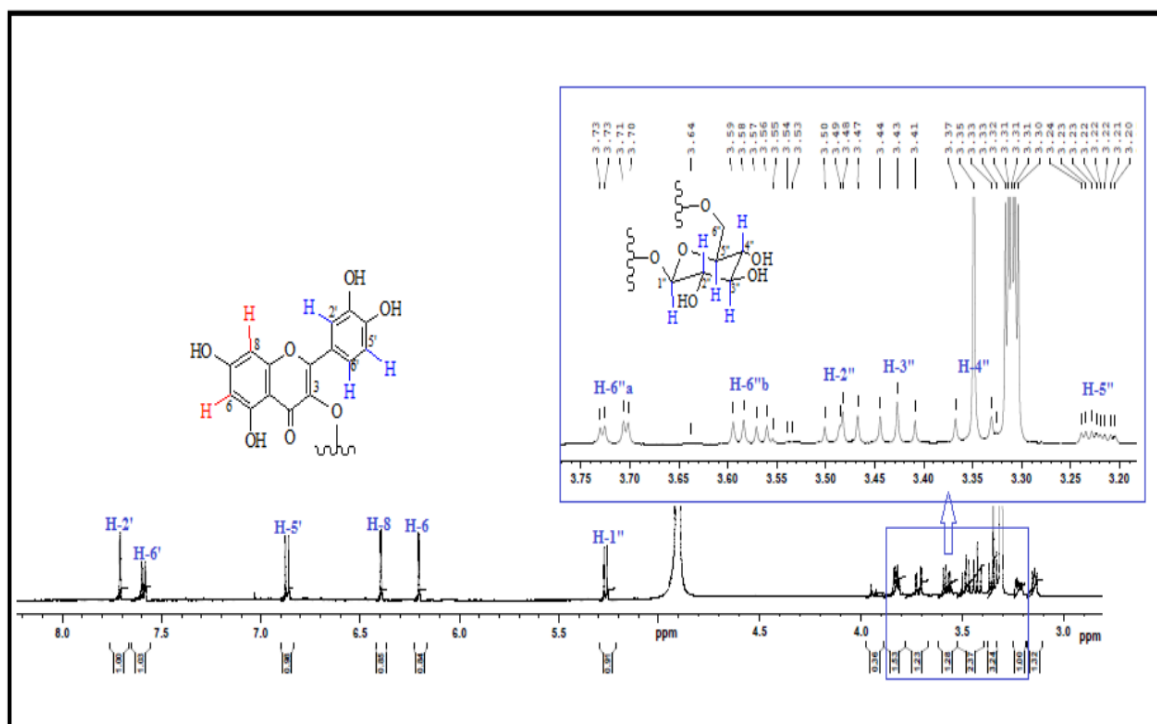
Numérotation selon le spectre expérimentale	Numérotation selon le spectre théorique	Valeur expérimentale du Déplacement chimique $\delta_H$ (ppm) dans MeOD	Valeur théorique du Déplacement Chimique $\delta_H$ (ppm)											
			Solvant											
			Acetone		Chloroforme		Cyclohexane		Methanol		THF		Eau	
			TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	32	6.19	6.72	6.01	6.73	6.01	6.73	6.01	6.72	6.00	6.73	6.01	6.72	6.00
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	30	6.40	6.54	5.82	6.38	5.67	6.20	5.49	6.56	5.84	6.45	5.73	6.58	5.86
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2'	29	7.63	7.81	7.09	7.72	7.01	7.65	6.94	7.82	7.11	7.76	7.04	7.83	7.12
3'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5'	26	6.90	5.84	5.13	5.75	5.01	5.63	4.92	5.85	5.14	5.80	5.08	5.87	5.15
6'	25	7.52	8.52	7.80	8.55	7.83	8.61	7.89	8.51	7.80	8.54	7.82	8.51	7.79
3-OMe	34	3.78	3.62	2.91	3.54	2.83	3.47	2.75	3.63	2.92	3.58	2.86	3.65	2.93
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

## III-1- 4- Etude spectroscopique comparative de l'isoquercétine



**Figure III.15** : Numérotation expérimentale -a- et théorique -b- de l'isoquercétine

L'analyse des spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$   $J$ -modulé (Figures III.16 et Figures III.17) montre clairement que ce composé est une quercétine glycosylée.



**Figure III.16** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  [7] expérimentale de l'isoquercétine

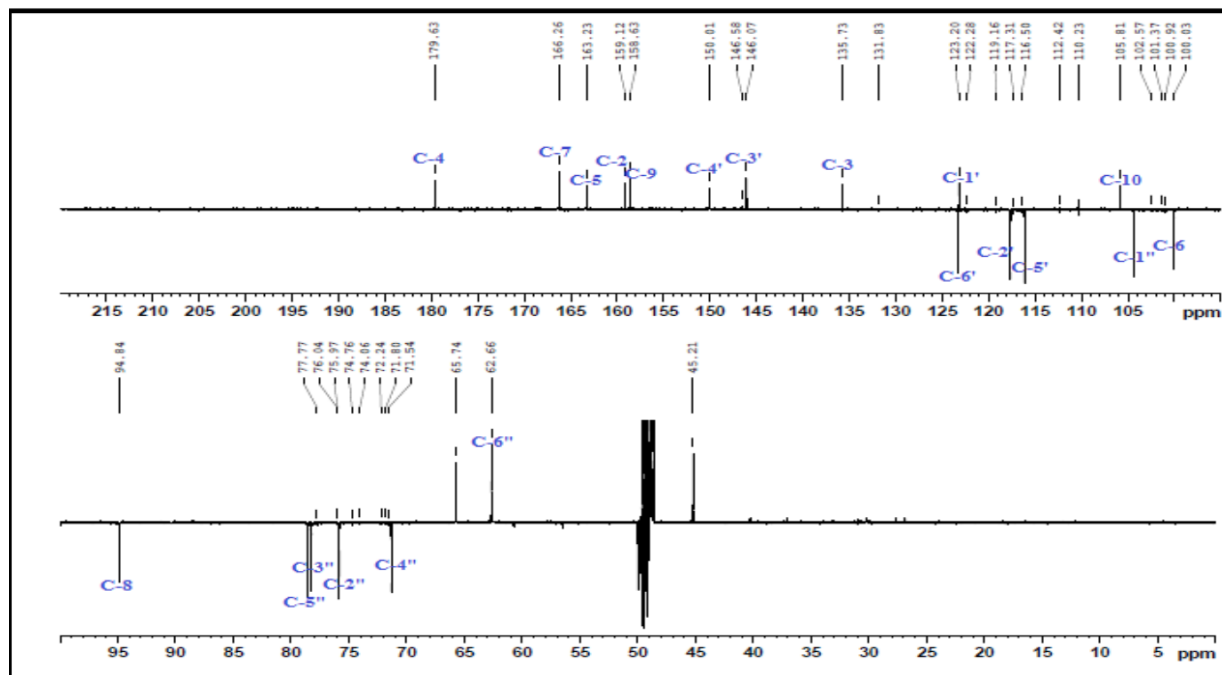


Figure III.17 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  [7] expérimentale de l'isoquercétine

L'étude théorique en appliquant la méthode GIAO/ B3LYP/6-311+G (2d, 2p) nous a permis d'obtenir les spectres RMN théoriques (Figure III.18, Figure III.19) de l'isoquercétine suivants :

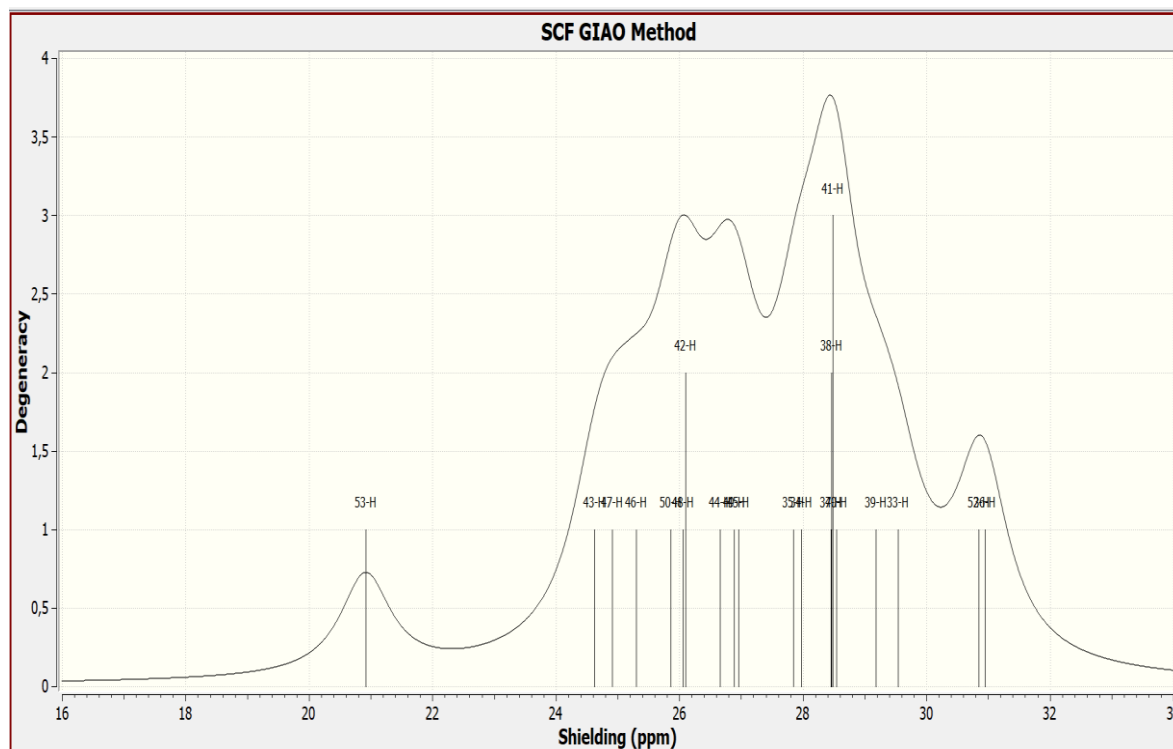
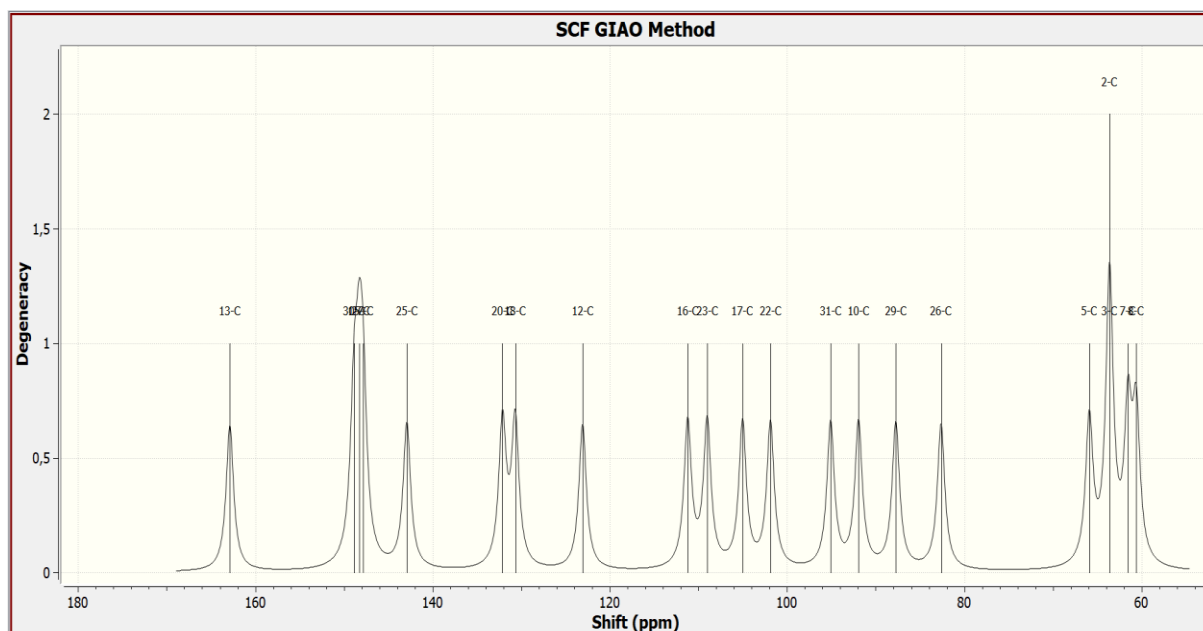


Figure III.18 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  [7] théorique de l'isoquercétine



**Figure III.19 :** Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  [7] théorique de l'isoquercétine

Les déplacements chimiques des carbones de l'isoquercétine varient sensiblement en fonction de la polarité du solvant utilisé. Dans les solvants polaires, les carbones liés à des groupes fonctionnels polaires, tels que les carbonyles ( $\text{C}=\text{O}$ ) ou les hydroxyles ( $\text{OH}$ ), présentent des déplacements chimiques plus élevés à l'inverse, dans des solvants apolaires, les déplacements chimiques des carbones polaires sont généralement plus faibles.

Les carbones aromatiques, comme  $\text{C}2'$  et  $\text{C}6'$ , montrent des déplacements moins sensibles au solvant, mais des différences subtiles de 1 à 3 ppm peuvent être observées entre les solvants polaires et apolaires. Ces variations témoignent de la délocalisation électronique dans le cycle aromatique. Enfin, les carbones du cycle glucosyle ( $\text{C}1''$  à  $\text{C}6''$ ) présentent des déplacements chimiques qui varient significativement selon le solvant. Ces différences pourraient être attribuées à des changements conformationnels ou à des interactions spécifiques entre le solvant et les groupes hydroxyle du glucose.

La méthode B3LYP/6-311+G(2d,p) fournit généralement des résultats plus proches des données expérimentales que la méthode HF/6-31G(d).

Tableau III.5 : Valeur théorique du déplacement Chimique  $\delta_c$  de l'isoquercétine

Numérotation selon le spectre expérimentale	Numérotation selon le spectre théorique	Valeur expérimentale du Déplacement chimique $\delta_c$ (ppm) dans MeOD	Valeur théorique du Déplacement Chimique $\delta_c$ (ppm)								
			Solvant								
			Acetone			Chloroforme			Cyclohexane		
			TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)
2	15	159.1	165,80	148,28	164,91	162,92	145,40	162,03	161,91	144,39	161,03
3	12	135.7	140,59	123,07	139,70	141,90	124,38	141,01	142,26	124,74	141,37
4	13	179.6	180,39	162,87	179,50	180,20	162,68	179,32	180,03	162,51	179,14
5	30	163.2	166,37	148,85	165,48	166,79	149,27	165,91	167,33	149,81	166,45
6	29	100.0	105,25	87,73	104,36	105,36	87,83	104,47	105,48	87,96	104,59
7	27	166.3	165,36	147,84	164,47	165,19	147,67	164,31	164,90	147,38	164,02
8	26	94.8	100,14	82,62	99,25	99,29	81,77	98,40	98,37	80,85	97,49
9	25	158.6	160,42	142,90	159,53	160,02	142,50	159,14	159,84	142,32	158,95
10	31	105.8	112,60	95,08	111,72	112,53	95,01	111,64	112,55	95,03	111,67
1'	16	123.2	128,73	111,21	127,84	128,66	111,14	127,77	129,25	111,73	128,37
2'	23	117.3	126,53	109,01	125,64	126,94	109,42	126,05	126,42	108,90	125,53
3'	22	146.1	119,39	101,87	118,51	119,22	101,70	118,33	118,52	101	117,64
4'	20	150.0	149,62	132,10	148,74	149,13	131,61	148,25	148,54	131,02	147,66
5'	18	116.5	148,19	130,67	147,30	147,37	129,85	146,49	147,35	129,83	146,46
6'	17	123.2	122,54	105,05	121,65	122,90	105,38	122,01	123,18	105,66	122,29
1''	10	104.5	109,45	91,93	108,57	110,30	92,78	109,41	110,54	93,02	109,66
2''	3	75.9	81,15	63,63	80,26	81,26	63,74	80,37	81,09	63,57	80,21
3''	2	78.2	81,12	63,60	80,23	82,19	64,67	81,30	82,24	64,72	81,35
4''	5	71.5	83,42	65,90	82,53	86,07	68,55	85,93	86,14	68,62	85,25
5''	7	78.5	79,05	61,53	78,16	83,94	66,43	83,06	83,99	66,47	83,11
6''	8	62.6	78,13	60,61	77,24	79,16	61,64	78,28	79,29	61,77	78,41

Numérotation selon le spectre expérimentale	Numérotation selon le spectre théorique	Valeur expérimentale du Déplacement chimique $\delta C$ (ppm) dans MeOH	Valeur théorique du Déplacement Chimique $\delta c$ (ppm)								
			Solvant								
			Methanol			THF			Eau		
			TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G (2d,p)	CH4 HF/6-31G(d)
2	15	159.1	165,89	148,37	165,00	163,31	145,79	162,43	165,60	148,08	164,71
3	12	135.7	140,57	123,06	139,69	141,78	124,26	140,90	141,23	123,71	140,35
4	13	179.6	180,40	162,88	179,51	180,26	162,74	179,37	180,00	162,88	179,51
5	30	163.2	166,30	148,78	165,42	166,58	149,06	165,70	166,22	148,70	165,34
6	29	100.0	105,23	87,71	104,34	105,29	87,77	104,41	105,20	87,68	104,31
7	27	166.3	165,40	147,88	164,51	165,30	147,78	164,42	165,47	147,95	164,59
8	26	94.8	100,25	82,73	99,37	99,64	82,12	98,76	100,37	82,85	99,49
9	25	158.6	160,44	142,92	159,56	160,10	142,58	159,21	160,43	142,91	159,54
10	31	105.8	112,60	95,08	111,71	112,51	94,99	111,63	112,54	95,02	111,66
1'	16	123.2	128,68	111,16	127,8	128,48	110,96	127,59	128,61	111,09	127,73
2'	23	117.3	126,66	109,14	125,77	127,15	109,63	126,26	126,97	109,45	126,09
3'	22	146.1	119,49	101,97	118,61	119,46	101,94	118,57	119,67	102,15	118,79
4'	20	150.0	149,67	132,15	148,79	149,33	131,81	148,44	149,58	132,06	148,70
5'	18	116.5	148,14	130,62	147,26	147,39	129,87	146,50	148,07	130,55	147,19
6'	17	123.2	122,49	104,97	121,60	122,80	105,28	121,92	122,36	104,84	121,48
1''	10	104.5	109,47	91,95	108,59	110,25	92,73	109,36	110,46	92,94	109,57
2''	3	75.9	81,17	63,65	80,28	81,32	63,80	80,43	81,89	64,37	81
3''	2	78.2	81,15	63,63	80,26	82,19	64,67	81,31	82,24	64,72	81,36
4''	5	71.5	83,40	65,88	82,51	86,03	68,51	85,14	84,91	67,39	84,02
5''	7	78.5	79,07	61,55	78,19	83,92	66,40	83,03	82,87	65,35	81,98
6''	8	62.6	78,08	60,56	77,20	79,08	61,56	78,19	77,59	60,07	76,70

Les protons aromatiques présentent une sensibilité marquée à la polarité du solvant, se traduisant par des variations significatives de leur déplacement chimique ( $\delta_H$ ). Ces modifications reflètent les changements de leur environnement électronique induits par le solvant. Lorsque des solvants polaires (eau, MeOH) sont utilisés, les protons aromatiques subissent un déblindage accru. Par exemple, pour le proton 2' ( $\delta_H \text{ exp} = 7.71 \text{ ppm}$ ), ses valeurs théoriques varient de 6.97 ppm à 7.86 ppm, ce phénomène résulte principalement des interactions solvant- $\pi$ , notamment par la formation de liaisons hydrogène ou des effets de champ électrique, qui stabilisent les charges partielles et déplacent les signaux vers des champs plus faibles. À l'inverse, dans des solvants apolaires, ces effets d'interaction sont atténués, conduisant à des déplacements chimiques moins prononcés

Les protons glycosylés (1'', 2'', 3'', 4'', 5'', 6'') présentent un déblindage marqué avec les solvants polaires, se manifestant par des valeurs de  $\delta_H$  plus élevées. Ce phénomène résulte des fortes interactions par liaisons hydrogène entre les groupes hydroxyle (-OH) des sucres et les molécules de solvant. À l'inverse, dans des solvants apolaires comme le chloroforme ou le THF, les déplacements chimiques sont nettement plus faibles car les interactions par liaisons hydrogène sont considérablement réduites.

La méthode B3LYP/6-311+G(2d,p) montre un meilleur accord avec les données expérimentales que HF/6-31G(d), notamment pour les protons aromatiques et hydroxyle, où B3LYP intègre mieux les effets de corrélation électronique et de solvation.

Certains protons, comme 1'' ( $\delta_H \text{ exp} = 5.26 \text{ ppm}$ ), présentent des écarts importants même avec B3LYP (5.59–5.89 ppm), suggérant des limites dans la modélisation des interactions spécifiques.

Tableau III.6 : Valeurs théoriques du déplacement Chimique  $\delta_H$  de l'isoquercétine

Numérotation selon le spectre expérimentale	Numérotation selon le spectre théorique		Valeur expérimentale du Déplacement chimique $\delta_H$ (ppm) dans MeOD	Valeur théorique du Déplacement Chimique $\delta_H$ (ppm)											
				Solvant											
				Acetone		Chloroforme		Cyclohexane		Methanol		THF		Eau	
				TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)	TMS HF/6-31G(d)	TMS B3LYP/6-311+G(2d,p)
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	50	6.20	6.74	6.02	6.76	6.04	6.76	6.05	6.74	6.02	6.75	6.04	6.73	6.02	
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
8	48	6.39	6.53	5.82	6.43	5.71	6.25	5.53	6.55	5.48	6.50	5.78	6.58	5.87	
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
1'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2'	47	7.71	7.68	6.97	7.83	7.12	7.77	7.05	7.70	6.98	7.86	7.14	7.75	7.04	
3'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5'	44	6.87	5.93	5.22	5.86	5.15	5.76	5.04	5.94	5.23	5.90	5.18	5.91	5.20	
6'	43	7.59	7.97	7.25	8.16	7.44	8.19	7.48	7.96	7.25	8.14	7.42	7.94	7.23	
1''	42	5.26	6.50	5.78	6.50	5.79	6.61	5.89	6.48	5.76	6.45	5.73	6.31	5.59	
2''	35	3.48	4.75	4.03	4.87	4.16	4.89	4.17	4.74	4.03	4.86	4.14	4.82	4.10	
3''	34	3.43	4.62	3.91	4.55	3.84	4.51	3.79	4.62	3.90	4.56	3.85	4.46	3.74	
4''	37	3.35	4.14	3.42	3.93	3.21	3.87	3.15	4.14	3.43	3.95	3.23	3.88	3.17	
5''	39	3.22	3.41	2.69	3.64	2.93	3.64	2.92	3.40	2.69	3.64	2.93	3.39	2.67	
6''	a	40	3.72	4.05	3.33	4.20	3.48	4.13	3.41	4.05	3.34	4.21	3.49	4.22	3.50
	b	41	3.72	4.11	3.39	3.98	3.27	4.00	3.29	4.11	3.39	3.97	3.26	3.92	3.20

### III-2- Spectre UV-Visible

La spectroscopie ultraviolette-visible (UV-Vis) constitue une technique analytique pour étudier les propriétés électroniques des molécules conjuguées comme les molécules visées [10]. Elle est basée sur la propriété des molécules d'absorber les radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée. L'absorption de lumière en fonction de la longueur d'onde fournit des informations sur les transitions électroniques se produisant dans la molécule [11].

Le spectre UV-Vis des flavonoïdes présente deux bandes d'absorption caractéristiques :

- Bande I (300-550 nm) : Associée aux transitions électroniques  $\pi \rightarrow \pi^*$  du système cinnamoyle (conjugaison étendue entre les cycles B et C).
- Bande II (240-285 nm) : Attribuée aux transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  du noyau benzoylé (cycle A substitué).

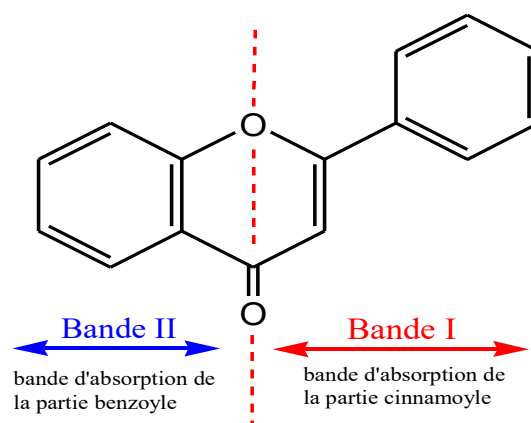


Figure III-20 : Bandes caractéristiques d'un squelette flavonoïque

#### III-2- 1- Etude comparative des spectres UV-Vis

La position exacte de ces bandes dépend de la structure, des substituants et du solvant.

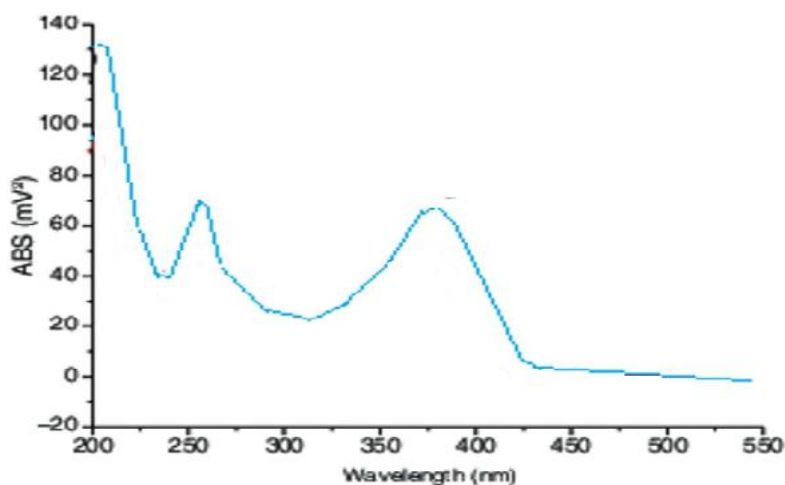
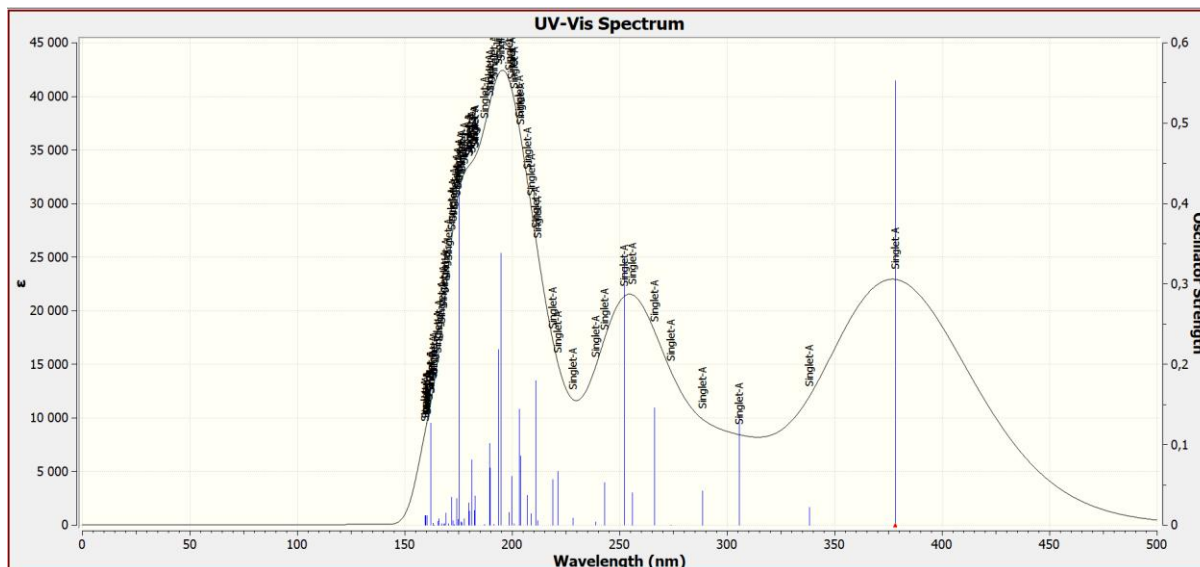


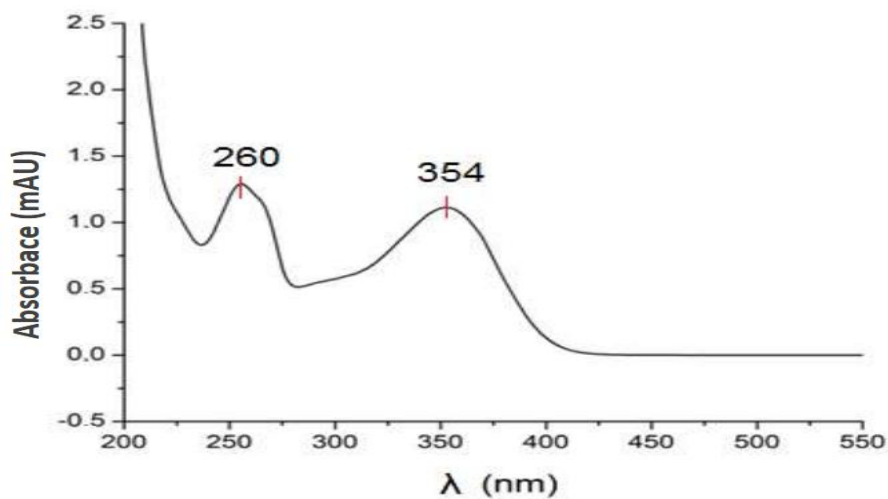
Figure III-21 : Spectre UV-Vis expérimentale de la quercétine

Le spectre théorique de la quercétine révèle des bandes maximas à 175.34 nm, 252.10 nm et 378.26 nm (**Figure III-22**).



**Figure III-22** : Spectre UV-Vis théorique de la quercétine

La **Figure III-23** présente le spectre expérimentale de l'isoquercétine



**Figure III.23** : Spectre UV-Vis expérimentale de l'isoquercétine [13]

Le spectre UV théorique (**Figure III-24**) de l'isoquercétine présente des maxima à 179,34 ; 206,96 ; 255,83 et 355,61 nm.

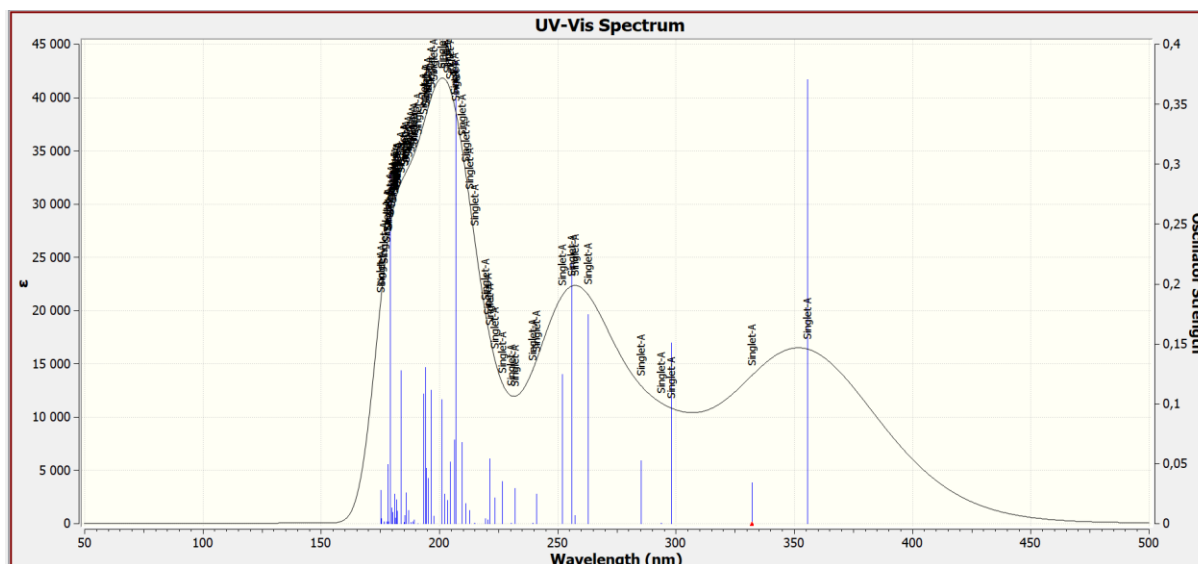


Figure III.24 : Spectre UV-Vis théorique de l'isoquercétine

Les spectres UV-Vis obtenus théoriquement par la méthode DFT donnent des résultats semblables à ceux obtenus expérimentalement, donc les bons résultats obtenus traduisent la bonne fiabilité des méthodes théoriques pour prédire et confirmer les données expérimentales.

### III-2- 2- Effet du solvant sur le spectre UV-Vis

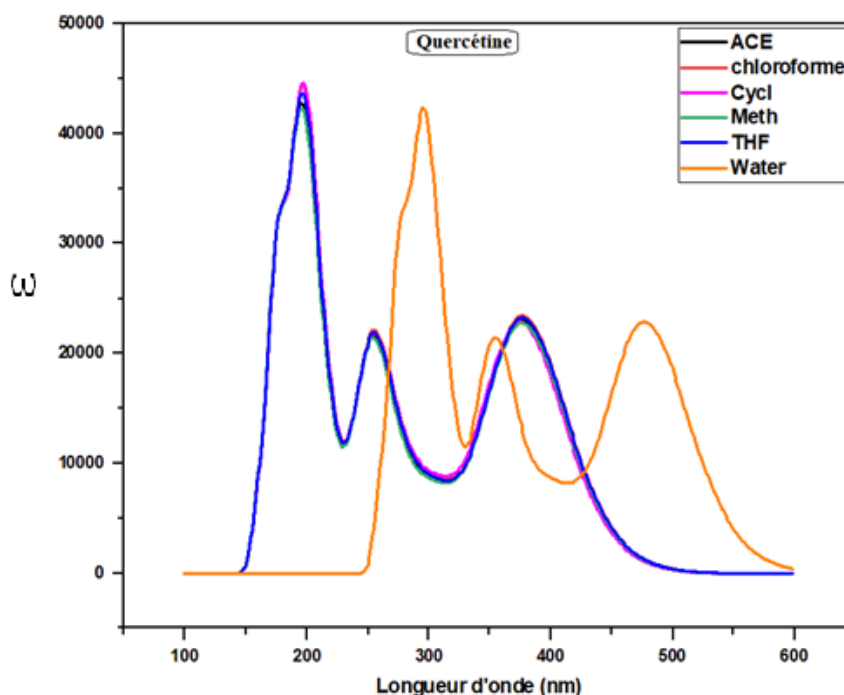
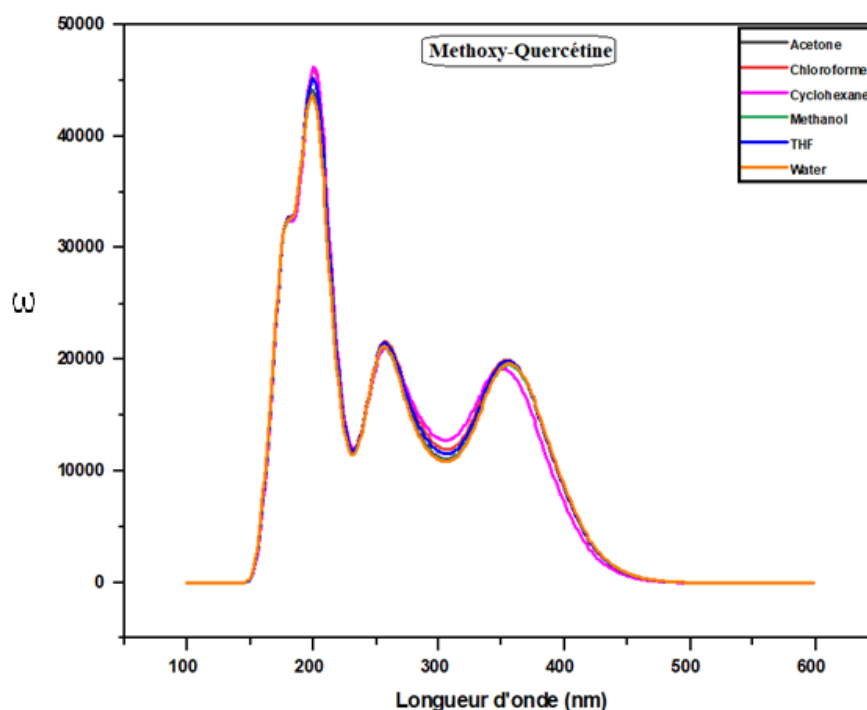


Figure III-25 : Spectres d'absorption UV-Vis de la 3-méthoxyquercétine dans différents solvants

Le spectre présenté dans la **Figure III-25**, correspond au spectre d'absorption de la quercétine pour différents solvants : acétone, chloroforme, cyclohexane, méthanol, THF et eau. Globalement, les solvants organiques (acétone, chloroforme, cyclohexane, méthanol et THF) présentent des profils spectroscopiques similaires, caractérisés par un maximum d'absorption intense autour de 200 nm, suivi de plusieurs bandes dans la région de 250 à 400 nm. Ces spectres indiquent que les solvants faiblement polaires ou aprotiques exercent une influence modérée sur les transitions électroniques de la quercétine, probablement de type  $\pi-\pi^*$ . En revanche, en solution aqueuse, la quercétine manifeste des décalages bathochromes (vers les grandes longueurs d'onde) ainsi qu'un élargissement des bandes d'absorption. Ce comportement traduit une forte interaction soluté-solvant, liée à la capacité de l'eau à former des liaisons hydrogène avec les groupes hydroxyles de la quercétine.

Le spectre présenté dans la **Figure III-26** correspond à la 3-méthoxyquercétine. Contrairement à la quercétine, on observe ici une superposition des spectres dans tous les solvants testés. Les bandes principales d'absorption restent centrées autour de 200 nm pour le premier maximum et entre 250–400 nm pour les bandes secondaires, avec des variations d'intensité négligeables entre les solvants.

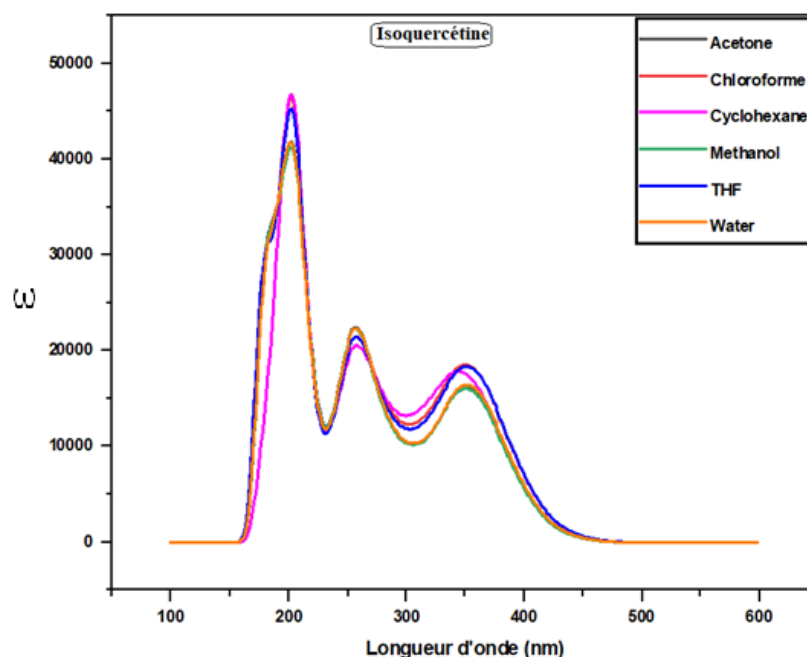


**Figure III-26** : Spectres d'absorption UV-Vis de la 3-méthoxyquercétine dans différents solvants

Cette faible dépendance vis-à-vis du solvant suggère que la méthylation des groupes hydroxyles de la quercétine réduit considérablement les interactions spécifiques avec le solvant, notamment la formation de liaisons hydrogène. Par conséquent, l'environnement électronique de la méthoxyquercétine reste relativement inchangé d'un solvant à l'autre, qu'il soit polaire ou apolaire, protique ou aprotique. Cette modification chimique confère donc à la molécule une plus grande rigidité spectroscopique et une stabilité électronique accrue vis-à-vis de la polarité du milieu.

Le spectre d'absorption de l'isoquercétine **Figure III-27** montre un comportement relativement homogène, avec un premier maximum d'absorption intense situé autour de 200 nm, suivi de plusieurs bandes secondaires entre 250 nm et 400 nm. Quelques variations d'intensité sont toutefois observées selon les solvants, notamment dans la zone de fort champ autour de 200 nm, où le cyclohexane semble induire une légère augmentation de la force d'oscillateur.

Les différences observées entre solvants polaires (eau, méthanol) et apolaires (cyclohexane, chloroforme) restent limitées, indiquant une interaction soluté-solvant moins marquée que pour la quercétine libre, mais un peu plus importante que pour la 3-méthoxyquercétine. Cette observation peut s'expliquer par la structure de l'isoquercétine, qui comporte des groupes hydroxyles capables d'interagir avec le solvant, mais aussi une partie glucosidique qui peut diminuer leur accessibilité par encombrement stérique.



**Figure III-27** : Spectres d'absorption UV-Vis de l'isoquercétine dans différents solvants

En conclusion, l'isoquercétine présente un comportement intermédiaire : elle est plus sensible aux effets de solvatation que la 3-méthoxyquercétine, mais moins que la quercétine. Cela souligne l'impact des modifications chimiques (méthylation ou glycosylation) sur la stabilité spectroscopique et les interactions moléculaires en solution.

En résumé, la quercétine libre est très sensible aux effets du solvant, particulièrement à la polarité et aux interactions hydrogène en milieu aqueux. En revanche, l'isoquercétine et la méthoxy-quercétine, présentent une stabilité spectrale accrue, ce qui souligne l'effet protecteur des modifications structurales (glycosylation et méthylation) sur les propriétés électroniques de la molécule.

---

**Références Bibliographiques:**

- [1] Keeler, J. (2011). *Understanding NMR spectroscopy*. John Wiley & Sons.
- [2] Levitt, M. H. (2008). *Spin dynamics: basics of nuclear magnetic resonance*. John Wiley & Sons.
- [3] Cavanagh, J. (1996). *Protein NMR spectroscopy: principles and practice*. Academic press.
- [4] Simpson, J. H. (2011). *Organic structure determination using 2-D NMR spectroscopy: a problem-based approach*. Academic Press.
- [5] D. Neuhaus, Nuclear Overhauser Effect, Encyclopedia of Magnetic Resonance (2011). <https://doi.org/10.1002/9780470034590.EMRSTM0350.PUB2>.
- [6] K. Krause, M. Bauer, W. Klopper, Approaching Phosphorescence Lifetimes in Solution: The Two-Component Polarizable-Embedding Approximate Coupled-Cluster Method, *J Chem Theory Comput* 12 (2016) 2853–2860. [https://doi.org/10.1021/ACS.JCTC.6B00239/SUPPL\\_FILE/CT6B00239\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/ACS.JCTC.6B00239/SUPPL_FILE/CT6B00239_SI_001.PDF).
- [7] H. Laraoui, C. Long, H. Haba, M. Benkhaled, New methylated flavonol glucosides from *Fumana montana* Pomel, *Nat Prod Res* 27 (2013) 1770–1775. <https://doi.org/10.1080/14786419.2013.778848>.
- [8] C. Bernini, T. Andruniów, M. Olivucci, R. Pogni, R. Basosi, A. Sinicropi, Effects of the protein environment on the spectral properties of tryptophan radicals in *Pseudomonas aeruginosa* azurin, *J Am Chem Soc* 135 (2013) 4822–4833. [https://doi.org/10.1021/JA400464N/SUPPL\\_FILE/JA400464N\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/JA400464N/SUPPL_FILE/JA400464N_SI_001.PDF).
- [9] F.A. Martínez, N.S. Adler, C.N. Cavasotto, G.A. Aucar, Solvent effects on the NMR shieldings of stacked DNA base pairs, *Physical Chemistry Chemical Physics* 24 (2022) 18150–18160. <https://doi.org/10.1039/D2CP00398H>.
- [10] H. Bouas-Laurent, H. Dürr, Organic photochromism, *Pure and Applied Chemistry* 73 (2001) 639–665. <https://doi.org/10.1351/PAC200173040639/MACHINEREADABLECITATION/RIS>.

- [11] V. Cheynier, Flavonoids in wine, *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications* (2005) 263–318.

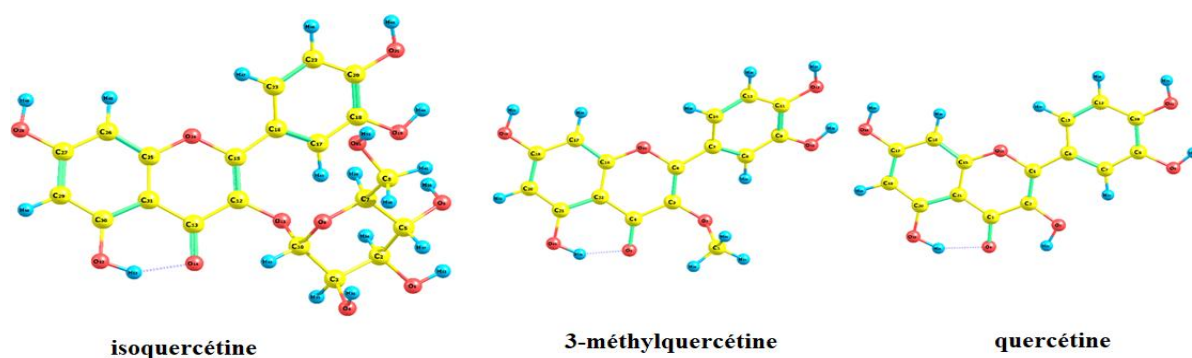
<https://doi.org/10.1201/9781420039443>

# *CHAPITRE IV*

## *Docking Et Dynamique Moléculaire*

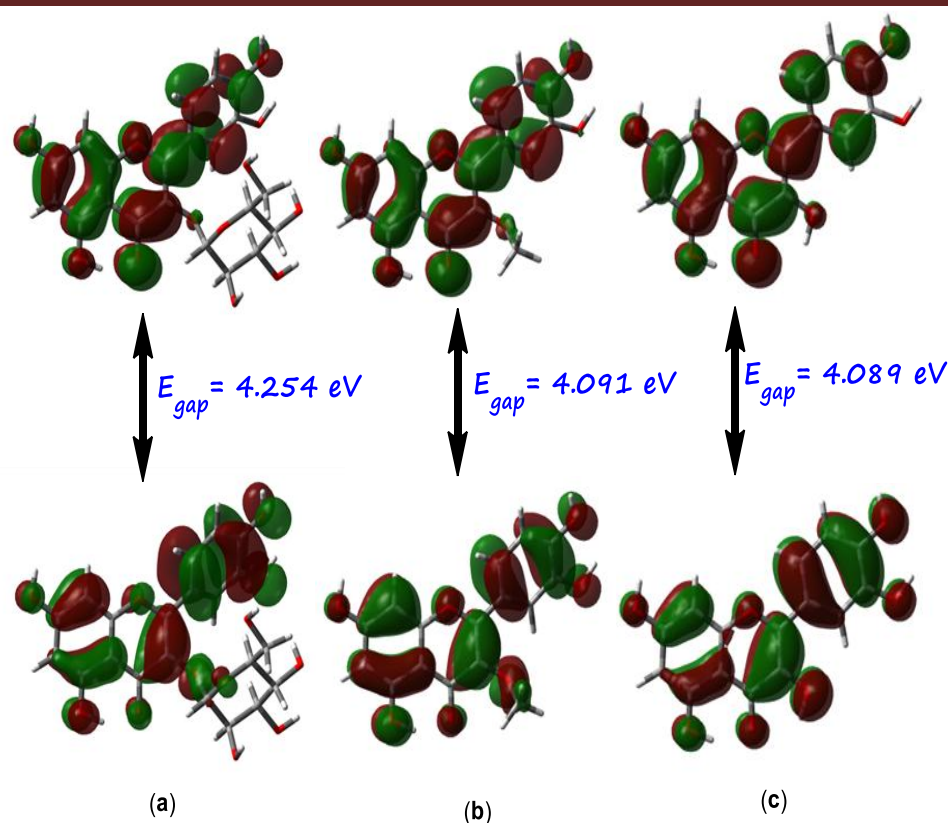
## IV- 1- Analyse des Orbitales Moléculaires Frontière (FMO) et de la Densité Totale d'État

Le concept de la théorie des Orbitales Moléculaires de Frontière (FMO) est essentiel pour déterminer la stabilité moléculaire et prédire les activités biologiques potentielles. Les FMO sont déterminés par l'écart d'énergie entre l'orbital moléculaire le plus haut occupé (HOMO) et l'orbital moléculaire le plus bas vacant (LUMO). Les molécules avec un écart d'énergie plus grand sont généralement plus stables et moins réactives que celles avec un écart d'énergie plus petit. Pour analyser les énergies relatives des HOMO et LUMO des trois composés phytochimiques (isoquercétine, 3-méthoxyquercétine et quercétine), leurs structures optimisées illustrées à la **Figure IV-1** ont été analysées. Les énergies calculées ( $E_{\text{HOMO}}$  et  $E_{\text{LUMO}}$ ) ont fourni une estimation des bandes électroniques. Bien que les valeurs négatives indiquent la stabilité du composé, les énergies calculées et les écarts de bande ( $\Delta E_{\text{gap}}$ ) sont étroitement corrélés. L'interaction des composés avec l'aminopeptidase N humaine (hPAN/CD13) et l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) pourrait être attribuée au Transfert de Charge Intra-Ligand (ILCT) qui implique divers atomes dans ces composés.



**Figure IV.1** : Composés phytochimiques étudiés

Les bandes électroniques ont été estimées à partir des énergies HOMO et LUMO calculées, révélant une localisation similaire de la densité électronique dans l'HOMO et une délocalisation dans la LUMO (**Figure IV.2**). Il est intéressant de noter que la présence de la fonction alcoolique de la quercétine, du groupe méthoxy et du groupe O- $\beta$ -D-glucopyranoside n'a pas affecté la délocalisation du LUMO, probablement en raison du transfert de Charge Intra-Ligand (ILCT) impliquant divers atomes de caractère  $\pi$  dans toutes les structures.



**Figure IV.2 :** Orbitales moléculaires HOMO et LUMO et énergies des écarts pour les composés : isoquercétine (a), 3-méthoxyquercétine (b) et quercétine (c).

En bref, le Transfert de Charge Intra-Ligand (ILCT) est un phénomène où un transfert de densité électronique se produit au sein d'un même ligand, généralement en réponse à une excitation photo électronique. Ce processus est important dans l'étude des ligands synthétiques, des produits phytochimiques, des composés synthétiques et des complexes, car il peut influencer leur réactivité et leurs interactions avec des enzymes cibles et des espèces biologiques. Lorsqu'une molécule absorbe de l'énergie, des électrons peuvent être excités, ce qui entraîne le transfert de densité électronique au sein du ligand lui-même. Les modifications des propriétés électroniques du ligand peuvent également influencer le mécanisme catalytique de l'enzyme [1], ce qui est crucial dans la conception de médicaments pour inhiber sélectivement des enzymes cibles sans affecter d'autres.

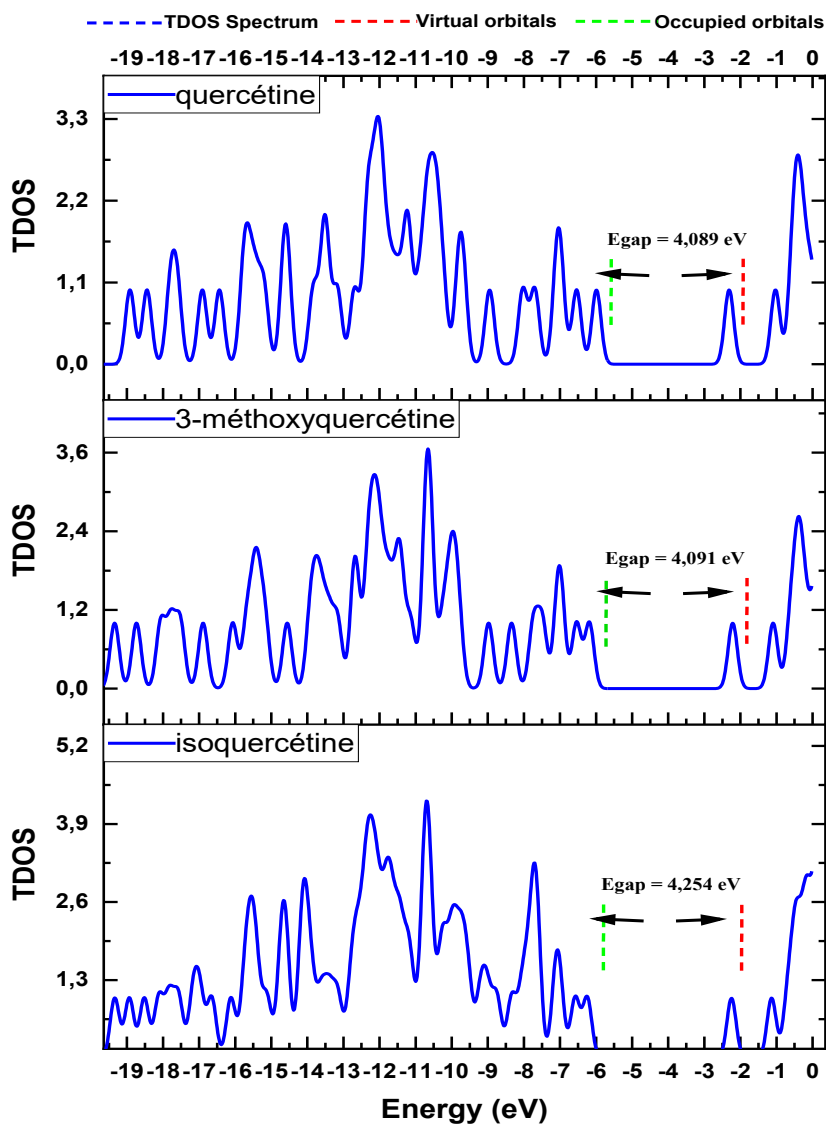
Des études récentes ont souligné l'importance de l'ILCT dans divers composés et leurs activités biologiques. Par exemple, Palion-Gazda et al [2] ont exploré les processus d'ILCT dans des complexes d'iridium (III) avec de la morpholine décorée de 4'-phényle-2,2':6',2''-terpyridine, mettant en lumière les applications potentielles en photochimie. De même, Senthilkumar et al [3] ont développé de nouveaux chromophores optiques non linéaires de second ordre à transfert de charge interne à base de la partie donneuse ferrocenylpyrazole, illustrant l'importance de l'ILCT dans la conception de matériaux avancés. Mo et al [4] ont rapporté une luminescence persistante brillante à

long terme dans des MOFs basés sur des dérivés clusters à Transfert de charge Intra ligand (ILCT), démontrant des implications importantes dans la science des matériaux. En ce qui concerne les interactions avec les enzymes, des études telles que celles de Guzero et al [5] ont exploré la photophysique des complexes de diimine Re(I) et Ru (II) liés covalentement au pyrène, se concentrant sur les contributions des états de transfert de charge intra-ligand. Des recherches ultérieures menées par Ghanem et al [6] ont examiné l'activité antinéoplasique et le docking moléculaire des phytochimiques isolés de *Thymelaea microphylla*, mettant en évidence le rôle de l'ILCT dans l'amélioration de la bioactivité. De plus, Soukehal et al [7] ont réalisé une synthèse, une étude cristallographique et un calcul DFT d'un nouveau complexe hybride-ligand, révélant l'impact de l'ILCT sur les propriétés électroniques et les activités biologiques. Belhouchat et al [8] ont appliqué des calculs DFT et de docking pour étudier les propriétés structurales, électroniques et biologiques d'un complexe synthétique, mettant en évidence le rôle de l'ILCT dans la modulation. De même, Guenfoud et al [9] ont étudié les dérivés de quinoline nitroaldol pour leurs propriétés antimicrobiennes, en combinant DFT et profilage pharmacocinétique *in silico* pour explorer le potentiel de l'ILCT dans la conception de médicaments.

Les énergies des bandes mesurées de l'isoquercétine, de la 3-méthoxyquercétine et de la quercétine étaient respectivement de 4,254 eV, 4,091 eV et 4,089 eV, reflétant des différences subtiles dans leurs structures électroniques pouvant influencer leurs activités potentielles anticancéreuses et antioxydantes contre l'aminopeptidase N humaine (hAPN/CD13) et la superoxyde dismutase (SOD). L'énergie de bande légèrement plus élevée de l'isoquercétine suggère des propriétés électroniques uniques, tandis que la 3-méthoxyquercétine et la quercétine partagent des caractéristiques électroniques similaires avec des énergies de bande. Cependant, des disparités structurelles entre les deux composés peuvent entraîner des interactions diverses avec hAPN/CD13 et SOD. La quercétine, connue pour ses effets anticancéreux et antioxydants, présente des propriétés électroniques indicatives de sa réactivité et de sa stabilité, ce qui pourrait influencer ses interactions avec hAPN/CD13 et SOD, comme le montrent les résultats du docking moléculaire. Dans ce contexte, la quercétine a présenté les complexes les plus stables avec CD13 et SOD, avec des scores d'affinité respectivement de -10.1 kcal/mol et -9.8 kcal/mol.

Afin de mieux comprendre la réactivité et les caractéristiques électroniques des composés phytochimiques étudiés, une analyse des courbes de densité d'états totale (TDOS) a été effectuée. Ces courbes, ainsi que les valeurs des énergies de bande et les niveaux d'énergie pour chaque molécule, sont illustrées dans la **Figure IV.3**. En examinons les courbes de densité d'états totale

(TDOS), un décalage distinct dans l'orbital moléculaire le plus haut occupé (HOMO) de la quercétine a été observé, indiquant un rôle plus important du transfert d'électrons dans ce composé. Cette observation est en accord avec la valeur maximale d'acceptance de charge attribuée la quercétine  $\Delta N_{\max} = 1,092$ .



**Figure IV.3 :** Courbes de densité d'état totale (TDOS), pour l'isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b) et la quercétine (c), calculées sur la base des géométries optimisées avec le jeu de bases B3LYP-6311G++(2d, 2p) en utilisant le logiciel Gauss Sum.

## IV-2- Analyse des descripteurs de réactivité globale

Les indices de réactivité chimique des composés étudiés offrent des informations précieuses sur leurs propriétés électroniques et leur réactivité potentielle, essentielles pour comprendre leurs activités biologiques. Les paramètres calculés (résumés dans le **Tableau IV.1**), basés sur les structures optimisées, sont particulièrement pertinents pour leurs activités antioxydantes et anticancéreuses, qui sont au cœur de notre étude. La capacité de ces composés à donner ou accepter des électrons et leur propension à subir des réactions redox peuvent influencer de manière significative leurs interactions avec hAPN/CD13 et SOD.

Dans les environnements gazeux et aqueux, l'isoquercétine présente systématiquement des valeurs d'énergie plus élevées pour les orbitales HOMO (-6,269 eV / -6,230 eV) et LUMO (-2,238 eV / -2,228 eV) par rapport à la 3-méthoxyquercétine et à la quercétine, indiquant que ses orbitales HOMO et LUMO sont énergétiquement plus éloignées du niveau de Fermi. Cela suggère que l'isoquercétine pourrait avoir des propriétés électroniques différentes par rapport aux deux autres composés, ce qui pourrait influencer sa réactivité et ses interactions avec des cibles biologiques. Les valeurs du potentiel d'ionisation sont similaires entre les calculs en phase gazeuse et aqueuse pour chaque composé. La quercétine présente systématiquement les valeurs d'énergie d'ionisation les plus faibles dans les deux environnements HOMO (5,962 eV / 5,976 eV), ce qui lui confère un pouvoir à donner des électrons. Cette caractéristique pourrait être avantageuse pour son activité anticancéreuse potentielle, car elle pourrait faciliter les processus de transfert d'électrons au sein de cibles biologiques telles que l'aminopeptidase N humaine (hAPN/CD13).

De même, les valeurs d'affinité électronique restent cohérentes dans les deux environnements gazeux et aqueux, la quercétine présentant systématiquement l'affinité la plus élevée (2,217 eV / 2,293 eV). Cela indique une plus grande tendance de la Quercétine à accepter des électrons, ce qui pourrait contribuer à son activité antioxydante en capturant les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et en réduisant le stress oxydatif. Cependant, l'isoquercétine présente systématiquement les valeurs d'électronégativité les plus élevées parmi les trois composés (4,254 eV / 4,229 eV), ce qui indique une plus grande capacité à attirer des électrons. Cette propriété pourrait améliorer ses interactions avec des ions métalliques ou des espèces réactives impliquées dans les mécanismes antioxydants, tels que la superoxyde dismutase (SOD) cuivre-zinc.

De plus, la quercétine présente des valeurs remarquablement élevées du potentiel chimique électronique de  $-4,089$  eV /  $-4,135$  eV, légèrement supérieures à celles de l'isoquercétine et de la 3-méthoxyquercétine. Cela suggère que la quercétine a une plus grande propension à donner des électrons ou à participer à des réactions redox. Cette caractéristique unique pourrait être pertinente pour ses propriétés antioxydantes et anticancéreuses, car elle implique un rôle potentiel de la quercétine dans les processus de transfert d'électrons. Cela suggère également que l'isoquercétine a une plus grande propension à donner des électrons ou à participer à des réactions redox. Cette caractéristique unique pourrait également être pertinente pour ses propriétés antioxydantes et anticancéreuses, car elle suggère un rôle potentiel de l'isoquercétine dans les processus de transfert d'électrons.

En outre, les valeurs de douceur globale révèlent une variation minimale entre le calcul en phase gazeuse et le calcul en milieu aqueux pour chaque composé, la quercétine maintenant des valeurs légèrement plus élevées ( $0,267$  eV<sup>-1</sup> /  $0,272$  eV<sup>-1</sup>) que l'isoquercétine ( $0,248$  eV<sup>-1</sup> /  $0,249$  eV<sup>-1</sup>) et la 3-méthoxyquercétine ( $0,248$  eV<sup>-1</sup> /  $0,252$  eV<sup>-1</sup>) dans les deux environnements. Cela indique qu'elle peut être un agent anticancéreux puissant et interagir plus facilement avec l'enzyme hAPN/CD13.

Le comportement des valeurs d'électrophilicité est similaire entre les calculs en phase gazeuse et en solution aqueuse. L'isoquercétine présente les valeurs les plus élevées ( $2,244$  eV /  $2,234$  eV), suivie de la quercétine ( $2,075$  eV /  $2,200$  eV) et de la 3-méthoxyquercétine ( $2,233$  eV /  $2,321$  eV).

Ces résultats suggèrent que l'isoquercétine pourrait avoir une plus grande capacité à accepter des électrons et à s'engager dans des réactions nucléophiles, ce qui pourrait affecter ses interactions avec les cibles biologiques impliquées dans les mécanismes antioxydants et anticancéreux. La quercétine présente systématiquement les valeurs maximales d'acceptance de charge les plus élevées ( $1,092$  /  $1,123$ ), indiquant sa capacité supérieure à accueillir le transfert de charge au sein de sa structure électronique. Cette caractéristique pourrait être pertinente pour ses activités antioxydantes et anticancéreuses, car elle suggère que la quercétine a le potentiel d'établir des interactions stables avec des cibles biologiques impliquées dans les processus redox.

**Tableau IV-.1** : Indices de réactivité globale calculés pour les composés (a, b et c) obtenus en phase gazeuse et en solution aqueuse en utilisant la méthode de la théorie fonctionnelle de la densité (DFT) et le jeu de bases B3LYP/6-311G++(2d, 2p).

Composé	isoquercétine (Gaz/Eau)	3-méthylquercétine (Gaz/Eau)	quercétine (Gaz/Eau)
$E_{\text{HOMO}}$ (eV)	-6,269 / -6,230	-6,106 / -6,170	-5,962 / -5,976
$E_{\text{LUMO}}$ (eV)	-2,238 / -2,228	-2,075 / -2,195	-2,217 / -2,293
$I$ (eV)	6,269 / 6,230	6,106 / 6,170	5,962 / 5,976
$A$ (eV)	2,238 / 2,228	2,075 / 2,195	2,217 / 2,293
$\chi$ (eV)	4,254 / 4,229	4,091 / 4,183	4,089 / 4,135
$\mu$ (eV)	-4,254 / -4,229	-4,091 / -4,183	-4,089 / -4,135
$\eta$ (eV)	4,031 / 4,002	4,031 / 3,975	3,745 / 3,683
$S$ (eV <sup>-1</sup> )	0,248 / 0,249	0,248 / 0,252	0,267 / 0,272
$\omega$ (eV)	2,244 / 2,234	2,075 / 2,200	2,233 / 2,321
$\Delta N_{\text{max}}$	1,055 / 1,057	1,015 / 1,052	1,092 / 1,123

### IV-3- Analyse du potentiel électrostatique moléculaire (MESP)

Les surfaces du potentiel électrostatique (MESP) fournissent une visualisation de l'environnement électrostatique d'une molécule en mappant l'énergie potentielle qu'une charge de test positive ressentirait à proximité de la molécule. Cette méthode met en évidence les régions de densité électronique variable : les zones riches en électrons (nucléophiles) apparaissent en rouge, les régions pauvres en électrons (électrophiles) en bleu, et les zones neutres en vert. Les surfaces MESP sont cruciales pour comprendre les interactions moléculaires, prédire la réactivité et orienter la conception de médicaments en montrant comment les molécules pourraient interagir entre elles ou avec des cibles biologiques. Cette cartographie électrostatique détaillée aide à évaluer le comportement moléculaire, la réactivité et l'affinité de liaison dans divers contextes chimiques et biologiques. Les surfaces MESP ont été réalisées sur la base des structures moléculaires optimisées de l'isoquercétine, de la 3-méthylquercétine et de la quercétine en utilisant la formule (1) [10–12]. Les résultats ont été reliés aux activités antioxydantes et anticancéreuses prédites.

$$V(r) = \sum_A \frac{z_A}{R_{A-r}} - \int \rho(r') / (r' - r) dr' \quad (1)$$

Où  $V(r)$  représente le potentiel électrostatique moléculaire,  $Z_A$  est la charge du noyau situé à  $R_A$ ,  $\rho(r')$  est la fonction de densité électronique de la molécule, et  $r'$  est la variable d'intégration fictive.

Les graphiques du potentiel électrostatique dans la **figure IV.4** illustrent la distribution de la charge au sein de chaque structure.

Dans le cas de l'isoquercétine, la coloration orange des atomes d'oxygène dans le groupe carbonyle et les groupes alcooliques signifie leur nature hautement nucléophile, indiquant une propension à interagir avec les régions électrophiles des cibles biologiques. Le caractère hautement nucléophile de ces atomes d'oxygène spécifiques suggère des interactions fortes avec les sites électrophiles, ce qui est confirmé par les résultats de docking, qui montrent une affinité de liaison substantielle de l'isoquercétine avec hAPN (-9,0 kcal/mol) et des interactions favorables avec SOD (-9,0 kcal/mol).

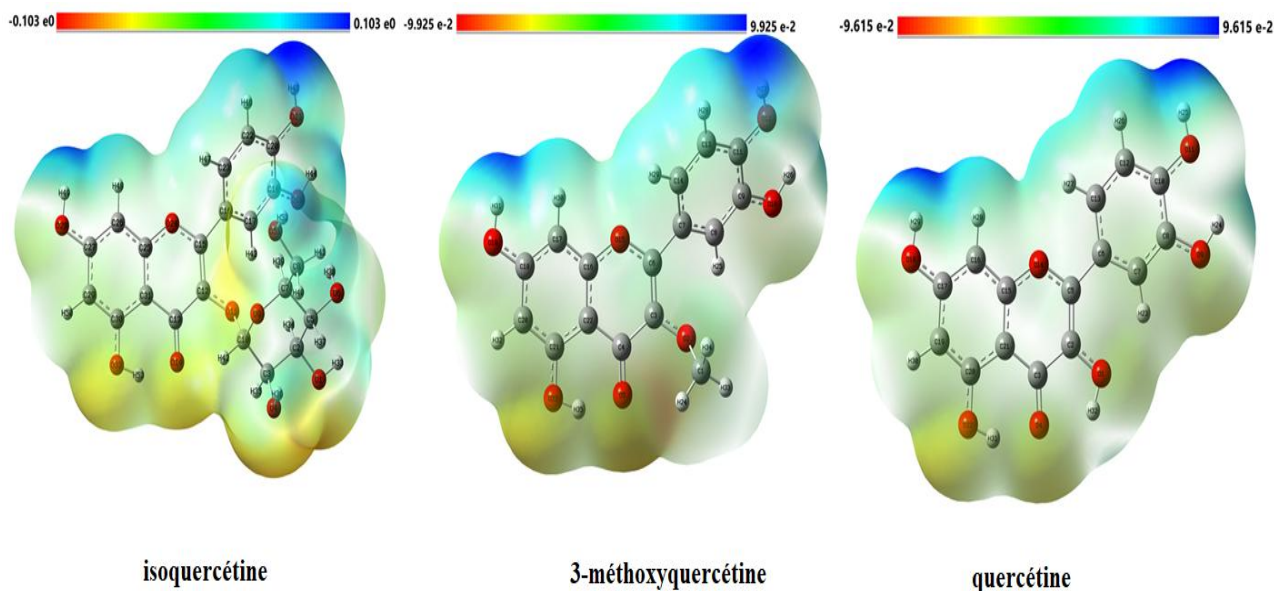
En revanche, la coloration jaune de l'atome d'oxygène O6 suggère un caractère nucléophile comparativement plus faible. Les régions bleu profond observées sur les atomes d'hydrogène H49 et H45, indiquent leur forte acidité, et leur capacité à interagir avec les résidus électrophiles dans les protéines, ce qui pourrait influencer l'efficacité antioxydante de ce produit naturel.

De plus, la représentation uniforme en vert des atomes de carbone signifie un potentiel électrostatique neutre à travers la molécule.

De manière similaire, la 3-méthoxyquercétine présente une zone orange sur l'atome d'oxygène O5, indiquant un fort caractère nucléophile. Cependant, les oxygènes dans le groupe alcoolique affichent un potentiel plus faible, suggérant une réactivité nucléophile moins marquée. Les régions bleu profond sur les atomes d'hydrogène H27 et H31 sont associées aux fonctions alcooliques (-OH). Le site nucléophile coloré en orange et les régions bleu profond sur les atomes d'hydrogène acides suggèrent sa capacité à interagir avec les résidus électrophiles, en accord avec son affinité de liaison observée à hAPN (-8,8 kcal/mol) et ses interactions significatives avec SOD (-7,9 kcal/mol).

La quercétine présente également des atomes d'oxygène hautement nucléophiles et des régions bleu profond sur les atomes d'hydrogène, suggérant son potentiel à neutraliser les radicaux libres et à interagir avec des sites électrophiles. Cela est cohérent avec son affinité de liaison la plus élevée avec hAPN (-10,1 kcal/mol) et sa forte interaction avec SOD (-9,8 kcal/mol). De plus, dans toutes les structures, les atomes d'hydrogène aliphatiques et périphériques se trouvent dans des régions de faible électrophilicité, suggérant que ces atomes d'hydrogène peuvent former des liaisons carbone-

hydrogène ou s'engager dans d'autres interactions avec des résidus nucléophiles dans les enzymes. Ces résultats fournissent une base théorique pour les résultats de docking, montrant comment les propriétés électrostatiques de ces composés contribuent à leurs affinités de liaison et à leurs activités biologiques.



**Figure IV.4 :** Surfaces du potentiel électrostatique moléculaire de l'isoquercétine, de la 3-méthoxyquercétine et de la quercétine.

#### IV-4- Prédiction des Paramètres physicochimiques par les méthodes *in silico*

Selon la « règle des cinq de Lipinski », les médicaments sont plus susceptibles d'être bien absorbés ou perméables s'ils respectent des critères spécifiques. Ces critères incluent moins de 10 accepteurs de liaisons hydrogène (HBA) et 5 donateurs de liaisons hydrogène (HBD), une valeur LogP calculée inférieure à 5 (CLogP <5) ou MilogP <4,15, un poids moléculaire inférieur à 500 Da ( $MW \leq 500$ ), et pas plus de 10 liaisons rotatives. Essentiellement, les molécules ayant un poids moléculaire inférieur à 500 Da sont plus facilement transportées, dispersées et absorbées que les molécules plus grosses [13]. Les résultats obtenus à partir des trois composés étudiés sont présentés dans le **Tableau IV.2**.

La lipophilicité de l'isoquercétine est bonne, avec une valeur de miLogP de -0,36, bien en dessous du seuil recommandé de 5. La 3-méthoxyquercétine et la quercétine ont respectivement des valeurs de miLogP de 1,24 et 1,68, ce qui est dans la plage acceptable. Les trois composés ont des

valeurs de TPSA supérieures au seuil recommandé de 10, l'isoquercétine ayant la TPSA la plus élevée avec 210,50. Les poids moléculaires des trois composés sont inférieurs au seuil de 500 Da, ce qui les rend plus facilement transportables et absorbables.

Cependant, l'isoquercétine a un nombre plus élevé d'accepteurs de liaisons hydrogène (HBA) que la limite recommandée de 10, ce qui peut poser des problèmes de perméabilité et d'absorption. La 3-méthoxyquercétine et la quercétine ont tous deux des valeurs acceptables de HBA et HBD, ainsi qu'un nombre adéquat de liaisons rotatives. L'isoquercétine a 2 violations, dépassant les limites pour les HBA, ce qui peut affecter sa perméabilité et son absorption. Dans l'ensemble, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine remplissent tous les critères définis par la règle des cinq de Lipinski, suggérant des caractéristiques favorables pour la perméabilité et l'absorption des médicaments, tandis que l'isoquercétine pourrait rencontrer des difficultés dans ces domaines.

**Tableau IV.2** : Paramètres physico-chimiques des trois composés phytochimiques : l'isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b) et la quercétine (a) calculés à l'aide du serveur en ligne Molinspiration.

	<b>isoquercétine</b>	<b>3-méthoxyquercétine</b>	<b>quercétine</b>
<b>miLogP</b>	-0.36	1.24	1.68
<b>TPSA</b>	210.50	131.35	131.35
<b>natoms</b>	33	23	22
<b>MW</b>	464.38	316.26	302.24
<b>nON</b>	12	7	7
<b>nOHNH</b>	8	5	5
<b>nviolations</b>	2	0	0
<b>nrotb</b>	4	2	1
<b>Volume</b>	372.21	256.89	240.08

De plus, l'isoquercétine, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine ont été testés pour leur capacité à agir comme ligands des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR), modulateurs de

---

canaux ioniques (ICM), inhibiteurs de kinases (KI), ligands de récepteurs nucléaires (NRL), inhibiteurs de protéases (PI) et inhibiteurs d'enzymes (EI). Les scores supérieurs à 0,00 indiquent une forte activité, les scores compris entre 0,00 et -0,5 suggèrent une activité modérée, et les scores inférieurs à -0,5 indiquent une inactivité. Les résultats d'estimation de la capacité médicamenteuse de l'isoquercétine, de la 3-méthoxyquercétine et de la quercétine calculée à l'aide du serveur en ligne Molinspiration sont résumés dans le **Tableau IV.3**

- ✓ L'isoquercétine et la 3-méthoxyquercétine comme ligands GPCR, présentent une activité modérée avec des scores respectifs de 0,06 et 0,05, tandis que la quercétine montre une inactivité avec un score de -0,06.
- ✓ En tant que modulateurs de canaux ioniques, l'isoquercétine et la quercétine montrent une inactivité modérée avec des scores respectifs de -0,04 et -0,06, tandis que la 3-méthoxyquercétine présente une inactivité légèrement plus marquée avec un score de -0,14.
- ✓ Les trois composés présentent une forte activité en tant qu'inhibiteurs de kinases, avec des scores de 0,13, 0,16 et 0,28 pour l'isoquercétine, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine, respectivement. La 3-méthoxyquercétine affiche le score le plus élevé de 0,44 en tant que ligand de récepteur nucléaire, indiquant une forte activité, tandis que la quercétine présente un score de 0,36, suggérant une activité modérée à forte, et l'isoquercétine montre un score de 0,20, indiquant une activité modérée.
- ✓ En tant qu'inhibiteurs de protéases, tous les composés affichent une inactivité, avec des scores respectifs de -0,06, -0,14 et -0,25 pour l'isoquercétine, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine.
- ✓ En tant qu'inhibiteurs d'enzymes, l'isoquercétine présente une forte activité avec un score de 0,42, tandis que la 3-méthoxyquercétine et la quercétine présentent une activité modérée à forte avec des scores respectifs de 0,33 et 0,28.

**Tableau IV.3 :** Estimation de la capacité médicamenteuse de l'isoquercétine (a), de la 3-méthoxyquercétine (b) et de la quercétine (a) calculée à l'aide du serveur en ligne Molinspiration

Composé	isoquercétine	3-méthoxyquercétine	quercétine
Ligand GPCR	0.06	0.05	-0.06
Modulateur de canaux ioniques	-0.04	-0.14	-0.06
Inhibiteur de kinases	0.13	0.16	0.28
Ligand de récepteur nucléaire	0.20	0.44	0.36
Inhibiteur de protéases	-0.06	-0.14	-0.25
Inhibiteur d'enzymes	0.42	0.33	0.28

Les scores > 0,00 indiquent une forte activité, tandis que les scores compris entre 0,00 et -0,5 indiquent une activité modérée et les scores < -0,5 indiquent une inactivité.

#### IV-5- Propriétés moléculaires et profils de similarité aux médicaments

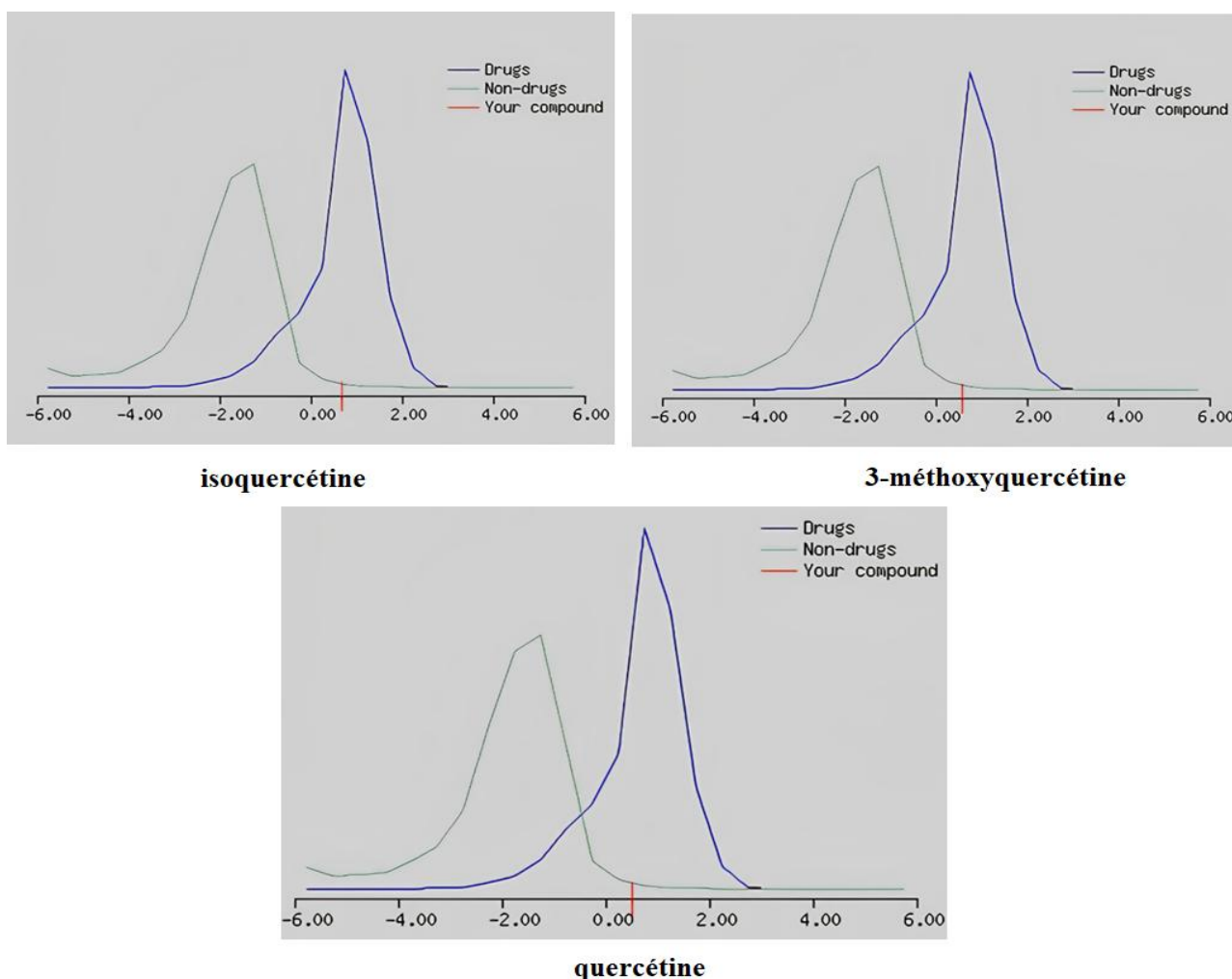
Les propriétés moléculaires jouent un rôle crucial dans la détermination du comportement et de l'activité biologique d'une molécule. Les paramètres tels que le poids moléculaire, le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (HBA), le nombre de donneurs de liaisons hydrogène (HBD), la lipophilicité (MolLogP), la solubilité (MolLogS) et les caractéristiques structurelles sont des facteurs clés pour évaluer le potentiel d'une molécule en tant que médicament (voir la section swissADME).

Dans cette étude, nous nous concentrons sur les scores du modèle de similarité aux médicaments, en mettant l'accent sur les scores et les graphiques générés pour l'isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b) et la quercétine (c). Ces scores ont été calculés à partir des SMILES de chaque composé à l'aide du serveur en ligne MolSoft gratuit. Tout composé chimique avec un score de zéro (0) ou inférieur n'est pas considéré comme ayant des caractéristiques de médicament. Parmi les composés étudiés, l'isoquercétine a obtenu le score de similarité aux médicaments le plus élevé (0,68), suivi de la 3-méthoxyquercétine (0,59) et de la quercétine (0,52). Les scores du modèle de similarité aux médicaments sont présentés dans le **Tableau IV.4**, tandis que la **Figure IV.5** illustre

un modèle de similarité aux médicaments. Dans la figure, la teinte verte représente un comportement non similaire à un médicament, tandis que la couleur bleue indique une activité similaire à un médicament.

**Tableau IV.4 :** Propriétés moléculaires et prédiction du score du modèle de similarité aux médicaments des composés étudiés (isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b), et quercétine (c)) calculés à l'aide du site web gratuit MolSoft.

	(a)	(b)	(c)
<b>Score du modèle de similarité aux médicaments</b>	0.68	0.59	0.52



**Figure IV.5 :** Représentation graphique de similarité en montrant l'isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b) et la quercétine (c) avec les scores maximaux du modèle de similarité aux médicaments générés à l'aide des SMILES de chaque composé et du serveur en ligne MolSoft.

## IV-6- Pharmacocinétique et Chimiomatique pour les Petites Molécules (pkCSM)

La plateforme d'apprentissage automatique connue sous le nom de pkCSM est conçue pour prédire les propriétés pharmacocinétiques des petites molécules, offrant des informations précieuses sur des aspects clés de l'absorption, de la distribution, du métabolisme, de l'excrétion et de la toxicité. Cette plateforme utilise des signatures basées sur des graphes pour encoder les motifs de distance/pharmacophore et est disponible à l'adresse suivante : <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/>. Elle comprend 28 modèles de régression et de classification, tous ayant fait l'objet d'un entraînement et d'une validation rigoureux. Ces modèles s'appuient sur des ensembles de données expérimentales diversifiés pour couvrir un large éventail de descripteurs ADMET. Le **Tableau IV.5** présente les prédictions et certaines propriétés pharmacocinétiques de l'isoquercétine, de la 3-méthoxyquercétine et de la quercétine en utilisant la plateforme pkCSM. Les prédictions d'absorption révèlent des différences significatives entre les composés.

L'isoquercétine présente une solubilité dans l'eau plus faible (-3,046 log mol/L) que la 3-méthoxyquercétine (-3,153 log mol/L) et la quercétine (-3,005 log mol/L). Cependant, l'isoquercétine présente une perméabilité Caco2 plus élevée (-0,694 log Papp en  $10^{-6}$  cm/s) que la 3-méthoxyquercétine (-0,484 log Papp en  $10^{-6}$  cm/s) et la quercétine (0,286 log Papp en  $10^{-6}$  cm/s), ce qui suggère une absorption intestinale potentiellement meilleure. De plus, les valeurs prédites pour l'absorption intestinale humaine (% Absorbé) varient considérablement, l'isoquercétine (35,064 %) ayant une absorption plus faible comparée à la 3-méthoxyquercétine (77,8 %) et la quercétine (74,9 %). Ces différences soulignent l'importance de comprendre les caractéristiques d'absorption des composés pour déterminer leur biodisponibilité et leur efficacité.

En ce qui concerne la distribution, certaines prédictions peuvent éclairer la manière dont un composé est distribué dans l'ensemble du corps. Par exemple, le VDss (volume de distribution à l'état d'équilibre) et la fraction libre dans le plasma humain sont des indicateurs utiles. Lorsqu'on examine l'isoquercétine (-0,154 log L/kg) et la 3-méthoxyquercétine (-0,044 log L/kg), il apparaît qu'ils ont des valeurs de VDss plus faibles que la quercétine (0,113 log L/kg), ce qui suggère que ces deux composés pourraient avoir une distribution limitée dans le corps. Un autre facteur important à prendre en compte est la fraction libre dans le plasma humain ( $F_u$ ), qui peut varier selon les composés. Ainsi, l'isoquercétine (0,148) présente une fraction plus élevée que la 3-méthoxyquercétine (0,061) et la quercétine (0,087). Cette variation pourrait potentiellement influencer leur activité pharmacologique.

---

Les prédictions de métabolisme offrent un aperçu des interactions des composés avec les enzymes du cytochrome P450 (CYP), qui jouent un rôle crucial dans le métabolisme des médicaments. Par exemple, la 3-méthoxyquercétine est prédit pour inhiber le CYP1A2, tandis que les autres composés ne montrent pas cette inhibition. Ces interactions peuvent influencer les voies métaboliques des composés et les interactions potentielles entre médicaments.

Les prédictions d'excrétion, telles que la clairance totale et le statut de substrat du transporteur rénal OCT2, offrent des informations sur l'élimination des composés du corps. L'isoquercétine (0,659 log ml/min/kg) et la 3-méthoxyquercétine (0,593 log ml/min/kg) montrent des valeurs de clairance totale légèrement plus élevées que la Quercétine (0,555 log ml/min/kg). De plus, aucun des composés n'est prédit comme substrat de l'OCT2 rénal, ce qui indique des différences potentielles dans leurs voies de clairance rénale.

Les prédictions de toxicité fournissent des informations cruciales concernant les profils de sécurité des composés. Dans notre travail, l'isoquercétine et la 3-méthoxyquercétine sont prévus pour présenter une toxicité AMES, tandis que la quercétine ne présente pas cette toxicité. En outre, les prédictions pour l'inhibition des canaux hERG I et II suggèrent des préoccupations potentielles en matière de sécurité cardiaque pour l'isoquercétine et la 3-méthoxyquercétine, mais pas pour la quercétine. De plus, les prédictions de toxicité aiguë et chronique chez le rat par voie orale offrent des informations sur les profils de toxicité des composés dans des modèles précliniques. En résumé, ces prédictions servent de guide précieux pour des investigations précliniques et cliniques supplémentaires, facilitant la sélection et l'optimisation des composés de tête pour le développement de médicaments. Des prédictions précises de toxicité sont essentielles pour déterminer les profils de sécurité de divers composés. Des modèles supplémentaires sur les toxicités des composés ont été abordés dans la section ProTox III.

**Tableau IV.5 :** Valeurs prédites d'Absorption, de Distribution, de Métabolisme, d'Excrétion et de Toxicité (ADMET) en utilisant plusieurs modèles pour les composés étudiés (l'isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b) et la quercétine (c)) via le serveur en ligne pkCSM.

Propriété	Nom du modèle	Valeur prédite			Unité
		a	b	c	
Absorption	Solubilité dans l'eau	-3.046	-3.153	-3.005	Numérique (log mol/L)
	Perméabilité CaCO <sub>2</sub>	-0.694	-0.484	0.286	Numérique (log Papp en 10 <sup>-6</sup> cm/s)
	Absorption intestinale (humaine)	35.064	77.8	74.9	Numérique (% Absorbé)
	Perméabilité cutanée	-2.735	-2.735	-2.735	Numérique (log Kp)
	Substrat de la P-glycoprotéine	Oui	Oui	Oui	Catégorique (Oui/Non)
	Inhibiteur de la P-glycoprotéine I	Non	Non	Non	Catégorique (Oui/Non)
	Inhibiteur de la P-glycoprotéine II	Non	Non	Non	Catégorique (Oui/Non)
Distribution	VDss (humain)	-0.154	-0.044	0.113	Numérique (log L/kg)
	Fraction libre (humain)	0.148	0.061	0.087	Numérique (Fu)
	Perméabilité BBB	-1.904	-1.384	-1.573	Numérique (log BB)
	Perméabilité CNS	-5.115	-3.496	-3.41	Numérique (log PS)
Métabolisme	Substrat du CYP2D6	Non	Non	Non	Catégorique (Oui/Non)
	Substrat du CYP3A4	Non	Non	Non	Catégorique (Oui/Non)
	Inhibiteur du CYP1A2	Non	Oui	Oui	Catégorique (Oui/Non)
	Inhibiteur du CYP2C19	Non	Non	Non	Catégorique (Oui/Non)
	Inhibiteur du CYP2C9	Non	Non	Non	Catégorique (Oui/Non)
	Inhibiteur du CYP2D6	Non	Non	Non	Catégorique (Oui/Non)
	Inhibiteur du CYP3A4	Non	Non	Non	Catégorique (Oui/Non)
Excrétion	Clairance totale	0.659	0.593	0.555	Numérique (log ml/min/kg)
	Substrat OCT2 rénal	Non	Non	Non	Catégorique (Oui/Non)
Toxicité	Toxicité AMES	Oui	Oui	Non	Catégorique (Oui/Non)
	Dose maximale tolérée (humaine)	0.843	0.934	0.841	Numérique (log mg/kg/jour)
	Inhibiteur de l'hERG I	Non	Non	Non	Catégorique (Oui/Non)
	Inhibiteur de l'hERG II	Oui	Oui	Non	Catégorique (Oui/Non)
	Toxicité aiguë chez le rat (LD50)	2.816	2.568	2.437	Numérique (mol/kg)
	Toxicité chronique chez le rat (LOAEL)	3.101	2.401	2.69	Numérique (log mg/kg_bw/jour)
	Hépatotoxicité	Non	Non	Non	Catégorique (Oui/Non)
	Sensibilisation cutanée	Non	Non	Non	Catégorique (Oui/Non)
	Toxicité pour T. Pyriformis	0.285	0.3	0.293	Numérique (log µg/L)
Toxicité pour le Minnow	7.165	1.672	1.328	Numérique (log mM)	

### IV-7- Etude *in silico* par le serveur SwissADME

Le **Tableau IV.6** résume certaines propriétés physico-chimiques supplémentaires des composés étudiés. La comparaison entre l'isoquercétine, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine révèle des différences significatives qui pourraient influencer leurs comportements pharmacologiques.

Tout d'abord, le nombre d'atomes lourds, qui indique la taille et la complexité de la molécule, est le plus élevé dans l'isoquercétine (33 atomes), suivi de la 3-méthoxyquercétine (23 atomes) et de la quercétine (22 atomes). Cela suggère que l'isoquercétine possède une structure plus grande et plus complexe par rapport aux deux autres composés, ce qui pourrait influencer ses interactions avec les cibles biologiques. De plus, la fraction d'atomes de carbone hybrides  $sp^3$  ( $C_{sp^3}$ ) fournit des informations sur la flexibilité moléculaire et l'espace conformationnel disponible pour les composés. L'isoquercétine présente la plus grande fraction d'atomes de carbone hybrides  $sp^3$  (0,29), indiquant une structure plus rigide comparée à la 3-méthoxyquercétine (0,06) et à la quercétine (0,00). Cette rigidité pourrait affecter la capacité des composés à s'adapter aux poches de liaison des protéines cibles, influençant potentiellement leur activité pharmacologique.

En outre, la réfringence molaire, qui est liée à la polarisation et au volume moléculaire global, est la plus élevée pour l'isoquercétine (110,16), suivie de la 3-méthoxyquercétine (82,14) et de la quercétine (78,04). Cela suggère que l'isoquercétine possède un plus grand volume moléculaire et une plus grande polarisation par rapport aux deux autres composés, ce qui pourrait affecter leur solubilité, leur perméabilité membranaire et leurs interactions de liaison avec les cibles biologiques. Ces différences dans les propriétés physico-chimiques mettent en évidence les caractéristiques structurales diversifiées des trois composés étudiés, qui pourraient influencer leurs propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.

Les valeurs prédites de lipophilicité fournissent des informations supplémentaires sur le potentiel d'absorption, de distribution et de destin métabolique de ces composés. Parmi les trois composés, l'isoquercétine présente les valeurs de  $\text{Log } P_{o/w}$  les plus élevées, avec des valeurs spécifiques de 2.11, 0.36, -0.54, -2.59 et -0.59 pour iLOGP, XLOGP3, WLOGP, MLOGP et SILICOS-IT, respectivement. Cela indique un degré plus élevé de lipophilicité pour l'isoquercétine, suggérant une affinité accrue pour les environnements riches en lipides et les membranes cellulaires.

En revanche, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine affichent des valeurs de Log Po/w plus faibles, la 3-méthoxyquercétine ayant des valeurs de 1.65, 1.65, 1.62, -0.58 et 1.92 pour les mêmes paramètres, et la Quercétine ayant des valeurs de 1.63, 1.54, 1.99, -0.56 et 1.54. Ces valeurs suggèrent une lipophilicité relativement plus faible par rapport à l'isoquercétine, ce qui pourrait influencer leur biodistribution et leurs propriétés pharmacocinétiques. Cependant, les valeurs consensuelles de Log Po/w pour les trois composés indiquent une lipophilicité modérée, suggérant des propriétés favorables pour franchir les barrières biologiques telles que la barrière hémato-encéphalique et les membranes cellulaires.

Les valeurs prédites de solubilité dans l'eau fournissent des informations importantes sur le potentiel de dissolution du composé dans les environnements aqueux, influençant ainsi sa biodisponibilité et ses propriétés pharmacocinétiques. L'isoquercétine, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine présentent des degrés de solubilité variables, comme l'indiquent leurs valeurs de Log S. L'isoquercétine affiche des valeurs de Log S de -3.04, -4.35 et -1.51 pour ESOL, Ali et SILICOS-IT, respectivement, suggérant une solubilité relativement plus élevée comparée aux deux autres composés. Les valeurs de solubilité prédites pour l'isoquercétine sont également plus élevées, allant de 4.23e-01 à 1.43e+01 mg/ml. La 3-méthoxyquercétine et la quercétine présentent des valeurs de Log S légèrement plus faibles (-3.22 et -3.16 pour ESOL) et des valeurs de solubilité prédites (allant de 1.89e-01 à 7.25e-02 mg/ml) par rapport à l'isoquercétine, indiquant une solubilité légèrement plus faible. Cependant, les trois composés sont classés comme solubles ou modérément solubles selon leurs valeurs de Log S et leurs classes de solubilité prédites. Ces résultats suggèrent que l'isoquercétine, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine possèdent une solubilité aqueuse favorable, ce qui pourrait améliorer leur dissolution et leur absorption dans les systèmes biologiques.

Les propriétés prédites de "druglikeness" offrent des informations sur l'adéquation des composés pour un développement ultérieur en tant que candidats potentiels pour des médicaments. L'isoquercétine, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine montrent différents degrés de conformité aux règles établies de "druglikeness", comme l'indiquent les valeurs prédites. Selon la règle des cinq de Lipinski, qui évalue les propriétés liées à l'absorption et à la perméabilité, l'isoquercétine viole deux critères : le nombre de liaisons rotatables ( $N_{rot} > 10$ ) et le nombre de donneurs de liaisons hydrogène ( $N_{HDon} > 5$ ). En revanche, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine ne présentent aucune violation, ce qui suggère une meilleure conformité à la règle de Lipinski.

La règle de Ghose évalue les propriétés moléculaires liées à la biodisponibilité, et la 3-méthoxyquercétine et la quercétine respectent les critères, tandis que l'isoquercétine viole le seuil pour WLOGP. La règle de Veber, qui évalue l'adéquation des composés à une administration orale sur la base de la surface topologique polaire (TPSA), indique la conformité pour les trois composés.

De même, la règle d'Egan, qui considère les valeurs de TPSA, trouve que la 3-méthoxyquercétine et la quercétine sont conformes, tandis que l'isoquercétine dépasse le seuil. La règle de Muegge, qui évalue les propriétés moléculaires associées à la biodisponibilité orale, indique la conformité pour la 3-méthoxyquercétine et la quercétine, mais identifie trois violations pour l'isoquercétine. De plus, les scores de biodisponibilité varient de 0,17 à 0,55, suggérant différents degrés de biodisponibilité orale potentielle parmi les composés. Ces résultats suggèrent collectivement que la 3-méthoxyquercétine et la quercétine présentent des profils de "druglikeness" plus favorables par rapport à l'isoquercétine, ce qui indique leur aptitude potentielle pour des efforts de développement de médicaments futurs. Les propriétés prédites de chimie médicamenteuse fournissent des informations sur divers aspects de l'adéquation potentielle des composés pour un usage médical. L'isoquercétine, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine présentent différentes caractéristiques selon les valeurs prédites. Notamment, l'isoquercétine a un poids moléculaire (PM) de 464,38 g/mol, la 3-méthoxyquercétine a un PM de 316,26 g/mol, et la quercétine a un PM de 302,24 g/mol. Les alertes PAINS, qui signalent des sous-structures potentiellement problématiques, indiquent la présence d'alertes catechol\_A dans les trois composés.

De plus, les alertes Brenk, qui identifient des groupes fonctionnels potentiellement réactifs, soulignent la présence d'alertes catechol dans les composés.

Concernant le leadlikeness, qui évalue la similitude des composés avec des leads connus, l'isoquercétine ne viole pas les critères, tandis que la 3-méthoxyquercétine et la quercétine respectent le seuil, suggérant un potentiel de similarité avec les leads. Les scores d'accessibilité à la synthèse, qui estiment la facilité de synthèse des composés, varient de 3,23 à 5,32, l'isoquercétine étant le plus accessible et la quercétine étant la moins accessible. Ces prédictions fournissent des informations précieuses sur les propriétés de chimie médicamenteuse des composés, mettant en évidence des domaines potentiels de préoccupation, tels que la présence de certaines sous-structures signalées par les alertes PAINS et Brenk. De plus, les scores de leadlikeness et d'accessibilité à la synthèse suggèrent l'adéquation potentielle des composés pour des efforts d'optimisation de la chimie médicamenteuse et de découverte de leads.

En conclusion, bien que l'isoquercétine présente une lipophilicité et une complexité plus élevée, elle présente également une solubilité dans l'eau plus faible et des violations plus importantes des règles de "druglikeness" par rapport à la 3-méthoxyquercétine et la quercétine. Ces différences dans les propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques pourraient affecter l'efficacité et la sécurité des composés, soulignant la nécessité de validations expérimentales supplémentaires et d'études pharmacologiques détaillées pour évaluer efficacement leur potentiel en tant que candidats médicaments.

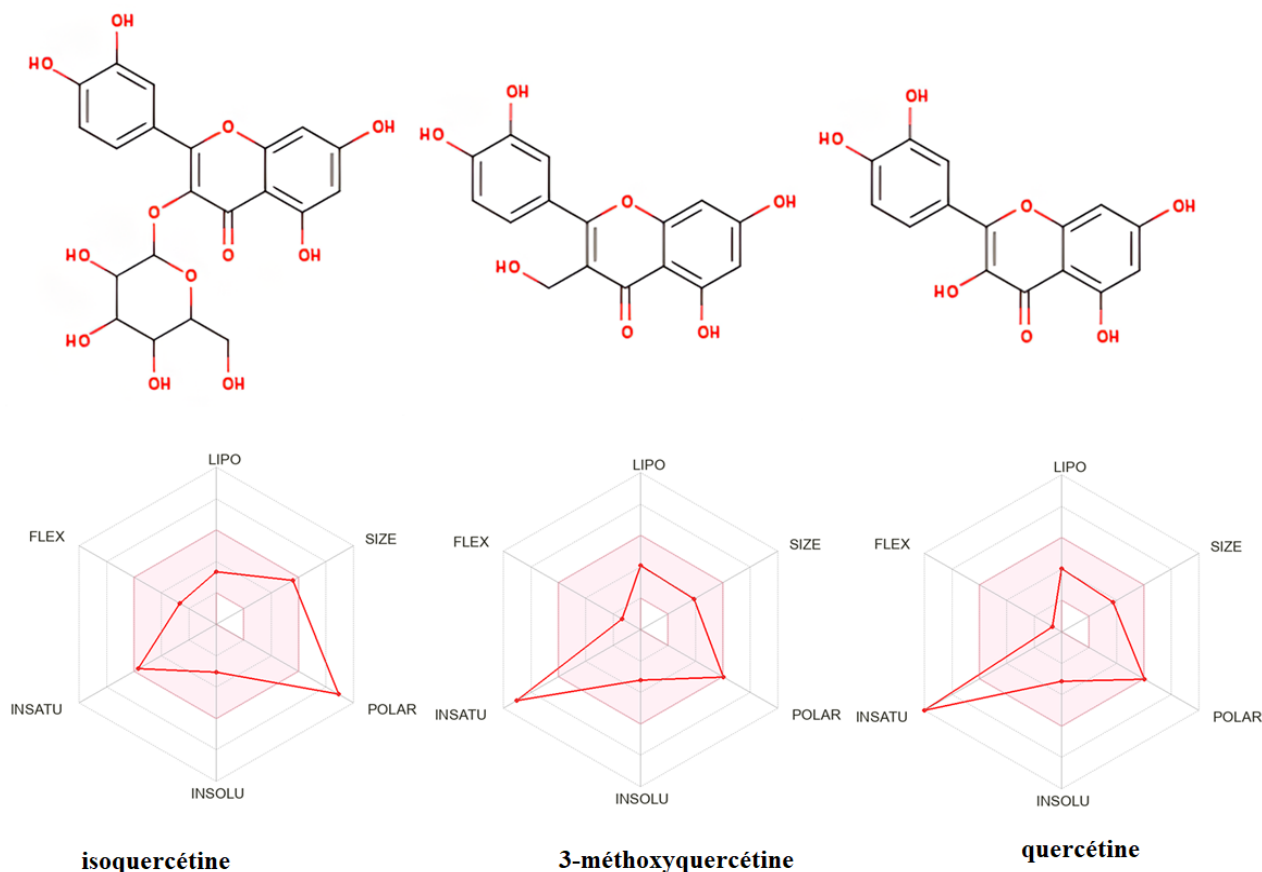
**Tableau IV.6 :** Comparaison détaillée de diverses propriétés telles que les propriétés physico-chimiques, la lipophilicité, la solubilité dans l'eau, la pharmacocinétique, la "drug-likeness" et les paramètres de chimie médicamenteuse de trois phytochimiques (isoquercétine (a), 3-méthoxyquercétine (b) et quercétine (c)).

	isoquercétine	3-méthoxyquercétine	quercétine
<b>Propriétés physico-chimiques</b>			
Nombre d'atomes lourds	33	23	22
Nombre d'atomes lourds aromatiques	16	16	16
Fraction Csp3	0.29	0.06	0.00
Réfringence molaire	110.16	82.14	78.04
<b>Lipophilicité</b>			
Log $P_{o/w}$ (iLOGP)	2.11	1.65	1.63
Log $P_{o/w}$ (XLOGP3)	0.36	1.65	1.54
Log $P_{o/w}$ (WLOGP)	-0.54	1.62	1.99
Log $P_{o/w}$ (MLOGP)	-2.59	-0.58	-0.56
Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT)	-0.59	1.92	1.54
Log $P_{o/w}$ consensuel	-0.25	1.25	1.23
<b>Solubilité dans l'eau</b>			
Log $S$ (ESOL)	-3.04	-3.22	-3.16
Solubilité (mg/ml)	4.23e <sup>-1</sup>	1.89e <sup>-1</sup>	2.11e <sup>-1</sup>
Solubilité (mol/l)	9.10e <sup>-4</sup>	5.98e <sup>-4</sup>	6.98e <sup>-4</sup>
Classe	Soluble	Soluble	Soluble
Log $S$ (Ali)	-4.35	-4.02	-3.91
Solubilité (mg/ml)	2.10e <sup>-2</sup>	3.01e <sup>-2</sup>	3.74e <sup>-2</sup>
Solubilité (mol/l)	4.51e <sup>-5</sup>	9.51e <sup>-5</sup>	1.24e <sup>-4</sup>
Classe	Modérément soluble	Modérément soluble	Soluble

Log <i>S</i> (SILICOS-IT)	-1.51	-3.64	-3.24
Solubilité (mg/ml)	1.43e+1	7.25e-2	1.73e-1
Solubilité (mol/l)	3.08e-02	2.29e-4	5.73e-4
Classe	Soluble	Soluble	Soluble
<b>Pharmacocinétique</b>			
Absorption GI	Faible	Élevée	Élevée
Perméabilité BBB	Non	Non	Non
Substrat de la P-glycoprotéine	Non	Non	Non
Inhibiteur CYP1A2	Non	Oui	Oui
Inhibiteur CYP2C19	Non	Non	Non
Inhibiteur CYP2C9	Non	Non	Non
Inhibiteur CYP2D6	Non	Oui	Oui
Inhibiteur CYP3A4	Non	Oui	Oui
Log <i>K<sub>p</sub></i> (perméation cutanée)	-8.88 cm/s	-7.06 cm/s	-7.05 cm/s
<b>Caractère médicament</b>			
Lipinski	Non; 2 violations: Non O>10, NHorOH>5	Oui; 0 violation	Oui; 0 violation
Ghose	Non; 1 violation: WLOGP<- 0.4	Oui	Oui
Veber	Non; 1 violation: TPSA>140	Oui	Oui
Egan	Non; 1 violation: TPSA>131.6	Oui	Oui
Muegge	Non; 3 violations: TPSA>150, H-acc>10, H- don>5	Oui	Oui
Score de biodisponibilité	0.17	0.55	0.55
<b>Chimie médicamenteuse</b>			
PAINS	1 alerte: catechol_A	1 alerte: catechol_A	1 alerte: catechol_A
Brenk	1 alerte: catechol	1 alerte: catechol	1 alerte: catechol
Leadlikeness	Non; 1 violation: MW>350	Oui	Oui
Accessibilité à la synthèse	5.32	3.28	3.23

La **Figure IV.6** illustre l'intervalle optimal pour six caractéristiques physico-chimiques essentielles à la biodisponibilité : la lipophilicité (LIPO), le poids moléculaire (SIZE), la polarité (POLA), l'insolubilité (INSOLU), l'insaturation (INSATU), et la flexibilité (FLEX). Les composés étudiés ont montré une bonne biodisponibilité orale, comme l'indique le graphique radar, puisque toutes leurs propriétés physiques et chimiques se situent dans l'intervalle idéal. La zone colorée sur le graphique représente l'espace physico-chimique approprié pour la biodisponibilité orale, où LIPO

se situe entre  $-0.7 < XLOGP3 < 5.0$ , SIZE est compris entre  $150 \text{ g.mol}^{-1} < MW < 500 \text{ g.mol}^{-1}$ , POLAR est compris entre  $20 \text{ \AA}^2 < TPSA < 130 \text{ \AA}^2$ , INSOLU est compris entre  $-6 < \text{Log S} < 0$ , INSATU est compris entre  $0.25 < \text{Fraction Csp3} < 1$ , et FLEX est compris entre  $0 < \text{Nombre de liaisons rotables} < 9$  [14].



**Figure IV.6 :** Cartes radar de biodisponibilité pour (a) isoquercétine, (b) 3-méthoxyquercétine et (c) quercétine montrant les caractéristiques FLEX, LIPO, SIZE, POLAR, INSOLU et INSATU.

#### IV-8- Prédiction de toxicité avec ProTox-III

Des prédictions supplémentaires de toxicité *in silico*, fournissant des informations supplémentaires sur la toxicité potentielle de l'isoquercétine, de la 3-méthoxyquercétine et de la quercétine à travers différentes cibles, ont été réalisées à l'aide du serveur web ProTox III (<https://tox.charite.de/protox3/>). Tous les résultats prédits sont illustrés dans la **Figure IV.7** et résumés dans le **Tableau IV.7**.

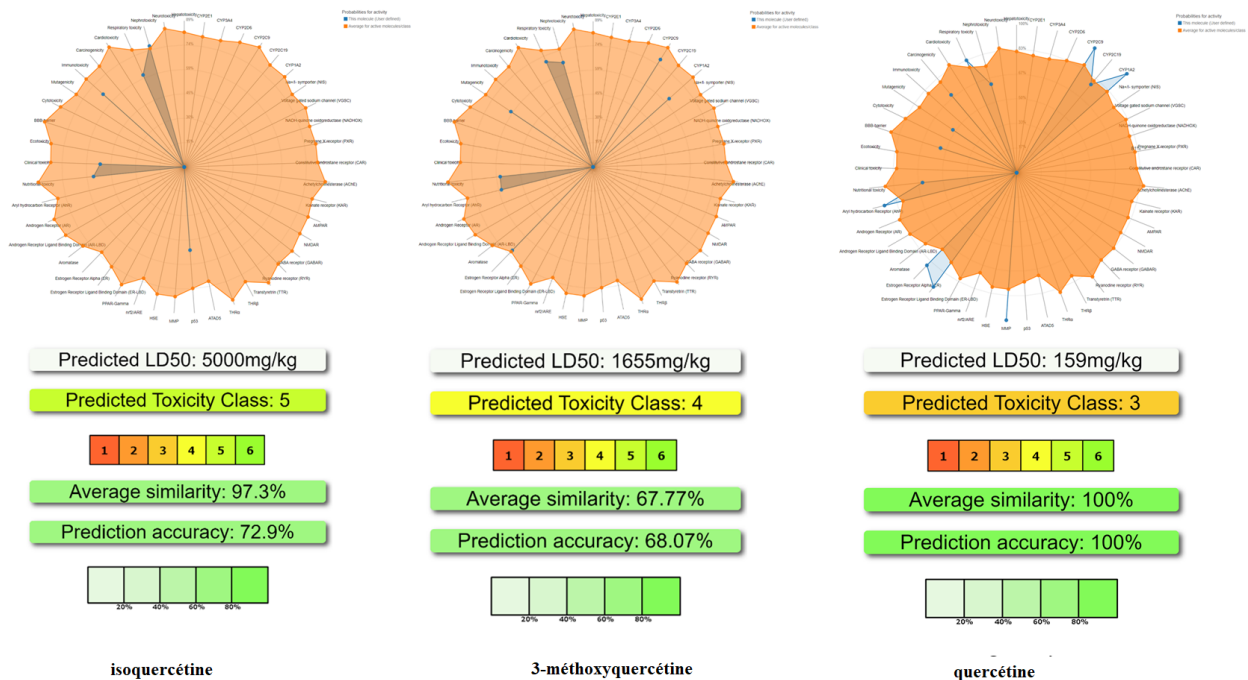
**Tableau IV.7** : Résultats des prédictions de toxicité (Actif ou Inactif) incluant divers cibles (toxicité des organes, points de terminaison de toxicité, voies de signalisation des récepteurs nucléaires Tox21, voies de réponse au stress Tox21, événements initiaux moléculaires, et métabolisme) avec leurs probabilités (allant de 0 à 1) générées à l'aide du serveur web ProTox III pour les phytochimiques étudiés (a, b, et c).

Classification	Cible	Prédiction	Probabilité	Prediction	Probabilité	Prediction	Probabilité
		<b>isoquercitine</b>		<b>3-méthoxyquercétine</b>		<b>quercétine</b>	
Toxicité des organes	Hépatotoxicité	Inactif	0,82	Inactif	0,79	Inactif	0,69
Toxicité des organes	Neurotoxicité	Inactif	0,88	Inactif	0,89	Inactif	0,89
Toxicité des organes	Néphrotoxicité	Actif	0,76	Actif	0,66	Actif	0,62
Toxicité des organes	Toxicité respiratoire	Actif	0,61	Actif	0,70	Actif	0,83
Toxicité des organes	Cardiotoxicité	Inactif	0,67	Inactif	0,61	Inactif	0,99
Points de terminaison de toxicité	Cancérogénicité	Inactif	0,85	Inactif	0,50	Actif	0,68
Points de terminaison de toxicité	Immunotoxicité	Actif	0,66	Inactif	0,63	Inactif	0,87
Points de terminaison de toxicité	Mutagénicité	Inactif	0,76	Active	0,60	Actif	0,51
Points de terminaison de toxicité	Cytotoxicité	Inactif	0,69	Inactif	0,92	Inactif	0,99
Points de terminaison de toxicité	Barrière BBB	Inactif	0,57	Inactif	0,50	Actif	0,53
Points de terminaison de toxicité	Ecotoxicité	Inactif	0,58	Inactif	0,55	Inactif	0,53
Points de terminaison de toxicité	Toxicité clinique	Actif	0,51	Inactif	0,56	Inactif	0,53
Points de terminaison de toxicité	Toxicité nutritionnelle	Actif	0,55	Actif	0,57	Actif	0,63
Voies de signalisation des récepteurs nucléaires Tox21	Récepteur des hydrocarbures aromatiques (AhR)	Inactif	0,92	Actif	0,57	Actif	0,91
Voies de signalisation des récepteurs nucléaires Tox21	Récepteur des androgènes (AR)	Inactif	0,90	Inactif	0,67	Inactif	0,99
Voies de signalisation des récepteurs nucléaires Tox21	Domaine de liaison des ligands du récepteur des androgènes (AR-LBD)	Inactif	0,98	Inactif	0,97	Inactif	0,97
Voies de signalisation des récepteurs nucléaires Tox21	Aromatase	Inactif	1	Inactif	0,93	Inactif	0,91
Voies de signalisation des récepteurs nucléaires Tox21	Récepteur alpha des œstrogènes (ER)	Inactif	0,91	Actif	0,70	Actif	0,87
Voies de signalisation des récepteurs nucléaires Tox21	Domaine de liaison des récepteurs des œstrogènes (ER-LBD)	Inactif	0,99	Inactif	0,78	Actif	0,95
Voies de signalisation des récepteurs nucléaires Tox21	Récepteur activé par le proliférateur des peroxyosomes gamma (PPAR-Gamma)	Inactif	0,99	Inactif	0,98	Inactif	0,98
Voies de réponse au stress Tox21	Facteur nucléaire (érythroïde-dérivé 2)-like 2/élément de réponse aux antioxydants (nrf2/ARE)	Inactif	0,98	Inactif	0,96	Inactif	0,99
Voies de réponse au stress Tox21	Élément de réponse du facteur de choc thermique (HSE)	Inactif	0,98	Inactif	0,96	Inactif	0,99

Voies de réponse au stress Tox21	Potentiels de membrane mitochondriale (MMP)	Inactif	0,98	Inactif	0,54	Actif	1
Voies de réponse au stress Tox21	Phosphoprotéine (suppresseur de tumeur) p53	Actif	0,50	Inactif	0,86	Inactif	0,97
Voies de réponse au stress Tox21	Protéine contenant le domaine AAA de la famille des ATPases 5 (ATAD5)	Inactif	1	Inactif	0,97	Inactif	0,99
Événements Initiateurs Moléculaires	Récepteur des hormones thyroïdiennes alpha (THR $\alpha$ )	Inactif	0,90	Inactif	0,90	Inactif	0,90
Événements Initiateurs Moléculaires	Récepteur des hormones thyroïdiennes bêta (THR $\beta$ )	Inactif	0,78	Inactif	0,78	Inactif	0,78
Événements Initiateurs Moléculaires	Transtyrétine (TTR)	Inactif	0,97	Inactif	0,97	Inactif	0,97
Événements Initiateurs Moléculaires	Récepteur de la ryanodine (RYR)	Inactif	0,98	Inactif	0,98	Inactif	0,98
Événements Initiateurs Moléculaires	Récepteur GABA (GABAR)	Inactif	0,96	Inactif	0,96	Inactif	0,96
Événements Initiateurs Moléculaires	Récepteur glutamate N-méthyl-D-aspartate (NMDAR)	Inactif	0,92	Inactif	0,92	Inactif	0,92
Événements Initiateurs Moléculaires	Récepteur de l'alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionate (AMPA)	Inactif	0,97	Inactif	0,97	Inactif	0,97
Événements Initiateurs Moléculaires	Récepteur du kainate (KAR)	Inactif	0,99	Inactif	0,99	Inactif	0,99
Événements Initiateurs Moléculaires	Acétylcholinestérase (AChE)	Inactif	0,82	Inactif	0,79	Inactif	0,69
Événements Initiateurs Moléculaires	Récepteur de l'androstane constitutif (CAR)	Inactif	0,98	Inactif	0,98	Inactif	0,98
Événements Initiateurs Moléculaires	Récepteur du X de la pregnane (PXR)	Inactif	0,92	Inactif	0,92	Inactif	0,92
Événements Initiateurs Moléculaires	NADH-quinone oxydoréductase (NADHox)	Inactif	0,97	Inactif	0,97	Inactif	0,97
Événements Initiateurs Moléculaires	Canal sodique activé par le voltage (VGSC)	Inactif	0,95	Inactif	0,95	Inactif	0,95
Événements Initiateurs Moléculaires	Symporteur Na <sup>+</sup> /I <sup>-</sup> (NIS)	Inactif	0,98	Inactif	0,98	Inactif	0,98
Metabolisme	Cytochrome CYP1A2	Inactif	1	Actif	0,62	Actif	1
Metabolisme	Cytochrome CYP2C19	Inactif	0,99	Inactif	0,60	Actif	0,77
Metabolisme	Cytochrome CYP2C9	Inactif	0,92	Actif	0,77	Actif	0,99
Metabolisme	Cytochrome CYP2D6	Inactif	0,96	Inactif	0,89	Inactif	0,85
Metabolisme	Cytochrome CYP3A4	Inactif	1	Inactif	0,75	Inactif	0,79
Metabolisme	Cytochrome CYP2E1	Inactif	0,98	Inactif	0,98	Inactif	1

Selon leurs valeurs de LD50, la substance quercétine (Classe III) est considérée comme toxique si elle est consommée, avec une plage allant de plus de 50 à 300. La 3-méthoxyquercétine (Classe IV) est considéré comme nuisible, tandis que l'isoquercétine (Classe V) est classée comme

potentiellement nuisible si elle est consommée, avec des valeurs de LD50 allant de plus de 2000 à 5000. Concernant la toxicité des organes, les trois composés ne montrent aucune activité hépatotoxique ou neurotoxique, suggérant un faible risque d'effets indésirables sur le foie et le système nerveux. Cependant, l'isoquercétine et la 3-méthoxyquercétine présentent une activité néphrotoxique, avec des probabilités de 0,76 et 0,66 respectivement, ce qui indique un potentiel de dommage à la fonction rénale. En termes de toxicité respiratoire, tous les composés affichent une activité, avec des probabilités allant de 0,61 à 0,83, suggérant des effets indésirables potentiels sur le système respiratoire. En revanche, aucun effet cardiotoxique n'est prévu pour aucun des composés, ce qui indique un risque minimal d'effets indésirables cardiaques.



**Figure IV.7 :** Les valeurs prédites de LD<sub>50</sub> les classes de toxicité (à droite) un radar résumant les toxicités prédites contre diverses cibles, y compris la toxicité des organes, les points de terminaison de toxicité, les voies de signalisation des récepteurs nucléaires Tox21, les voies de réponse au stress Tox21, les événements moléculaires initiaux et le métabolisme (à gauche) pour les composés étudiés (a) isoquercétine, (b) 3-méthoxyquercétine et (c) Quercétine générés à l'aide du serveur web gratuit ProTox-III.

Tandis que l'isoquercétine et la 3-méthoxyquercétine ne montrent aucune activité cancérigène ou immunotoxique, la Quercétine présente une potentielle cancérigénicité et immunotoxicité avec des probabilités de 0,50 et 0,51 respectivement, ce qui suggère un risque possible de cancer et de

perturbation du système immunitaire. De plus, la mutagénicité est observée pour la 3-méthoxyquercétine et la quercétine, indiquant une propension à induire des mutations génétiques, tandis que la toxicité clinique est prédite uniquement pour l'isoquercétine, suggérant des effets indésirables potentiels en milieu clinique. Les trois composés affichent une activité en toxicité nutritionnelle, suggérant des effets indésirables possibles liés à des facteurs nutritionnels.

L'analyse des activités des récepteurs nucléaires révèle des réponses diverses. Bien que tous les composés montrent une inactivité vis-à-vis du récepteur aux androgènes et de son domaine de liaison aux ligands, la quercétine présente une activité au niveau du récepteur alpha des œstrogènes et de son domaine de liaison aux ligands, suggérant de potentiels effets œstrogéniques. De plus, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine manifestent une activité au niveau du récepteur des hydrocarbures aromatiques, indiquant des effets potentiels de perturbation endocrinienne.

En ce qui concerne les événements moléculaires initiaux, l'isoquercétine et la 3-méthoxyquercétine présentent principalement une inactivité, tandis que la quercétine affiche une activité mixte, suggérant des mécanismes d'action divers.

Concernant le métabolisme, la quercétine montre une activité variée sur différents enzymes cytochrome P450 (CYP), suggérant son potentiel à affecter le métabolisme des médicaments et leurs interactions.

De plus, les activités diverses des composés dans les événements moléculaires initiaux et les interactions avec les récepteurs nucléaires pourraient influencer leurs activités anticancéreuses et antioxydantes par divers mécanismes. Comprendre ces interactions est crucial pour élucider les mécanismes d'action des composés et optimiser leur potentiel thérapeutique.

L'identification d'une activité cancérigène de la quercétine soulève des préoccupations concernant sa sécurité en thérapie anticancéreuse, malgré ses propriétés anticancéreuses bien connues. L'activité œstrogénique de la quercétine pourrait également affecter les cancers sensibles aux hormones, nécessitant une prise en compte attentive dans les stratégies de traitement. En revanche, l'absence d'activité cancérigène de l'isoquercétine et de la 3-méthoxyquercétine suggère un profil plus sûr en thérapie anticancéreuse, ce qui pourrait les rendre des candidats plus viables pour des interventions anticancéreuses.

De plus, en ce qui concerne l'activité antioxydante ciblant le récepteur SOD, les résultats toxicologiques prédits des composés fournissent des informations sur leurs effets potentiels sur le

stress oxydatif et les mécanismes de défense antioxydants. Les activités immunotoxiques et mutagènes de la quercétine pourraient compromettre l'intégrité cellulaire et les voies antioxydantes, limitant ainsi son efficacité en tant qu'antioxydant.

En revanche, les toxicités rénales et respiratoires observées pour l'isoquercétine et la 3-méthoxyquercétine pourraient indiquer des défis potentiels dans le cadre d'une thérapie antioxydante, notamment si ces effets exacerbent les conditions de stress oxydatif existantes. Alors que certains composés présentent des profils de sécurité prometteurs dans certains aspects, d'autres soulèvent des préoccupations concernant leurs effets indésirables potentiels, mettant en évidence l'importance d'une prise de décision éclairée dans leur utilisation et la nécessité de recherches supplémentaires pour confirmer ces prédictions.

#### IV-9- Résultats du serveur Pass Online

Les prédictions concernant l'activité des trois composés phytochimiques (isoquercétine, 3-méthoxyquercétine et quercétine) sont présentées dans le **Tableau IV.8**. Ce tableau détaille leurs qualités anti-cancéreuses et leur capacité antioxydante. Les probabilités, indiquées sous les formes (Pa) et (Pi), sont attribuées à chaque composé, signifiant la probabilité de son activité ou de son inactivité dans chaque catégorie correspondante.

**Tableau IV.8** : Activités prédites pour les composés étudiés : isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b) et quercétine (c), générées à l'aide du serveur PASS en ligne.

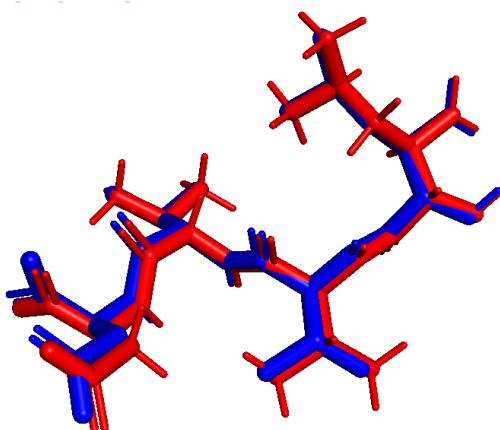
	(a)		(b)		(c)	
Activité prédite	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
Anticancéreuse	0,965	0,001	0,740	0,007	0,757	0,007
Antioxydante	0,913	0,003	0,657	0,004	0,872	0,00

Pour l'activité anticancéreuse, l'isoquercétine montre une probabilité élevée d'activité ( $P_a = 0,965$ ), ce qui indique une forte probabilité d'exercer des effets anticancéreux. La 3-méthoxyquercétine et la quercétine montrent également une activité anticancéreuse potentielle, bien que les probabilités soient plus faibles ( $P_a = 0,001$  et  $P_a = 0,740$ , respectivement). Cependant, il est important de noter que la probabilité d'activité de l'Ophioglonol est significativement plus faible par

rapport aux deux autres composés. En ce qui concerne la capacité antioxydante, les trois composés montrent des probabilités notables d'activité. L'isoquercétine et la Quercétine présentent des probabilités relativement élevées d'activité antioxydante ( $P_a = 0,913$  et  $P_a = 0,872$ , respectivement), ce qui suggère un fort potentiel antioxydant. La 3-méthoxyquercétine montre également une activité antioxydante potentielle, bien que sa probabilité soit légèrement inférieure ( $P_a = 0,657$ ). Ces prédictions suggèrent que les trois composés possèdent un potentiel prometteur à la fois en tant qu'agents anticancéreux et antioxydants, l'isoquercétine affichant des probabilités particulièrement élevées dans les deux catégories. Ainsi, ces activités ont été étudiées par analyse de docking moléculaire.

#### IV-10- Étude de docking moléculaire

Une étude a été réalisée pour évaluer les activités anticancéreuses et antioxydantes des composés phytochimiques à travers une analyse de docking moléculaire contre l'aminopeptidase humaine N (ID PDB : 4FYT) et la superoxyde dismutase (SOD) (ID PDB : 1CB4). Les résultats de l'analyse, y compris les scores d'énergie de liaison, les types d'interaction et les distances récepteur-ligand, sont résumés dans le **Tableau IV.9**. Lors de la phase de validation du re-docking, le ligand co-cristallisé (Amastatine) a montré une excellente valeur RMSD de 0,0289 Å et un score de docking de -13,9 kcal/mole, comme indiqué dans la **figure IV-8**.

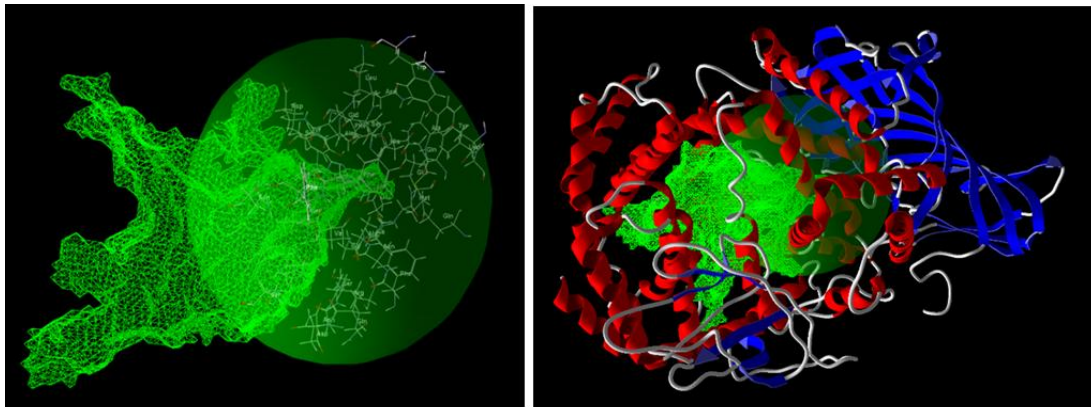


**Figure IV.8.** Étape de validation de l'Amastatine (Calcul RMSD)

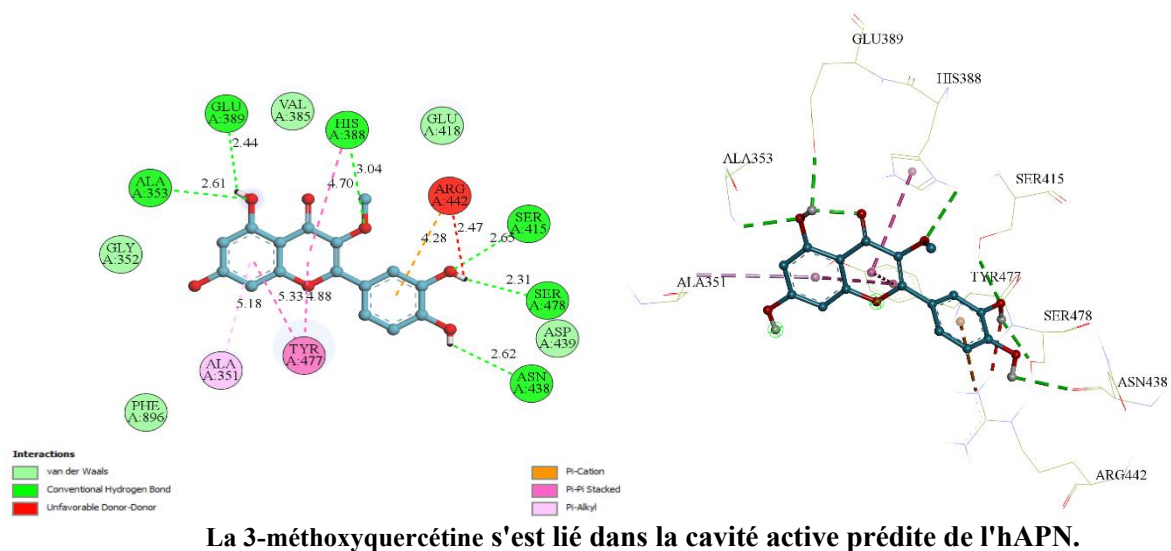
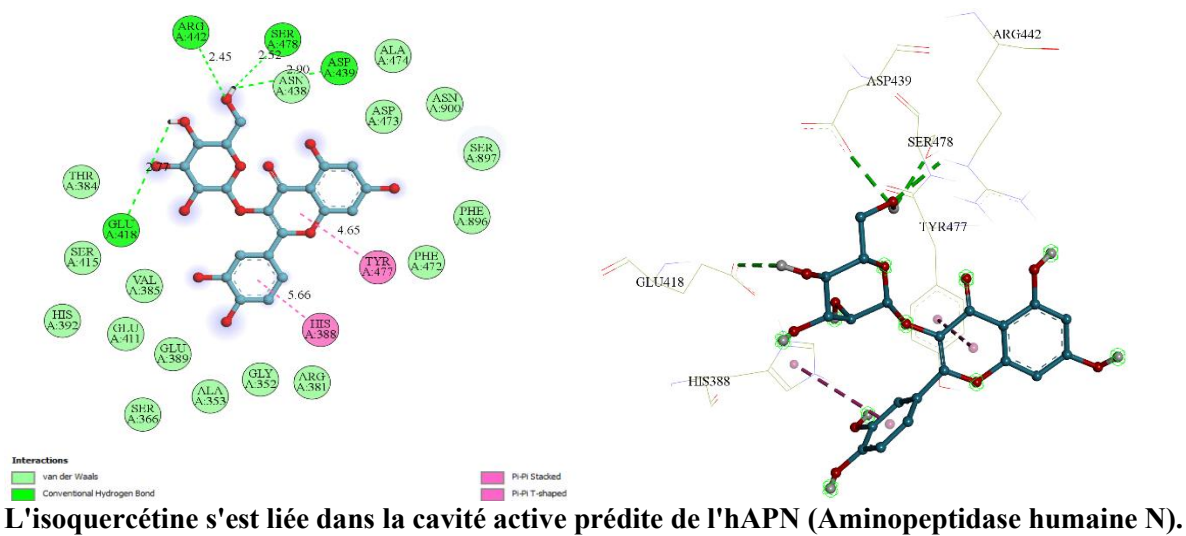
##### IV-10-1- Interaction avec l'Aminopeptidase humaine N (ID PDB : 4FYT)

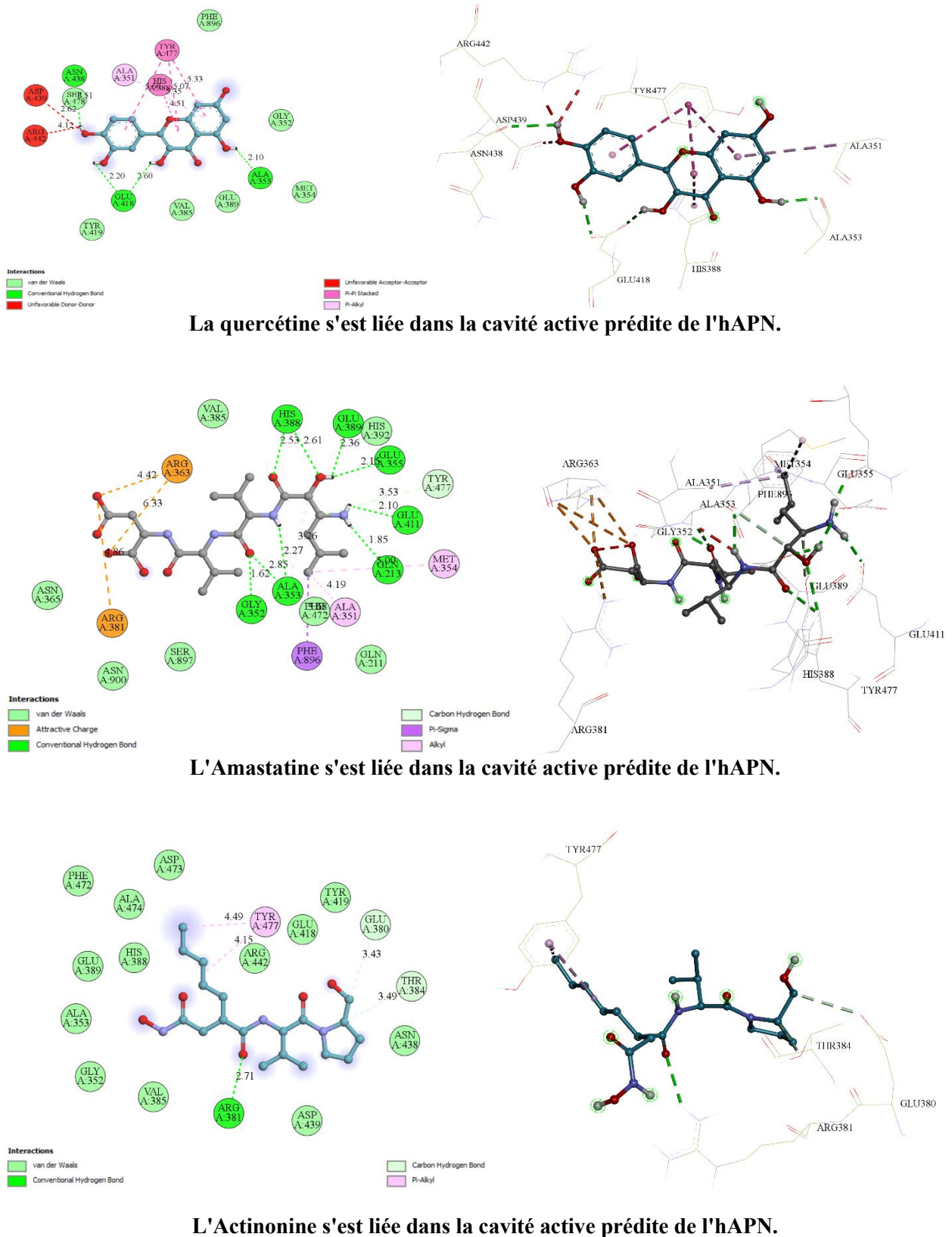
L'étude visait à examiner les interactions de liaison de cinq molécules (trois phytochimiques, l'Amastatine et l'Actinonine) avec la cavité active de l'Aminopeptidase

humaine N (**Figure IV.9**), en se concentrant sur l'évaluation de leurs activités anticancéreuses potentielles contre les lignées cellulaires monocytaires humaines THP-1.



**Figure IV.9 :** Cavité active prédite de l'aminopeptidase humaine N (CD13) (ID PDB : 4FYT) inclut les résidus d'acides aminés Leu, Ala, Thr, Trp, Arg, Gln, Glu, Asn, Asp, Gly, His, Mey, Phe, Ser, Tyr et Val.





**Figure IV.10 :** Interaction de docking moléculaire en 2D (à gauche) et en 3D (à droite) des composés étudiés isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b) et quercétine (c), ainsi que des médicaments standard (Amastatine et Actinonine) avec la cavité active prédite de l'aminopeptidase humaine N (hPAN/CD13) (ID PDB : 4FYT).

Sur la base des résultats de l'analyse de docking moléculaire, nous avons constaté que trois phytochimiques isolés (isoquercétine (UNKI), la 3-méthoxyquercétine (UNKO) et quercétine (UNKQ)) ainsi que deux molécules standards (Amastatine (AMS) et Actinonine (ACT)) se lient efficacement à la poche active de l'Amino-peptidase humaine N (hAPN/CD13) des cellules monocytaires humaines THP-1, avec le code PDB 4FYT. Les scores de docking, variant de -13,9 Kcal/mol à -8,8 Kcal/mol, fournissent une mesure quantitative de la force de liaison récepteur-ligand. L'Amastatine (AMS) a montré la plus grande affinité pour hAPN/CD13, suivie par la quercétine (UNKQ). L'isoquercétine (UNKI) a montré une bonne affinité de liaison de -9,0 kcal/mol avec la protéine hAPN, proche du médicament standard Actinonine (-9,4 kcal/mol). Elle a formé quatre liaisons hydrogène conventionnelles avec des résidus clés (ARG442, ASP439, SER478, et GLU418) de hAPN/CD13, avec des distances allant de 2,448 Å à 2,772 Å. La présence d'interactions de type empilement avec HIS388 et TYR477 suggère des interactions stabilisantes supplémentaires.

En termes d'activité anticancéreuse contre la protéine hAPN, nous avons identifié les acides aminés ARG, GLU, et TYR comme étant efficaces et fortement impliqués dans la liaison, comme rapporté par Węglarz-Tomczak, Ewelina, et al [15]. De plus, la 3-méthoxyquercétine (UNKO) présente une forte affinité de liaison pour hAPN/CD13, avec un score de docking de -8,8 Kcal/mol. Cela est dû aux six liaisons hydrogène conventionnelles formées avec différentes parties de la protéine hAPN/CD13, ainsi qu'aux interactions pi-cation, Pi-Alkyl et des empilements pi-pi.

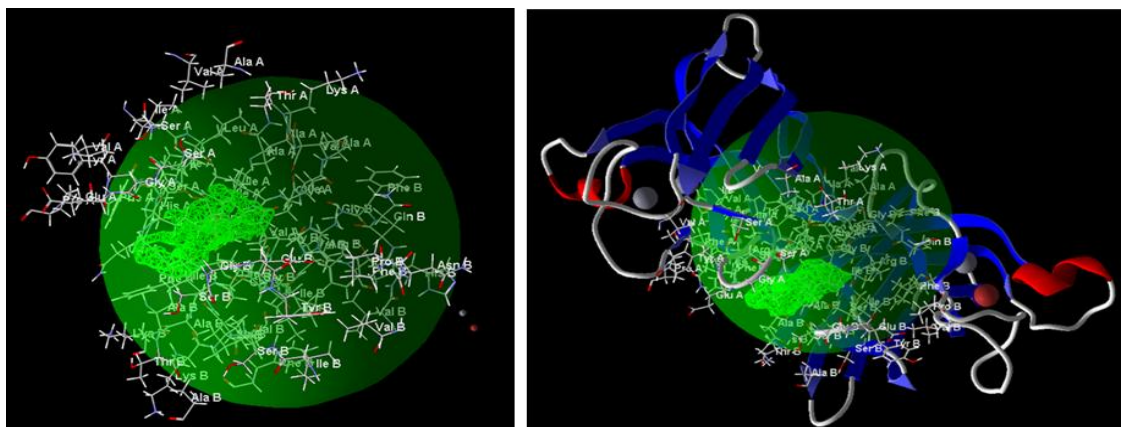
Quant à la quercétine (UNKQ), elle a la plus grande affinité de liaison pour hAPN/CD13 parmi les ligands testés, avec un score de docking de -10,1 Kcal/mol. Elle forme quatre liaisons hydrogène conventionnelles avec des parties spécifiques de la protéine et bénéficie également d'interactions pi-pi de type empilement et Pi-Alkyl. Le médicament standard Amastatine (AMS) a la plus forte affinité de liaison pour hAPN/CD13 parmi tous les ligands, avec un score de docking de -13,9 Kcal/mol. Il interagit avec de multiples résidus, notamment GLY352, ALA353, HIS388, GLU411, GLN213, GLU355 et GLU389 de hAPN/CD13, formant neuf liaisons hydrogène avec des distances variant de 1,615 Å à 2,851 Å. De plus, deux acides aminés, ARG363 et ARG381, interagissent avec le récepteur via quatre interactions de charges attractives. La présence de deux liaisons carbone-hydrogène et d'interactions pi-sigma stabilise encore la liaison. Le médicament standard ACT présente également une forte affinité de liaison pour le récepteur hAPN avec un score de docking de -9,0 Kcal/mol. Il interagit avec les résidus

ARG381, THR384, GLU380 et TYR477 par une seule liaison hydrogène conventionnelle, deux liaisons carbone-hydrogène et deux interactions Pi-Alkyle, respectivement, ce qui contribue à sa liaison

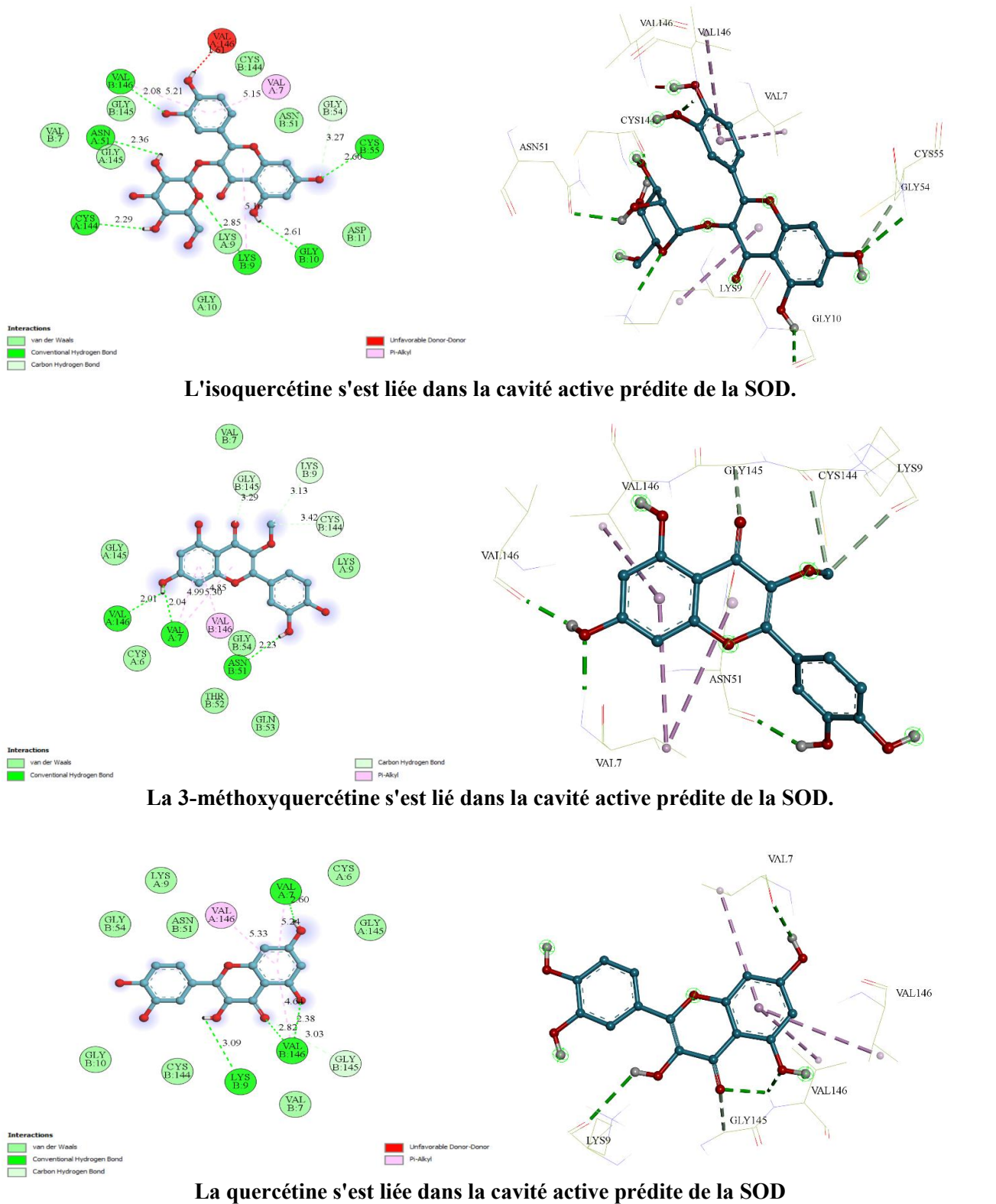
En résumé, cette étude de docking moléculaire a révélé des interactions prometteuses entre plusieurs composés et la protéine Aminopeptidase humaine N (hAPN/CD13), connue pour son rôle dans la progression du cancer. Notamment, l'Amastatine a montré la plus grande affinité de liaison, suivie de près par la Quercétine, parmi les autres composés testés. Ces résultats soulignent le potentiel de ces composés en thérapie anticancéreuse en ciblant l'enzyme hAPN

#### IV-10-2- Interaction avec la Superoxyde Dismutase (SOD) (ID PDB : 1CB4)

La superoxyde dismutase (SOD) cuivre-zinc est une métalloprotéine hautement efficace qui joue un rôle essentiel dans la protection des cellules contre le stress oxydatif [16,17]. En son absence, la capacité de notre corps à se défendre contre le stress oxydatif serait considérablement affaiblie. Sa fonction principale est de catalyser la dismutation des radicaux superoxyde ( $O_2^\bullet$ ) en oxygène ( $O_2$ ) et en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), ce qui empêche la formation de molécules d'oxygène réactives (ROS) pouvant être hautement réactives et nuisibles, telles que les radicaux hydroxyles ( $OH^\bullet$ ) [18]. Cette enzyme est présente dans différents compartiments cellulaires, y compris le cytoplasme, les mitochondries et l'espace extracellulaire, ce qui souligne son importance pour le maintien de l'équilibre redox cellulaire et pour la protection des biomolécules comme les protéines, les lipides et l'ADN contre les dommages oxydatifs [19]. Il convient de noter que le dysfonctionnement ou la déficience de la SOD a été lié à diverses conditions pathologiques telles que les maladies neurodégénératives, les troubles cardiovasculaires et le cancer, soulignant son rôle crucial dans la santé humaine et dans les maladies.



**Figure IV.11 :** La cavité active prédite de la SOD (ID PDB : 1CB4) inclut les résidus d'acides aminés Ala, Arg, Asn, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Phe, Pro, Ser, Thr, Tyr et Val.



**Figure IV.12 :** Interaction de docking moléculaire en 2D (à gauche) et en 3D (à droite) des composés étudiés isoquercétine (a), 3-méthoxyquercétine (b) et quercétine (c) avec la cavité active prédite de la Superoxyde Dismutase (SOD) (ID PDB : 1CB4).

---

Les résultats de l'analyse de docking moléculaire des trois phytochimiques (isoquercétine, 3-méthoxyquercétine et quercétine) dans la cavité active prédite de la superoxyde dismutase (SOD) (**Figure IV.11**) avec l'ID PDB : 1CB4, montrent des interactions favorables, comme en témoignent les valeurs de l'énergie de liaison (**Tableau IV.9**). Les données sont énergétiquement favorables ; isoquercétine (-9.0 kcal/mol), 3-méthoxyquercétine (-7.9 kcal/mol), et quercétine (-9.8 kcal/mol) montrent un fort potentiel d'interaction, ce qui indique qu'ils peuvent servir d'inhibiteurs ou d'activateurs efficaces de l'enzyme SOD. Les poses de liaison en 3D et en 2D de ces phytochimiques et leurs interactions avec le récepteur SOD sont montrées dans la **Figure IV.12**.

Les motifs d'interaction impliquent des liaisons hydrogène conventionnelles, des liaisons carbone-hydrogène et des interactions Pi-Alkyl, qui stabilisent considérablement le ligand au sein du site actif de l'enzyme, facilitant ainsi son activité biologique. Les résidus d'acides aminés clés tels que la lysine (LYS), la cystéine (CYS), la valine (VAL), la glycine (GLY), et l'asparagine (ASN) sont directement impliqués dans la liaison spécifique, renforçant ainsi la signification fonctionnelle potentielle. Les ligands occupent efficacement le site actif de l'enzyme, formant un complexe stable ligand-récepteur. Ainsi, toutes les interactions de liaisons hydrogène conventionnelles ont des distances variant de 2.010 Å à 2.852 Å. L'isoquercétine et la quercétine présentent des affinités de liaison et des motifs d'interaction comparables, suggérant des similitudes structurelles et des mécanismes d'action potentiellement partagés. Bien que la 3-méthoxyquercétine présente une liaison légèrement plus faible, il forme des interactions significatives avec l'enzyme, mettant en évidence son potentiel en tant que modulateur de l'activité de la SOD.

Selon B. Hatai et SK Banerjee, le résidu d'acide aminé VAL7 a été trouvé pour stabiliser efficacement le complexe ligand-enzyme SOD par des interactions de liaisons hydrogène [20]. Cette étude a révélé que le résidu d'acide aminé VAL (spécifiquement VAL7 et VAL146) est impliqué dans des liaisons hydrogène avec l'isoquercétine, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine, avec des distances variant de 2.010 à 2.825 Å. De plus, les interactions Pi-Alkyl entre les ligands et les résidus d'acides aminés VAL contribuent également à la stabilité des complexes. Ces résultats fournissent des informations précieuses sur les mécanismes moléculaires sous-jacents à l'interaction entre les composés phytochimiques et la superoxyde dismutase (SOD) cuivre-zinc, soulignant les implications thérapeutiques potentielles pour diverses maladies liées au stress oxydatif et à l'inflammation.

**Tableau IV. 9 :** Résultats de l'analyse de docking moléculaire (scores d'énergie de liaison (Kcal/mol), interactions, type d'interaction, et distances (Å)) des composés étudiés isoquercétine (a), Ophioglonol (b), et Quercétine (c) ainsi que des molécules standard dans la cavité active prédite de l'aminopeptidase humaine N (hAPN/CD13) (ID PDB : 4FYT) et de la superoxyde dismutase (SOD) (ID PDB : 1CB4).

Ligand	score d'énergie de liaison (Kcal/mol)	Interaction	Type d'interaction	Distance (Å)
<b>Aminopeptidase Humaine N (CD13) (PDB ID: 4FYT)</b>				
isoquercétine	-9.0	A:ARG442:HE - :UNKI:O	lien hydrogène conventionnel	2.448
		:UNKI:H - A:ASP439:OD1	lien hydrogène conventionnel	2.895
		:UNKI:H - A:SER478:OG	lien hydrogène conventionnel	2.519
		:UNKI:H - A:GLU418:OE2	lien hydrogène conventionnel	2.772
		A:TYR477 - :UNKI	Pi-Pi Stacked	4.647
		A:HIS388 - :UNKI	Pi-Pi T-shaped	5.659
3-méthoxyquercétine	-8.8	A:ALA353:HN - :UNKO:O	lien hydrogène conventionnel	2.606
		A:HIS388:HD1 - :UNKO:O	lien hydrogène conventionnel	3.042
		A:SER415:HG - :UNKO:O	lien hydrogène conventionnel	2.648
		:UNKO:H - A:SER478:OG	lien hydrogène conventionnel	2.306
		:UNKO:H - A:ASN438:O	lien hydrogène conventionnel	2.619
		:UNKO:H - A:GLU389:OE2	lien hydrogène conventionnel	2.443
		:UNKO:H - :UNKO:O	lien hydrogène conventionnel	2.007
		A:ARG442:NH1 - :UNKO	Pi-Cation	4.277
		A:HIS388 - :UNKO	Pi-Pi Stacked	4.697
		A:TYR477 - :UNKO	Pi-Pi Stacked	4.883
		A:TYR477 - :UNKO	Pi-Pi Stacked	5.334
		:UNKO - A:ALA351	Pi-Alkyl	5.178

quercétine	-10.1	:UNKQ:H - A:ASN438:O	lien hydrogène conventionnel	2.511
		:UNKQ:H - A:ALA353:O	lien hydrogène conventionnel	2.098
		:UNKQ:H - A:GLU418:OE1	lien hydrogène conventionnel	2.596
		:UNKQ:H - A:GLU418:OE2	lien hydrogène conventionnel	2.204
		A:HIS388 - :UNKQ	Pi-Pi Stacked	4.509
		A:TYR477 - :UNKQ	Pi-Pi Stacked	5.071
		A:TYR477 - :UNKQ	Pi-Pi Stacked	5.599
		A:TYR477 - :UNKQ	Pi-Pi Stacked	5.326
		:UNKQ - A:ALA351	Pi-Alkyl	5.348
		Amastatine	-13.9	A:ARG363:NH1 - AMS:O6
A:ARG363:NH1 - AMS:O8	Attractive Charge			3.415
A:ARG363:NH2 - AMS:O6	Attractive Charge			3.972
A:ARG363:NH2 - AMS:O8	Attractive Charge			3.399
A:ARG381:NH2 - AMS:O8	Attractive Charge			4.857
A:GLY352:HN - AMS:O3	lien hydrogène conventionnel			1.615
A:ALA353:HN - AMS:O3	lien hydrogène conventionnel			2.851
A:HIS388:HE2 - AMS:O1	lien hydrogène conventionnel			2.608
A:HIS388:HE2 - AMS:O2	lien hydrogène conventionnel			2.534
AMS:H1 - A:GLU411:OE2	lien hydrogène conventionnel			2.096
AMS:H2 - A:GLN213:OE1	lien hydrogène conventionnel			1.848
AMS:H14 - A:GLU355:OE1	lien hydrogène conventionnel			2.155
AMS:H14 - A:GLU389:OE1	lien hydrogène conventionnel			2.356
AMS:H15 - A:ALA353:O	lien hydrogène conventionnel			2.272
AMS:C1 - A:TYR477:OH	Carbon Hydrogen Bond			3.529
AMS:C6 - A:ALA353:O	Carbon Hydrogen Bond			3.262
AMS:C5 - A:PHE896	Pi-Sigma			3.677
A:ALA351 - AMS:C5	Alkyl			4.192
AMS:C5 - A:MET354	Alkyl			5.003

Actinonin	-9.4	A:ARG381:HH12 - :ACT:O3	Conventional Hydrogen Bond	2.705
		:ACT:C1 - A:THR384:OG1	Carbon Hydrogen Bond	3.491
		:ACT:C7 - A:GLU380:OE2	Carbon Hydrogen Bond	3.428
		A:TYR477 - :ACT	Pi-Alkyl	4.149
		A:TYR477 - :ACT:C19	Pi-Alkyl	4.489
<b>Superoxide dismutase (SOD) (PDB ID: 1CB4)</b>				
isoquercétine	-9.0	B:LYS9:HZ2 - :UNKI:O	Conventional Hydrogen Bond	2.852
		B:CYS55:HN - :UNKI:O	Conventional Hydrogen Bond	2.601
		B:VAL146:HN - :UNKI:O	Conventional Hydrogen Bond	2.077
		:UNKI:H - A:ASN51:OD1	Conventional Hydrogen Bond	2.357
		:UNKI:H - B:GLY10:O	Conventional Hydrogen Bond	2.613
		:UNKI:H - A:CYS144:O	Conventional Hydrogen Bond	2.287
		B:GLY54:CA - :UNKI:O	Carbon Hydrogen Bond	3.269
		:UNKI - B:LYS9	Pi-Alkyl	5.156
		:UNKI - A:VAL7	Pi-Alkyl	5.149
		:UNKI - B:VAL146	Pi-Alkyl	5.206
3-méthoxyquercétine	-7.9	A:VAL7:HN - :UNKO:O	Conventional Hydrogen Bond	2.039
		:UNKO:H - B:ASN51:O	Conventional Hydrogen Bond	2.229
		:UNKO:H - A:VAL146:O	Conventional Hydrogen Bond	2.010
		B:GLY145:CA - :UNKO:O	Carbon Hydrogen Bond	3.287
		:UNKO:C - B:LYS9:O	Carbon Hydrogen Bond	3.126
		:UNKO:C - B:CYS144:O	Carbon Hydrogen Bond	3.419
		:UNKO - A:VAL7	Pi-Alkyl	5.304
		:UNKO - A:VAL7	Pi-Alkyl	4.986
		:UNKO - B:VAL146	Pi-Alkyl	4.849

quercétine	-9.8	B:VAL146:HN - :UNKQ:O	Conventional Hydrogen Bond	2.825
		B:VAL146:HN - :UNKQ:O	Conventional Hydrogen Bond	2.377
		:UNKQ:H - A:VAL7:O	Conventional Hydrogen Bond	2.603
		:UNKQ:H - B:LYS9:O	Conventional Hydrogen Bond	3.085
		B:GLY145:CA - :UNKQ:O	Carbon Hydrogen Bond	3.031
		:UNKQ - A:VAL7	Pi-Alkyl	5.239
		:UNKQ - A:VAL146	Pi-Alkyl	5.327
		:UNKQ - B:VAL146	Pi-Alkyl	4.639

#### IV-11- Simulations de dynamique moléculaire (MD)

Afin de mieux comprendre les interactions dynamiques des inhibiteurs isoquercétine, 3-méthoxyquercétine, quercétine et Actinonine avec l'enzyme anticancéreuse mentionnée ci-dessus, ainsi que la stabilité de ces inhibiteurs dans le site actif de l'enzyme étudiée, des complexes représentatifs isoquercétine /4FYT, la 3-méthoxyquercétine /4FYT, quercétine/4FYT et Actinonine/4FYT ont été soumis à des simulations de dynamique moléculaire (MD) sur 100 ns. Les résultats de ce calcul (**Tableau IV.10**) ont montré le nombre d'interactions actives de ces inhibiteurs avec des résidus dans le site actif de l'enzyme 4FYT. La MD a également permis d'identifier les résidus impliqués dans ces interactions actives et la durée pendant laquelle les complexes étudiés sont restés modérément stables dans le site actif de cette enzyme. Ainsi, le composé isoquercétine forme plusieurs liaisons hydrogène avec des résidus importants. Des liaisons hydrogène médiées par l'eau sont observées avec des résidus à des distances de 1,621 Å, 2,013 Å et 2,434 Å, tandis que des liaisons hydrogène conventionnelles sont formées avec ALA289 (2,032 Å) et GLU325 (2,838 Å et 2,541 Å). D'autres interactions comprennent une liaison carbone-hydrogène à 2,711 Å et une interaction pi-pi avec TYR413 à 4,500 Å. Le ligand 3-méthoxyquercétine montre une forte liaison grâce à plusieurs liaisons hydrogène conventionnelles : avec les résidus ALA289 (2,919 Å), SER414 (1,841 Å), ASP375 (2,529 Å) et GLU354 (1,579 Å et 1,599 Å). Une interaction pi-anion avec GLU347 est observée à 4,404 Å, et une interaction pi-pi avec HIE324 se produit à 4,145 Å. Le quercétine interagit via des liaisons hydrogène médiées par l'eau avec des distances de 1,768 Å, 2,271 Å, 1,931 Å et 2,959 Å. Des liaisons hydrogène conventionnelles sont formées avec ASP762 (1,785 Å) et ARG317 (2,303 Å). Il présente également des liaisons carbone-hydrogène à des distances de 2,811 Å et 2,747 Å. De plus, des interactions pi-alkyle avec ARG317 sont observées à 4,997 Å et 5,367 Å. Enfin, le médicament standard Actinonine engage des liaisons hydrogène médiées par l'eau à des distances de 1,976 Å et 1,812 Å, et des liaisons hydrogène conventionnelles avec les résidus

PHE832 (2,655 Å), SER833 (1,994 Å), ASN836 (2,784 Å) et ASN286 (2,093 Å et 2,854 Å). Des liaisons carbone-hydrogène sont également observées avec SER833 à des distances de 2,727 Å, 3,078 Å, 2,658 Å et 3,095 Å.

Ces données soulignent le potentiel de ces inhibiteurs à interagir efficacement avec l'enzyme, mettant en évidence leurs mécanismes de liaison prometteurs et suggérant leur viabilité pour des tests supplémentaires dans le développement de médicaments anticancéreux.

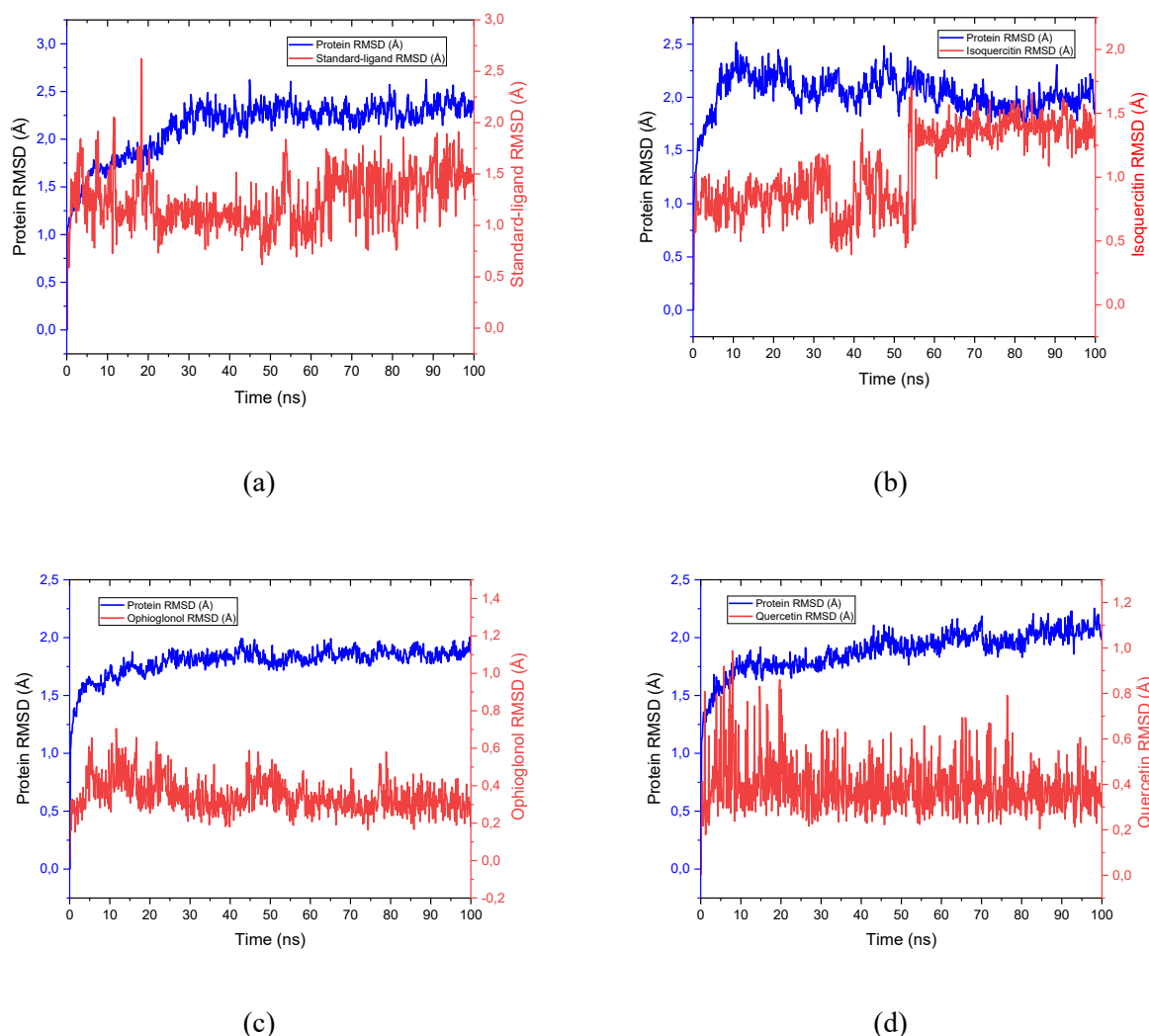
Pour évaluer la stabilité des complexes protéine-ligand, nous avons calculé l'écart quadratique moyen (RMSD) pour chaque système. Les ligands isoquercétine, 3-méthoxyquercétine, quercétine, et le médicament standard Actinonine, ont été testés avec l'aminopeptidase humaine N (hAPN/CD13). Comme indiqué dans la **Figure IV.13**, la présence du ligand a entraîné une stabilité accrue. Le RMSD de l'ajustement du ligand sur la protéine s'est stabilisé après 10 ns, atteignant environ 2 à 2,5 Å après 100 ns. Tout au long de la simulation, de nombreuses liaisons hydrogène, interactions hydrophobes et ponts d'eau se sont formés. Nos résultats suggèrent fortement que la molécule identifiée pourrait servir de composé de tête potentiel pour inhiber les actions de la protéine en interagissant au niveau du site de liaison.

**Tableau IV.10** : Les résultats des simulations de dynamique moléculaire (MD) ; interactions, type d'interaction, et distances (Å) des composés étudiés : isoquercétine (a), la 3-méthoxyquercétine (b), quercétine (c), ainsi que de la molécule standard (Actinonine) dans la cavité active prédite du récepteur de l'aminopeptidase humaine N (hAPN/CD13) (PDB ID: 4FYT).

Ligand	Interaction	Type d'interaction	Distance (Å)
<b>aminopeptidase humaine N (CD13) (PDB ID: 4FYT)</b>			
isoquercétine	:UNKI:H1 - X:WAT7861:O	liaison hydrogène de l'eau; Liaison H-Bond conventionnelle	1.621
	X:WAT1744:H2 - :UNKI:O4	liaison hydrogène de l'eau; Liaison H-Bond conventionnelle	2.013
	X:WAT8040:H2 - :UNKI:O10	liaison hydrogène de l'eau; Liaison H-Bond conventionnelle	2.434
	X:ALA289:HN - :UNKI:O8	Liaison H-Bond conventionnelle	2.032
	:UNKI:H10 - X:ALA289:O	Liaison H-Bond conventionnelle	2.838
	:UNKI:H10 - X:GLU325:OE2	Liaison H-Bond conventionnelle	2.541
	:UNKI:H11 - X:GLU325:OE2	Liaison H-Bond conventionnelle	1.855
	:UNKI:H13 - :UNKI:O6	Liaison H-Bond conventionnelle	1.777
	:UNKI:H15 - X:PHE408:O	Liaison H-Bond conventionnelle	1.629
	:UNKI:H17 - :UNKI:O6	Liaison carbone-hydrogène	2.711
	X:TYR413 - :UNKI	empilement Pi-Pi	4.500

Ligand	Interaction	Type d'interaction	Distance (Å)
<b>aminopeptidase humaine N (CD13) (PDB ID: 4FYT)</b>			
3-méthoxyquercétine	X:WAT6639:H2 - UNKO:O5	liaison hydrogène de l'eau; liaison hydrogène conventionnelle	2.655
	X:ALA289:HN - UNKO:O6	liaison hydrogène conventionnelle	2.919
	X:SER414:HG - UNKO:O4	liaison hydrogène conventionnelle	1.841
	UNKO:H3 - X:ASP375:OD2	liaison hydrogène conventionnelle	2.529
	UNKO:H4 - X:GLU354:OE1	liaison hydrogène conventionnelle	1.579
	UNKO:H6 - X:GLU325:OE2	liaison hydrogène conventionnelle	1.599
	UNKO:H8 - X:GLU347:OE1	liaison hydrogène conventionnelle	4.404
	X:GLU347:OE2 - UNKO	Pi-Anion	4.145
	X:HIE324 - UNKO	empilement Pi-Pi	
quercétine	:UNKQ:H1 - A:WAT8058:O	liaison hydrogène de l'eau; liaison hydrogène conventionnelle	1.768
	:UNKQ:H2 - A:WAT2362:O	liaison hydrogène de l'eau; liaison hydrogène conventionnelle	2.271
	A:WAT3636:H1 - :UNKQ904:O1	liaison hydrogène de l'eau; liaison hydrogène conventionnelle	1.931
	A:WAT4801:H2 - :UNKQ:O7	liaison hydrogène de l'eau; liaison hydrogène conventionnelle	2.959
	:UNKQ:H6 - A:ASP762:OD1	liaison hydrogène conventionnelle	1.785
	:UNKQ:H10 - A:ARG317:O	liaison hydrogène conventionnelle	2.303
	A:ASN314:HA - :UNKQ:O7	liaison hydrogène conventionnelle	2.811
	A:ASN759:HA - :UNKQ:O6	liaison hydrogène conventionnelle	2.747
	:UNKQ - A:ARG317	Pi-Alkyle	4.997
	:UNKQ - A:ARG317	Pi-Alkyle	5.367
Actinonine	ACT:H18 - X:WAT4178:O	liaison hydrogène de l'eau; liaison hydrogène conventionnelle	1.976
	X:WAT7875:H1 - ACT:O1	liaison hydrogène de l'eau; liaison hydrogène conventionnelle	1.812
	X:PHE832:HN - ACT:O4	liaison hydrogène conventionnelle	2.655
	X:SER833:HN - ACT:O4	liaison hydrogène conventionnelle	1.994
	X:ASN836:HD22 - ACT:O2	liaison hydrogène conventionnelle	2.784
	ACT:H19 - X:ASN286:OD1	liaison hydrogène conventionnelle	2.093
	ACT:H19 - X:ASN286:O	liaison hydrogène conventionnelle	2.854
	ACT:H35 - X:SER797:OG	liaison hydrogène conventionnelle	2.384
	X:SER833:HA - ACT:O2	liaison hydrogène conventionnelle	2.727
	X:SER833:HB2 - ACT:O2	liaison carbone-hydrogène	3.078
	X:SER833:HB2 - ACT:O2	liaison carbone-hydrogène	2.658
	X:SER833:HB2 - ACT:O4	liaison carbone-hydrogène	3.095

Le graphique affiche les valeurs du RMSD pour la protéine sur l'axe des ordonnées gauche, tandis que les valeurs pour les ligands (Actinonine (a), isoquercitine (b), la 3-méthoxyquercétine (c) et quercétine (d)) sont représentées sur l'axe des ordonnées droit. Le graphique du RMSD pour le squelette de la protéine est représenté en bleu, et celui des ligands est montré en rouge



**Figure IV.13 :** L'écart quadratique moyen (RMSD) de la protéine et des ligands a été calculé après la stabilisation des valeurs initiales du RMSD. .

#### IV-12- Calculs de la mécanique moléculaire avec le modèle Born généralisé pour la surface (MM/GBSA)

Les résultats de calcul de la mécanique moléculaire avec le modèle Born généralisé pour la surface (MM/GBSA) sont résumés dans le **Tableau IV.11**. En résumé, il contient les composants énergétiques qui constituent une approche populaire pour estimer l'affinité de liaison entre une protéine et son ligand. Le  $\Delta E_{vdW}$  (kcal/mol) représente la composante d'énergie van der Waals qui indique les interactions attractives et répulsives entre la protéine et le ligand.

Des valeurs plus faibles (plus négatives) indiquent des interactions favorables plus fortes. Le  $\Delta E_{ele}$  (kcal/mol) représente l'énergie électrostatique, indiquant l'attraction ou la répulsion électrostatique entre les parties chargées de la protéine et du ligand. Des valeurs plus négatives indiquent une attraction électrostatique plus forte. Le  $\Delta E_{GB}$  (kcal/mol) représente l'énergie de

solvation polaire calculée à l'aide du modèle Born généralisé (GB). Cette énergie prend en compte la pénalité de désolvation lorsque le ligand se lie à la protéine. Des valeurs positives indiquent que la solvation s'oppose à la liaison. Enfin, le  $\Delta G_{\text{MM-GBSA}}$  (kcal/mol) est l'énergie libre nette de liaison, combinant tous les composants énergétiques pour fournir une estimation globale de l'affinité de liaison. Des valeurs plus négatives indiquent une liaison plus forte entre la protéine et le ligand.

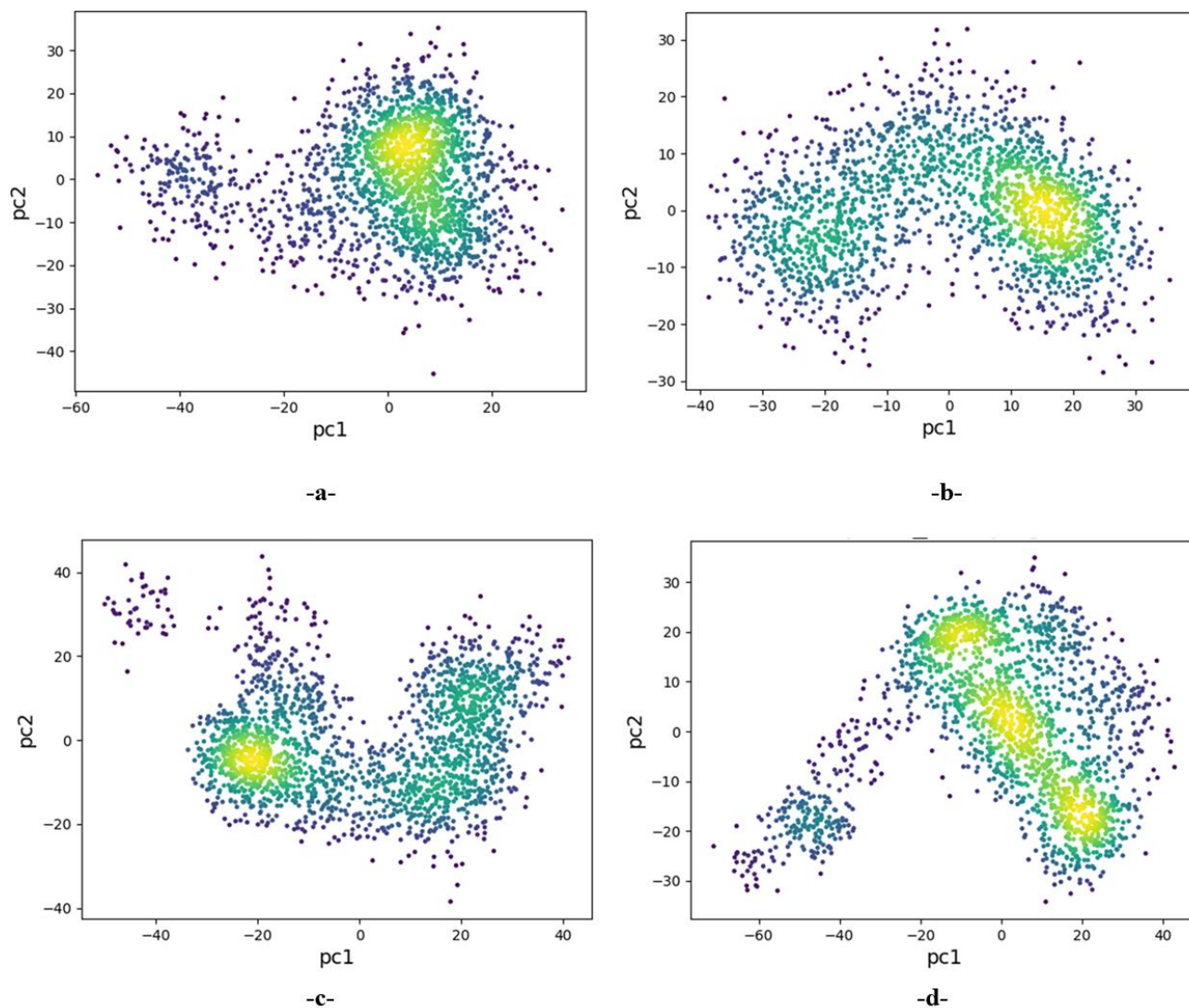
Les résultats révèlent des différences substantielles dans les forces de liaison. La 3-méthoxyquercétine a montré la plus forte affinité de liaison avec un  $\Delta G_{\text{MM-GBSA}}$  de -24,1644 kcal/mol, principalement favorisée par des interactions van der Waals significatives (-31,4979 kcal/mol) et des interactions électrostatiques (-51,2530 kcal/mol), malgré une énergie de solvation polaire défavorable (63,2715 kcal/mol). Le ligand standard a également montré une forte affinité avec un  $\Delta G_{\text{MM-GBSA}}$  de -19,1016 kcal/mol, soutenue par de solides interactions van der Waals (-39,6287 kcal/mol) et des interactions électrostatiques modérées (-23,8191 kcal/mol), partiellement contrebalancées par une énergie de solvation polaire positive (49,5733 kcal/mol). L'isoquercétine a montré une affinité de liaison modérée, avec un  $\Delta G_{\text{MM-GBSA}}$  de -15,1946 kcal/mol, caractérisée par une forte interaction électrostatique (-67,3039 kcal/mol) mais compensée par une pénalité de solvation polaire plus élevée (89,1263 kcal/mol) et une interaction van der Waals plus faible (-32,0086 kcal/mol). En revanche, la quercétine a affiché la plus faible affinité de liaison, avec un  $\Delta G_{\text{MM-GBSA}}$  de -14,0575 kcal/mol, attribuée à des interactions van der Waals relativement plus faibles (-26,3930 kcal/mol) et des interactions électrostatiques (-22,7958 kcal/mol), associées à une pénalité de solvation polaire significative (38,7259 kcal/mol). En conclusion, ces résultats suggèrent que la 3-méthoxyquercétine pourrait être un ligand plus puissant pour la protéine par rapport aux autres composés.

**Tableau IV.11** : Les différences calculées (Complexe - Récepteur - Ligand)  $\Delta E_{\text{vdW}}$  (kcal/mol),  $\Delta E_{\text{ele}}$  (kcal/mol),  $\Delta E_{\text{GB}}$  (kcal/mol) et  $\Delta G_{\text{MM-GBSA}}$  (kcal/mol)

Composant énergétique	Ligand standard	isoquercétine	quercétine	3-méthoxy quercétine
$\Delta E_{\text{vdW}}$ (kcal/mol)	-39.6287	-32.0086	-26.3930	-31.4979
$\Delta E_{\text{ele}}$ (kcal/mol)	-23.8191	-67.3039	-22.7958	-51.2530
$\Delta E_{\text{GB}}$ (kcal/mol)	49.5733	89.1263	38.7259	63.2715
$\Delta G_{\text{MM-GBSA}}$ (kcal/mol)	-19.1016	-15.1946	-14.0575	-24.1644

### IV-13- Analyse en composantes principales (ACP)

L'analyse en composantes principales (ACP) a été utilisée pour détecter les changements conformationnels de la protéine médiée par la liaison des produits naturels étudiés et révéler les mouvements collectifs des trajectoires de dynamique moléculaire (MD).



**Figure IV.14 :** Projection PCA de la simulation de 100 ns pour chaque complexe Ligand standard/4FYT (d), 3-méthoxyquercétine /4FYT (b), quercétine/4FYT (c), et isoquercétine /4FYT (d).

Selon la **Figure IV.14**, l'analyse des composantes principales a indiqué des changements conformationnels dans tous les clusters où la région verte a montré les mouvements les plus significatifs, la région blanche représentait des mouvements intermédiaires et la région violette affichait les mouvements les moins flexibles. Les régions colorées en jaune indiquent le type de

cluster. Les graphiques résultants après montrent un cluster pour chaque cas (**Figure IV.14 (a-c)**), tandis que dans le cas du médicament standard (**Figure IV.14 (d)**), trois clusters différents ont été observés. Chacun de ces clusters représente un minimum d'énergie identifié au cours de la simulation.

Cette étude a permis d'analyser en détail les propriétés électroniques, structurales et pharmacocinétiques de trois composés : l'isoquercétine, la 3-méthoxyquercétine et la quercétine, en mettant l'accent sur leur potentiel thérapeutique comme agents anticancéreux et antioxydants. Les simulations de dynamique moléculaire (MD) et les calculs MM/GBSA ont montré que ces composés forment des interactions stables avec les enzymes cibles (hAPN/CD13 et SOD). L'étude fournit des bases solides pour le développement ultérieur de ces composés comme candidats-médicaments, la 3-méthoxyquercétine émergeant comme un inhibiteur particulièrement prometteur de l'hAPN/CD13.

---

**Références Bibliographiques**

- [1] C. Andreini, I. Bertini, G. Cavallaro, G.L. Holliday, J.M. Thornton, Metal ions in biological catalysis: From enzyme databases to general principles, *Journal of Biological Inorganic Chemistry* 13 (2008) 1205–1218. <https://doi.org/10.1007/S00775-008-0404-5/METRICS>.
- [2] J. Palion-Gazda, A. Kwiecień, K. Choroba, M. Penkala, A. Kryczka, B. Machura, The Role of Intraligand Charge Transfer Processes in Iridium(III) Complexes with Morpholine-Decorated 4'-Phenyl-2,2':6',2''-terpyridine, *Molecules* 29 (2024) 3074. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES29133074/S1>.
- [3] K. Senthilkumar, M. Pizzotti, K. Thirumorthy, G. Di Carlo, S. Righetto, A. Orbelli Biroli, M. Haukka, N. Palanisami, New internal-charge-transfer second-order nonlinear optical chromophores based on the donor ferrocenylpyrazole moiety, *Journal of Physical Chemistry C* 120 (2016) 20277–20287. [https://doi.org/10.1021/ACS.JPCC.6B06364/SUPPL\\_FILE/JP6B06364\\_SI\\_002.CIF](https://doi.org/10.1021/ACS.JPCC.6B06364/SUPPL_FILE/JP6B06364_SI_002.CIF).
- [4] J.T. Mo, Z. Wang, X.Y. Xu, F. Dieter, M. Pan, C.Y. Su, Bright long persistent luminescence in cluster-based MOFs derived from intra-ligand charge transfer characteristic, *Chemical Engineering Journal* 483 (2024) 149343. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2024.149343>.
- [5] A. Del Guerso, S. Leroy, F. Fages, R.H. Schmehl, Photophysics of Re(I) and Ru(II) diimine complexes covalently linked to pyrene: Contributions from intra-ligand charge transfer states, *Inorg Chem* 41 (2002) 359–366. <https://doi.org/10.1021/IC010522V/ASSET/IMAGES/MEDIUM/IC010522VN00001.GIF>.
- [6] H. Ghanem, O. Khaoua, A. Ouahab, N. Benbellat, H. Haba, In silico Pharmacodynamics, Antineoplastic Activity and Molecular Docking of two Phytochemicals Isolated from *Thymelaea microphylla*, *Lett Drug Des Discov* 21 (2023) 2644–2660. <https://doi.org/10.2174/1570180820666230726111321>.
- [7] H. Soukehal, O. Khaoua, S. Zeroual, N. Benbellat, A. Gouasmia, S. Golhen, Synthesis, single crystal X-ray, and DFT study of new hybrid-ligand complex [Cu(hfac)<sub>2</sub>(Me<sub>3</sub>TTF-CH=CH-Pyr)] and new mixed-valence radical ion salt (Me<sub>3</sub>TTF-CH=CH-Pyr)<sub>2</sub>(PF<sub>6</sub>)<sub>3</sub>, *J Mol Struct* 1316 (2024) 139039. <https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2024.139039>.
- [8] S. Belhouchat, S. Zeroual, N. Benbellat, O. Khaoua, S. Bouchekioua, R. Menacer, H. Chermette, DFT and Docking Calculations of the Structural, Electronic, Biological and

- 
- Conductivity Properties of the Synthetic Complex  $[\text{Cu}(\text{hfac})_2(\text{L})_2][\text{PF}_6]_2$ , *ChemistrySelect* 9 (2024) e202304155. <https://doi.org/10.1002/SLCT.202304155>.
- [9] F. Guenfoud, O. Khaoua, Z. Cherak, L. Loucif, W. Boussebaa, N. Benbellat, M. Laabassi, P. Mosset, Synthesis, antimicrobial, DFT, and in silico pharmacokinetic profiling of nitroaldol quinoline derivatives: A comprehensive exploration for designing potential oral antibacterial agents targeting DNA-gyrase, *J Mol Struct* 1300 (2024) 137293. <https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2023.137293>.
- [10] T. Koopmans, Über die Zuordnung von Wellenfunktionen und Eigenwerten zu den Einzelnen Elektronen Eines Atoms, *Physica* 1 (1934) 104–113. [https://doi.org/10.1016/S0031-8914\(34\)90011-2](https://doi.org/10.1016/S0031-8914(34)90011-2).
- [11] A. Midoune, A. Messaoudi, DFT/TD-DFT computational study of the tetrathiafulvalene-1,3-benzothiazole molecule to highlight its structural, electronic, vibrational and non-linear optical properties, *Comptes Rendus Chimie* 23 (2020) 143–158. <https://doi.org/10.5802/CRCHIM.12/>.
- [12] A. Midoune, A. Messaoudi, DFT/TDDFT studies of the structural, electronic and NBO properties of some complexes with the tetrathiafulvalene-1,3-benzothiazole ligand, *Inorganica Chim Acta* 516 (2021) 120151. <https://doi.org/10.1016/J.ICA.2020.120151>.
- [13] M.Q. Zhang, B. Wilkinson, Drug discovery beyond the ‘rule-of-five,’ *Curr Opin Biotechnol* 18 (2007) 478–488. <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2007.10.005>.
- [14] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules, *Scientific Reports* 2017 7:1 7 (2017) 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- [15] E. Węglarz-Tomczak, M. Talma, M. Giurg, H. V. Westerhoff, R. Janowski, A. Mucha, Neutral metalloaminopeptidases APN and MetAP2 as newly discovered anticancer molecular targets of actinomycin D and its simple analogs, *Oncotarget* 9 (2018) 29365. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.25532>.
- [16] A.C. Rosa, D. Corsi, N. Cavi, N. Bruni, F. Dosio, Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses, *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 1844 26 (2021) 1844. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26071844>.
-

- 
- [17] R. Maurya, M. Namdeo, Superoxide dismutase: A key enzyme for the survival of intracellular pathogens in host, (2021). <https://www.intechopen.com/chapters/78800> (accessed April 9, 2024).
- [18] P. Mishra, P. Sharma, Superoxide Dismutases (SODs) and Their Role in Regulating Abiotic Stress induced Oxidative Stress in Plants, Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants: Production, Metabolism, Signaling and Defense Mechanisms (2019) 53–88. <https://doi.org/10.1002/9781119468677.CH3>.
- [19] P. Mondola, S. Damiano, A. Sasso, M. Santillo, The Cu, Zn superoxide dismutase: Not only a dismutase enzyme, *Front Physiol* 7 (2016) 221914. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2016.00594/BIBTEX>.
- [20] B. Hatai, S.K. Banerjee, Molecular docking interaction between superoxide dismutase (receptor) and phytochemicals (ligand) from *Heliotropium indicum* Linn for detection of potential phytoconstituents: New drug design for releasing oxidative stress condition/inflammation of osteoarthritis patients, *J Pharmacogn Phytochem* 8 (2019) 1700–1706.

*CONCLUSION*  
*GENERALE*

## *Conclusion Générale*

Depuis leur découverte, les flavonoïdes occupent une place essentielle dans la chimie végétale et la nutrition humaine en raison de leurs propriétés spécifiques, influençant la pigmentation, la défense des plantes et diverses activités biologiques. Notre étude s'est focalisée sur la quercétine, un flavonoïde représentatif impliqué dans de nombreux processus biologiques et pharmacologiques, ainsi que sur deux de ses dérivés : la 3-méthoxyquercétine et l'isoquercétine.

Afin de comprendre l'impact de leurs motifs structuraux sur la réactivité et leur rôle dans les processus biologiques, nous avons mené des études de mécanique quantique par DFT (B3LYP/6-311++G(2d,p)). L'analyse des orbitales moléculaires frontières (FMO) a révélé des écarts d'énergie ( $\Delta E_{\text{gap}}$ ) significatifs influençant réactivité et stabilité. La quercétine native se distingue par sa capacité à donner et accepter des électrons, expliquant son activité antioxydante et anticancéreuse. La méthylation (3-méthoxyquercétine) et la glycosylation (isoquercétine) modifient la distribution électronique et l'accès aux sites réactifs, impactant leur efficacité antioxydante.

L'étude approfondie des formes activées (radicaux libres (Quer), espèces déprotonées (DQue, DDQue), semi-quinones (SQue), quinones (OQue) et semi-quinones déprotonées (SDQue)) via la chimie quantique a identifié plusieurs sites réactifs distincts (C-5, C-7, C-4', C-5', C-3 pour la quercétine), capables de subir une déshydrogénation, déprotonation ou oxydation. Cette polyvalence conformationnelle explique leur capacité à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et à interagir avec des cibles biologiques (enzymes, acides aminés). L'analyse des longueurs de liaison et de l'enthalpie libre ( $\Delta G$ ) a montré un effet stabilisateur marqué du solvant H<sub>2</sub>O sur ces formes activées. En outre, la stabilisation accrue des radicaux par rapport au phénol confirme leur fort potentiel antioxydant, ce qui est important pour leur rôle dans la protection contre les dommages oxydatifs.

La caractérisation structurale combinant données expérimentales (RMN <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C, (UV-Vis) et calculs théoriques (DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)) a validé la fiabilité de la méthode, notamment pour prédire les effets de solvation.

Les modifications structurales impactent significativement les propriétés spectroscopiques : la quercétine native montre une sensibilité élevée aux solvants (décalages UV bathochromes, variations en RMN), tandis que la 3-méthoxyquercétine et l'isoquercétine présentent une stabilité accrue. Les résultats expérimentaux concordent largement avec les prédictions théoriques. Les études UV-Vis que les modifications influencent la réactivité électronique et la stabilité spectroscopique, renforçant l'intérêt pharmacologique ou technologique de ces formes activées.

L'analyse des descripteurs de réactivité globale a révélé des propriétés électroniques uniques pour l'isoquercétine, tandis que la 3-méthoxyquercétine et la quercétine partagent des caractéristiques similaires. Les simulations de dynamique moléculaire et calculs MM/GBSA ont confirmé des interactions stables avec les enzymes cibles (hAPN/CD13, SOD), la 3-méthoxyquercétine présentant même une affinité supérieure à celle du ligand de référence (Actinonine).

Les simulations de dynamique moléculaire de 100 ns de l'isoquercétine, de la 3-méthoxyquercétine, de la quercétine et de l'Actinonine avec l'enzyme anticancéreuse 4FYT ont montré que chaque composé se lie efficacement au site actif de l'enzyme par diverses interactions.

Les études *in silico* des propriétés pharmacocinétiques indiquent que la 3-méthoxyquercétine et la quercétine respectent mieux les critères de Lipinski (meilleure biodisponibilité potentielle), cependant l'isoquercétine, malgré un score de similarité aux médicaments plus élevé, pourrait avoir une perméabilité réduite. Les prédictions de toxicité (ProTox-III) suggèrent que la quercétine présente des risques cancérigènes et immunotoxiques, tandis que l'isoquercétine et la 3-méthoxyquercétine ont des profils de sécurité plus favorables (pas de cancérogénicité, meilleurs résultats hormonaux), bien que tous trois présentent des risques de néphrotoxicité et toxicité respiratoire.

En conclusion, cette étude fournit des bases solides pour le développement ultérieur de ces composés comme candidats-médicaments, la 3-méthoxyquercétine émergeant comme un inhibiteur particulièrement prometteur de l'hAPN/CD13. Des recherches supplémentaires permettront d'optimiser leurs propriétés pharmacologiques et d'explorer leur potentiel clinique dans le traitement du cancer et des maladies liées au stress oxydatif.

# *Annexe*

# Molecular Docking, Molecular Dynamics, pkCSM Drug-Likeness Profiles, Toxicity, and DFT Study of the Antioxidant and Anticancer Activities of Three Flavonoid Derivatives

Samiha Karoui,<sup>[a]</sup> Oussama Khaoua,<sup>[a]</sup> Noura Benbellat,<sup>[a]</sup> Serge Antonczak,<sup>[b]</sup> and Abdelatif Messaoudi<sup>\*,[a]</sup>

This work presents a theoretical study of the antioxidant and anticancer properties of three flavonoid derivatives Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin. DFT calculations were performed to analyze their electronic properties, providing insights into their reactivity and mechanism of action. Molecular docking and molecular dynamics simulations were conducted to examine the stability behavior of the protein-ligand complexes, providing a detailed mechanism of the interactions at the atomic level. Additionally, some physicochemical and pharmacokinetic predictions were examined by using several web servers. Quercetin and isoquercetin show therapeutic properties, with MESP plots revealing interaction regions with SOD and hAPN targets. However, isoquercetin raises concerns

related to AMES toxicity and hERG inhibition. The results of Molecular docking and MD simulations provide theoretical guidance for developing effective inhibitors to treat cancer, but further experimental validation is needed to optimize therapeutic efficacy. The MM/GBSA show that Ophioglonol has the strongest binding affinity with the protein, driven by many interactions. The Actionon also demonstrates strong binding, while Isoquercetin and Quercetin have moderate to weaker affinities. The PCA revealed distinct conformational changes in the protein upon binding with the ligand, highlighting specific regions of flexibility, which could be crucial for understanding their binding mechanisms and potential therapeutic effects.

## Introduction

Natural products have a rich history of serving as effective medicines, with several current medications, including aspirin and quinine, originating from natural sources. However, the development of natural product drugs encounters various challenges that impede progress. Extracting the active component from natural sources involves dealing with complex mixtures of compounds, making it a time-consuming and labor-intensive process to isolate the specific molecule responsible for the desired biological effect, as illustrated by the anti-cancer properties of Xanthohumol.<sup>[1]</sup> Challenges related to the supply chain also arise, as obtaining a consistent and sustainable supply of natural sources can be challenging, particularly for rare plants or animals. Seasonal variations and environmental factors further exacerbate this issue.<sup>[2]</sup> Furthermore, purified natural products often exhibit structural complexity, necessitating advanced techniques for characterization and quality control. Modifying them for enhanced potency or pharmacokinetic properties can also be challenging.<sup>[2,3]</sup> Variability in the composition of natural products based on factors such as harvest time or geographical location complicates ensuring

consistent quality and reproducibility in drug development. Additionally, the intricate mechanisms of action of natural products complicate the design of targeted clinical trials, and obtaining regulatory approval can be more complex compared to synthetic drugs. Despite these challenges, technological advancements and new research strategies are aiding in overcoming these limitations. Techniques such as bioassay-guided fractionation, high-throughput screening, and advanced analytical methods are all contributing to a more efficient natural product drug discovery process. Furthermore, the combination of natural products with innovative drug delivery systems, such as peptide-functionalized nanoparticles and nanoscale covalent organic frameworks, shows promise in optimizing drug candidates.<sup>[2,3]</sup> Thus, Quercetin is a natural plant-derived bioflavonoid that has been the subject of extensive research due to its potential health benefits and diverse biochemical activities.<sup>[4,5]</sup> It is widely recognized as one of the most potent antioxidants among polyphenols, which are a group of compounds found in plants that are known for their antioxidant properties.<sup>[6–8]</sup> Quercetin has been tested for its therapeutic applications, including its antioxidant, antiparasitic, anti-inflammatory, and anticancer activities.<sup>[9]</sup> Among flavonoids, quercetin has been identified as a particularly promising natural compound for the treatment of parasitic diseases, as it has low toxicity in hosts and can modulate pathologically altered processes during infections.<sup>[10]</sup> Moreover, quercetin has been found to have multiple anticancer activities against different types of solid tumors,<sup>[11]</sup> and it has demonstrated promising results in the treatment of acute myeloid leukemia (AML)<sup>[12]</sup> and

[a] S. Karoui, Dr. O. Khaoua, Prof. N. Benbellat, Prof. A. Messaoudi  
Faculty of Matter Sciences, Department of Chemistry, LCMVAR Laboratory,  
University of Batna 1, 05000 Batna, Algeria  
E-mail: amessaoudi@univ-batna.dz

[b] S. Antonczak  
Université Côte d'Azur, CNRS, Institut de Chimie de Nice, Nice 06108, France

glioblastoma, one of the most aggressive types of brain cancer.<sup>[13]</sup> Additionally, quercetin has been shown to improve the pro-inflammatory response in human THP1 macrophage populations, which is a crucial aspect of the immune system's response to infections and diseases.<sup>[14]</sup> Human aminopeptidase N (hAPN), commonly known as CD13 (Cluster of Differentiation 13), is a type of enzyme that is found on the surface of different types of cells including leukocytes, endothelial cells, and epithelial cells.<sup>[15]</sup> It is a membrane-bound metalloprotease enzyme that plays a vital role in several cellular processes including peptide metabolism, cell adhesion, and signal transduction. CD13 is also involved in various physiological and pathological processes, such as tumor progression, angiogenesis, and inflammation.<sup>[16]</sup> In the case of THP-1 leukemia, CD13 is an attractive target for therapy due to its overexpression on the surface of leukemia cells. Research has shown that targeting CD13 can inhibit the growth, migration, and invasion of leukemia cells, which can suppress tumor growth and metastasis.<sup>[17,18]</sup> Furthermore, high levels of CD13 expression have been correlated with drug resistance and poor prognosis in leukemia patients, underscoring its significance as a therapeutic target. Several methods have been explored to target CD13 in leukemia, including monoclonal antibodies, small molecule inhibitors, and antibody-drug conjugates.<sup>[19,20]</sup>

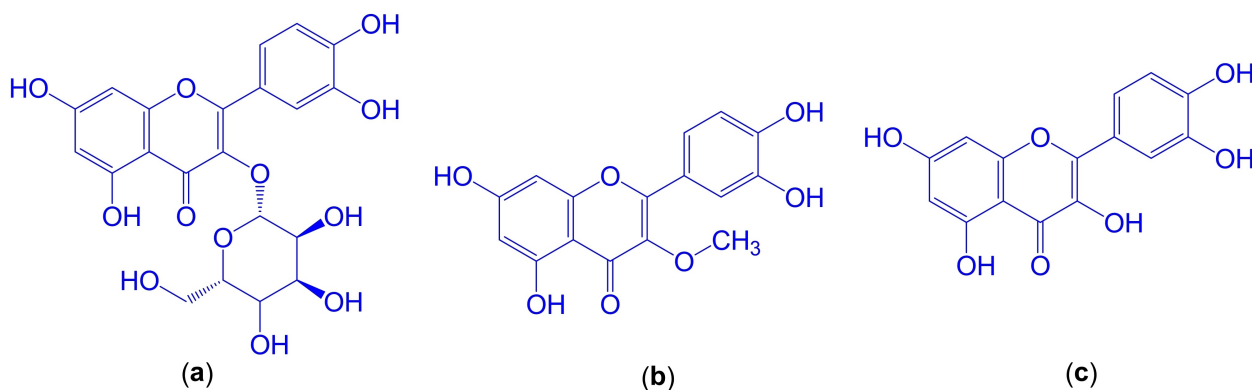
The goal of these approaches is to target only CD13-expressing leukemia cells while minimizing unwanted effects on normal cells. In addition, combining therapies that target CD13 with conventional chemotherapy drugs or other targeted agents has shown positive results in preclinical studies and clinical trials, highlighting the potential for synergistic effects and improved therapeutic outcomes.<sup>[21]</sup> On the other hand, Superoxide dismutase (SOD) is an essential antioxidant enzyme that can be found in almost all living cells.<sup>[22]</sup> Its primary function is to transform superoxide radicals ( $O_2^-$ ) into hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) and molecular oxygen ( $O_2$ ) through a catalytic reaction.<sup>[23,24]</sup>

This enzymatic process helps to mitigate the harmful effects of superoxide radicals, which are highly reactive molecules produced as natural byproducts of cellular metabolism, especially during oxidative stress.<sup>[25]</sup>

SOD plays a critical role in cellular defense against oxidative stress by maintaining the balance between the production of reactive oxygen species (ROS) and antioxidant defenses.<sup>[26,27]</sup>

The excessive accumulation of superoxide radicals can lead to oxidative damage to cellular components such as lipids, proteins, and DNA, contributing to various pathological conditions, including inflammation, ageing, and chronic diseases such as cancer, neurodegenerative disorders, and cardiovascular diseases.<sup>[28–30]</sup>

There are three main isoforms of SOD found in humans, namely cytoplasmic copper-zinc SOD (Cu/Zn-SOD or SOD1), mitochondrial manganese SOD (Mn-SOD or SOD2), and extracellular SOD (EC-SOD or SOD3).<sup>[31]</sup> Each isoform is localized to specific cellular compartments and plays distinct roles in scavenging superoxide radicals and protecting against oxidative damage. Deficiencies or dysregulation of SOD activity have been implicated in numerous diseases characterized by oxidative stress, highlighting the importance of this enzyme in maintaining cellular homeostasis.<sup>[32]</sup> Consequently, SOD has attracted significant attention as a potential therapeutic target for managing oxidative stress-related disorders. Moreover, dietary sources rich in antioxidants, including fruits, vegetables, and supplements containing SOD or SOD-enhancing compounds like quercetin, are often recommended to support antioxidant defenses and promote overall health.<sup>[33–35]</sup> The aim of this study is to thoroughly examine the molecular properties and potential medical applications of three phytochemical compounds: Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin (Scheme 1). Using computational methods such as global reactivity analysis, electrostatic potential analysis, physicochemical parameter calculations, molecular docking, molecular dynamics simulations, and pharmacokinetic predictions, the research aims to understand how these compounds interact with two biological targets, their drug-like characteristics, and their potential therapeutic effects, particularly in terms of antioxidant and anticancer activities. The study intends to provide insights into the compounds' electronic properties, their interactions with human aminopeptidase N (hAPN/CD13) and superoxide dismutase (SOD), and their pharmacokinetic profiles. Moreover, subsequent MD simulations were performed on the lead compounds and the standard drug (Actinonin) to assess their fit



**Scheme 1.** Chemical structures of the studied natural products Isoquercetin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c) drawn using ChemDraw 12.0 software

into the active cavity of human aminopeptidase N protein (PDB ID:4FYT), using the Amber 22 package, with ligand parameters generated via the Antechamber module and GAFF. The energy minimization, heating, equilibration, and MD simulations were executed, followed by analysis of MD trajectories for RMSD, energy decomposition, and PCA. Ultimately, the goal is to shed light on the molecular mechanisms behind the antioxidant and anticancer properties of these phytochemicals, with the hope of identifying them as potential lead compounds for drug development in various diseases.

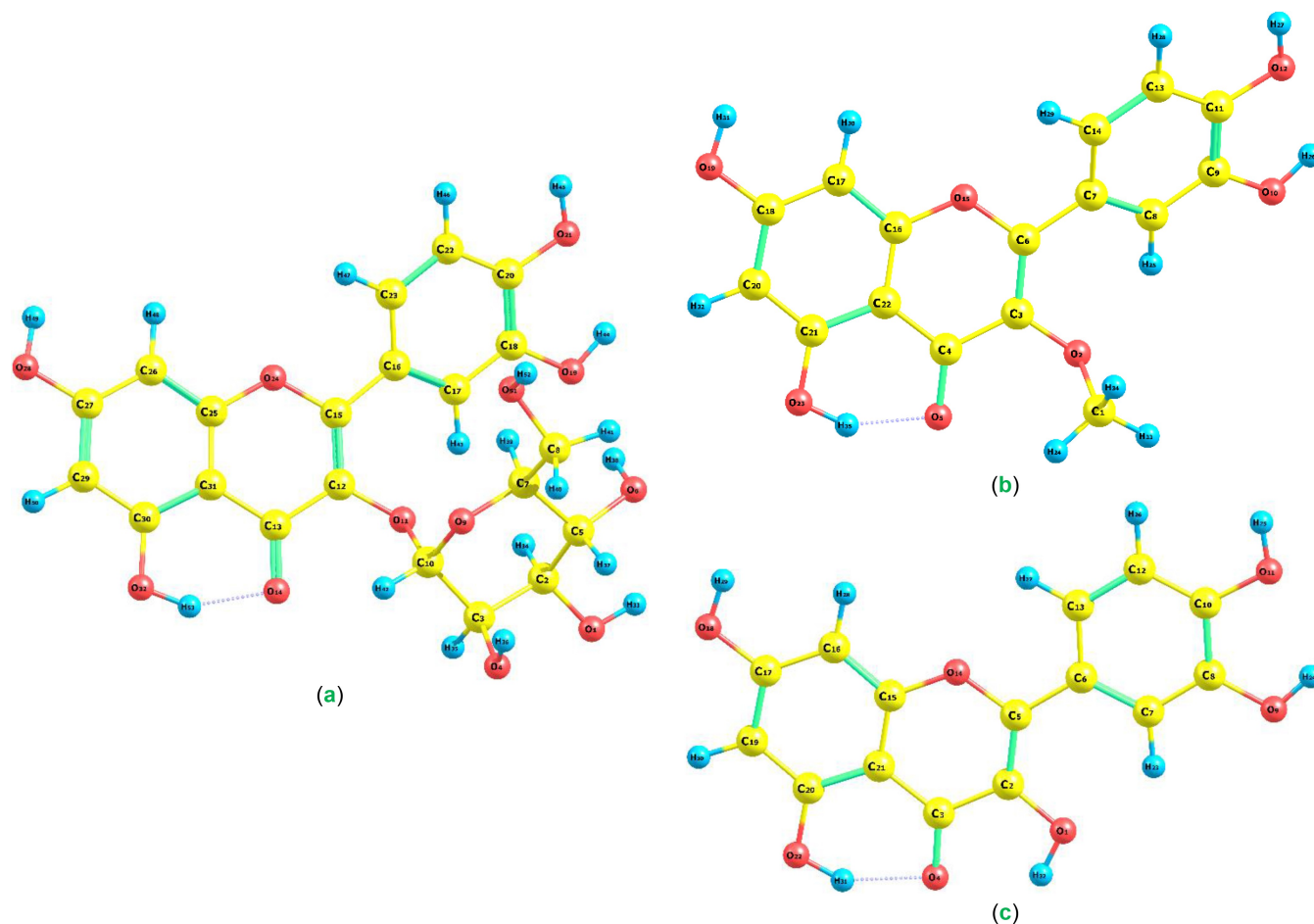
## Results and Discussion

### Frontier Molecular Orbitals (FMOs) and Total Density of State (TDOS) Analyses

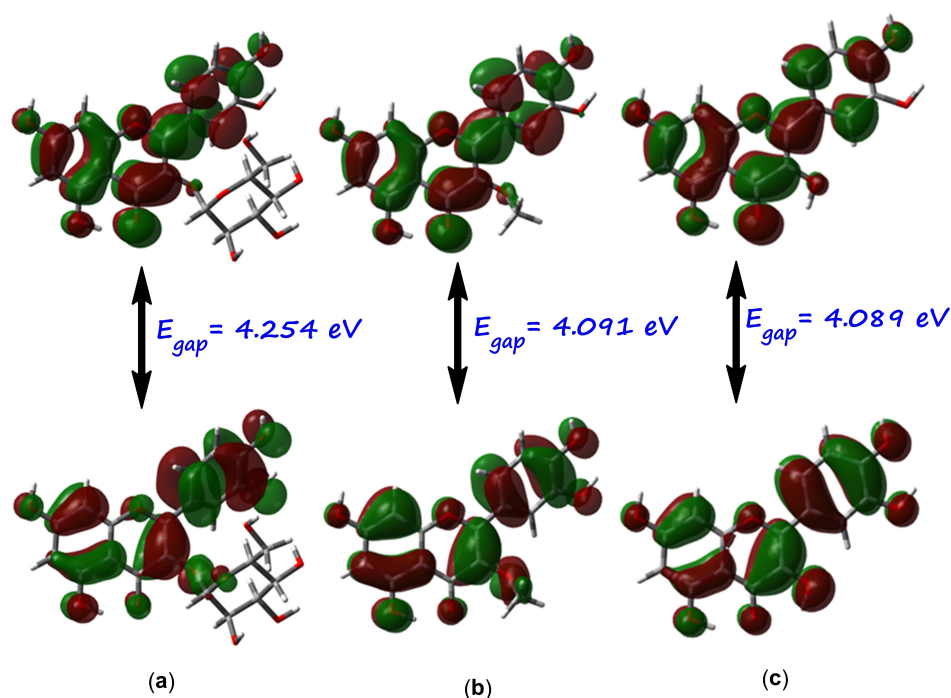
Understanding the Frontier Molecular Orbitals (FMOs) theory is essential in determining molecular stability and predicting potential biological activities. FMOs are determined by the energy gap between the Highest Occupied Molecular Orbital (HOMO) and the Lowest Unoccupied Molecular Orbital (LUMO). Molecules with a larger energy gap are typically more stable and less reactive than those with a smaller energy gap. To

analyze the relative HOMO and LUMO energies of three isolated phytochemicals (Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin), their optimized structures illustrated in Figure 1 were analyzed. The calculated energies ( $E_{\text{HOMO}}$  and  $E_{\text{LUMO}}$ ) provided an estimation of the electronic band gaps. Despite the negative values indicating compound stability, the calculated energies and band gaps ( $\Delta E_{\text{gap}}$ ) are closely correlated. The interaction of two phytochemical compounds with the human aminopeptidase N (hPAN/CD13) and superoxide dismutase (SOD) enzyme could be attributed to the Intra Ligand Charge Transfer (ILCT) that involves various atoms in these compounds.

The electronic band gaps were estimated using the calculated HOMO and LUMO energies, revealing a similar localization of the electronic density in the HOMO and delocalization in the LUMO (Figure 2). Interestingly, the presence of the alcoholic function of quercetin, the methoxy group of Ophioglonol, and the O- $\beta$ -D-glucopyranoside group did not affect the LUMO delocalization, likely due to the Intra Ligand Charge Transfer (ILCT) involving various  $\pi$ -character atoms in all structures. Briefly, the intra Ligand Charge Transfer (ILCT) is a phenomenon where an electron density shift occurs within a single ligand, typically in response to photo-excitation. This process is significant in the study of synthetic ligands, phytochemicals, synthetic compounds, and complexes as it can



**Figure 1.** The optimized structures of the studied phytochemicals Isoquercetin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c) obtained in gas phase using the Density Functional Theory (DFT) method and the B3LYP/6-311 G++(2 d, 2p) basis set.

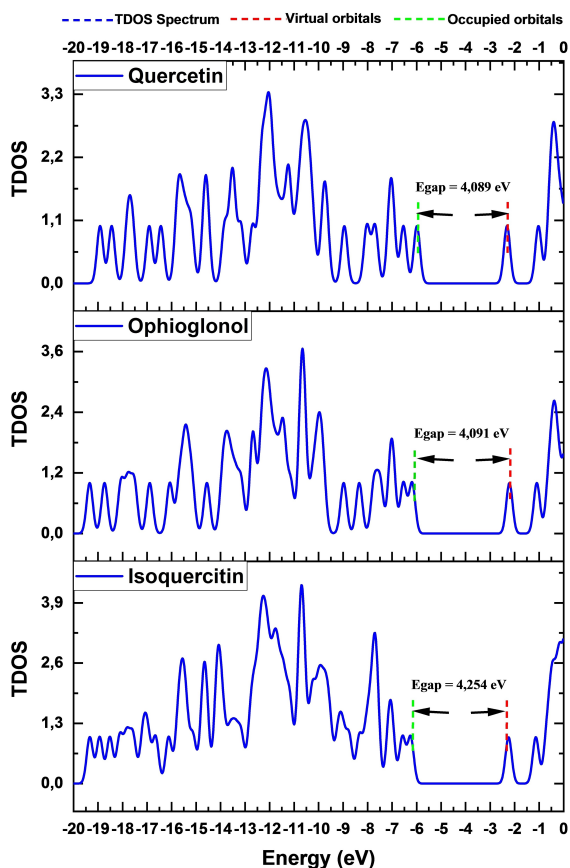


**Figure 2.** HOMO and LUMO molecular orbitals and gap energies of the isolated phytochemicals Isoquercitin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c) based on the optimized geometries.

influence their reactivity and interactions with target enzymes and biological species. When a molecule absorbs energy, electrons can be excited, resulting in the transfer of electron density within the ligand itself. This electron density shift can alter the ligand's electronic structure and polarity, making specific atoms or functional groups within the ligand more reactive. The altered electronic structure due to ILCT can enhance or inhibit the ligand's ability to interact with the active site of an enzyme, affecting the binding affinity and overall effectiveness of the ligand as an inhibitor or activator of the enzyme. Changes in the ligand's electronic properties can also influence the catalytic mechanism of the enzyme,<sup>[36]</sup> which is crucial in drug design for selective inhibition of target enzymes without affecting others. Recent studies have highlighted the significance of ILCT in various compounds and their biological activities. For instance, Palion-Gazda et al.<sup>[37]</sup> explored ILCT processes in Iridium (III) complexes with morpholine-decorated 4'-phenyl-2,2':6',2''-terpyridine, shedding light on the potential applications in photochemistry. Similarly, Senthilkumar et al.<sup>[38]</sup> developed new internal-charge-transfer second-order nonlinear optical chromophores based on the donor ferrocenylpyrazole moiety, illustrating the importance of ILCT in designing advanced materials. Mo et al.<sup>[39]</sup> reported bright long persistent luminescence in cluster-based MOFs derived from ILCT characteristics, demonstrating significant implications in material science. In terms of enzyme interaction, studies such as those by Guzero et al.<sup>[40]</sup> have delved into the photophysics of Re(I) and Ru(II) diimine complexes covalently linked to pyrene, focusing on contributions from intra-ligand charge transfer states. Further research by Hasna Ghanem et al.<sup>[41]</sup> examined the antineoplastic activity and molecular docking of phytochemicals

isolated from *Thymelaea microphylla*, emphasizing ILCT's role in enhancing bioactivity. Moreover, Soukehal et al.<sup>[42]</sup> conducted a synthesis, single crystal X-ray, and DFT study of a new hybrid-ligand complex, revealing ILCT's impact on electronic properties and biological activities. Belhouchat et al.<sup>[43]</sup> applied DFT and docking calculations to study the structural, electronic, and biological properties of a synthetic complex, highlighting ILCT's role in modulating these characteristics. Similarly, Guenfoud et al.<sup>[44]</sup> investigated nitroaldol quinoline derivatives for antimicrobial properties, combining DFT and in silico pharmacokinetic profiling to explore ILCT's potential in drug design. Thus, the measured band gap energies of Isoquercitin, Ophioglonol, and Quercetin were 4.254 eV, 4.091 eV, and 4.089 eV, respectively, reflecting subtle differences in their electronic structures that may impact their potential anticancer and antioxidant activities against Human aminopeptidase N (hAPN/CD13) and superoxide dismutase (SOD). Isoquercitin's slightly higher band gap energy suggests unique electronic properties, while Ophioglonol and Quercetin share similar electronic characteristics with closely aligned band gap energies. However, structural disparities between the two may lead to diverse interactions with hAPN/CD13 and SOD. Quercetin, known for its anticancer and antioxidant effects, exhibits electronic properties indicative of its reactivity and stability, which could influence its interactions with hAPN/CD13 and SOD, as supported by the molecular docking results. In this context, quercetin exhibited the most stable complexes with CD13 and SOD, with affinity scores of  $-10.1 \text{ kcal/mol}$  and  $-9.8 \text{ kcal/mol}$ , respectively. To gain deeper insights into the reactivity and electronic characteristics of the studied phytochemicals, the analysis of the total density of state (TDOS) plots was conducted. These plots, along

with the energy gap values and energy levels for each molecule. The findings are depicted in Figure 3. Upon examina-



**Figure 3.** Total density of state (TDOS) plots, for Isoquercetin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c), computed based on the optimized geometries at B3LYP-6311 G++ (2d, 2p) basis set by using Gauss Sum software.

**Table 1.** The calculated global reactivity indices for the isolated compounds (a, b, and c) obtained in both gas phase and water solvent using the Density Functional Theory (DFT) method and the B3LYP/6-311G++ (2d, 2p) basis set.

Compound	Isoquercetin (Gas/Water)	Ophioglonol (Gas/Water)	Quercetin (Gas/Water)
$E_{\text{HOMO}}$ (eV)	-6,269/-6,230	-6,106/-6,170	-5,962/-5,976
$E_{\text{LUMO}}$ (eV)	-2,238/-2,228	-2,075/-2,195	-2,217/-2,293
$I$ (eV)	6,269/6,230	6,106/6,170	5,962/5,976
$A$ (eV)	2,238/2,228	2,075/2,195	2,217/2,293
$\chi$ (eV)	4,254/4,229	4,091/4,183	4,089/4,135
$\mu$ (eV)	-4,254/-4,229	-4,091/-4,183	-4,089/-4,135
$\eta$ (eV)	4,031/4,002	4,031/3,975	3,745/3,683
$S$ (eV <sup>-1</sup> )	0,248/0,249	0,248/0,252	0,267/0,272
$\omega$ (eV)	2,244/2,234	2,075/2,200	2,233/2,321
$\Delta N_{\text{max}}$	1,055/1,057	1,015/1,052	1,092/1,123

Where: Ionization energy ( $I = -E_{\text{HOMO}}$ ), Affinity ( $A = -E_{\text{LUMO}}$ ), Electronegativity ( $\chi = -(E_{\text{HOMO}} + E_{\text{LUMO}})/2$ ), Chemical potential ( $\mu = -\chi = (E_{\text{HOMO}} + E_{\text{LUMO}})/2$ ), Chemical hardness ( $\eta = (E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}})/2$ ), Electrophilicity index ( $\omega = \mu^2/2\eta$ ), Molecular softness ( $S = 1/\eta$ ), and Maximal charge acceptance ( $\Delta N_{\text{max}} = -(\mu/\eta)$ ).

tion of the total density of states (TDOS) plots, a distinct shift in the highest occupied molecular orbital (HOMO) of quercetin was observed, indicating a more significant role of electron transfer in this compound. This observation is in line with the maximal charge acceptance value, indicating that quercetin has the highest  $\Delta N_{\text{max}}$  value of 1.092.

### Global Reactivity Descriptors Analysis

The chemical reactivity indices of the studied offer valuable insights into their electronic properties and potential reactivity, which are crucial for understanding their biological activities. The calculated parameters (summarized in Table 1), provided based on the optimized structures, are particularly relevant to their antioxidant and anticancer activities, the focus of our study. The ability of these compounds to donate or accept electrons and their propensity to undergo redox reactions may significantly influence their interactions with hAPN/CD13 and SOD. In both gas and water environments, Isoquercetin consistently exhibits higher energy values of HOMO (-6.269 eV/-6.230 eV) and LUMO (-2.238 eV/-2.228 eV) orbitals compared to Ophioglonol and Quercetin, indicating that its HOMO and LUMO are energetically further from the Fermi level. This suggests that Isoquercetin may have different electronic properties compared to the other two compounds, potentially influencing its reactivity and interactions with biological targets. The ionization potential values are similar between the gas and water calculations for each compound. Quercetin consistently displays the lowest ionization energy values in both environments (5.962 eV/5.976 eV), suggesting its relatively higher ease in donating electrons. This characteristic could be advantageous for its potential anticancer activity, as it may facilitate electron transfer processes within biological targets such as human aminopeptidase N (hAPN/CD13).

Similarly, the electron affinity values remain consistent across environments, with Quercetin consistently exhibiting the highest affinity (2.217 eV/2.293 eV). This indicates Quercetin's stronger tendency to accept electrons, which could contribute to its antioxidant activity by scavenging reactive oxygen species (ROS) and mitigating oxidative stress. However, Isoquercetin consistently demonstrates the highest electronegativity values among the three compounds (4.254 eV/4.229 eV), indicating its greater ability to attract electrons. This property could enhance its interactions with metal ions or reactive species involved in antioxidant mechanisms, such as copper-zinc superoxide dismutase (SOD). Furthermore, Quercetin exhibits remarkably high Electronic Chemical Potential values of -4.089 eV/-4.135 eV, slightly surpassing those of Isoquercetin and Ophioglonol. This suggests that Quercetin has a greater propensity to donate electrons or participate in redox reactions. This unique attribute may be relevant to its antioxidant and anticancer properties, as it implies Quercetin's potential role in electron transfer processes. This suggests that Isoquercetin has a greater propensity to donate electrons or participate in redox reactions. This unique attribute may be relevant to its antioxidant and anticancer properties, as it implies Isoquercetin's potential role

in electron transfer processes. Moreover, global softness values reveal minimal variation between gas and water calculations for each compound, with Quercetin maintaining slightly higher values (0.267 eV<sup>-1</sup>/0.272 eV<sup>-1</sup>) than Isoquercitin (0.248 eV<sup>-1</sup>/0.249 eV<sup>-1</sup>) and Ophioglonol (0.248 eV<sup>-1</sup>/and 0.252 eV<sup>-1</sup>) in both environments. This indicates that it can be a potent anticancer agent and can more readily interact with the hAPN/CD13 enzyme. The behavior of electrophilicity values is similar between gas phase and water solvent calculations. Isoquercitin exhibits the highest values of (2.244 eV/2.234 eV), followed by Quercetin (2,075 eV/2,200 eV) and Ophioglonol (2,233 eV/2,321 eV). These results imply that Isoquercitin may possess a greater ability to accept electrons and engage in nucleophilic reactions, which could impact its interactions with biological targets involved in antioxidant and anticancer mechanisms. Quercetin consistently displays the highest maximal charge acceptance values of (1.092/1.123), indicating its superior ability to accommodate charge transfer within its electronic structure. This characteristic could be relevant for both antioxidant and anticancer activities, as it suggests that Quercetin has the potential to establish stable interactions with biological targets involved in redox processes.

#### Molecular Electrostatic Potential (MESP) Analysis

The Electrostatic potential (MESP) surfaces provide a visualization of a molecule's electrostatic environment by mapping the potential energy a positive test charge would experience near the molecule. This method highlights regions of varying electron density: electron-rich (nucleophilic) areas appear in red, electron-poor (electrophilic) regions in blue, and neutral areas in green. MESP surfaces are crucial for understanding molecular interactions, predicting reactivity, and guiding drug design by showing how molecules might interact with each other or with biological targets. This detailed electrostatic mapping aids in assessing molecular behavior, reactivity, and binding affinity in various chemical and biological contexts. The MESP surfaces were carried out based on the optimized molecular structures of Isoquercitin, Ophioglonol, and Quercetin using the following formula.<sup>[45–47]</sup> The results were related to predicted antioxidant and anticancer activities.

$$V(r) = \sum_A \frac{Z_A}{R_A - r} - \int \rho(r') / (r' - r) dr' \quad (1)$$

Where  $V(r)$  represents the electrostatic molecular potential,  $Z_A$  is the charge of the nucleus located at  $R_A$ ,  $\rho(r')$  is the electron density function of the molecule, and  $r'$  is the dummy integration variable. The electrostatic potential plots in Figure 4 illustrate the charge distribution within each structure. In the case of Isoquercitin, the orange coloring of the oxygen atoms in the carbonyl group and the alcoholic groups signifies their high nucleophilic nature, indicating a propensity to interact with electrophilic regions in biological targets. The high nucleophilic character of these specific oxygen atoms suggests strong interactions with electrophilic sites, which is supported by the

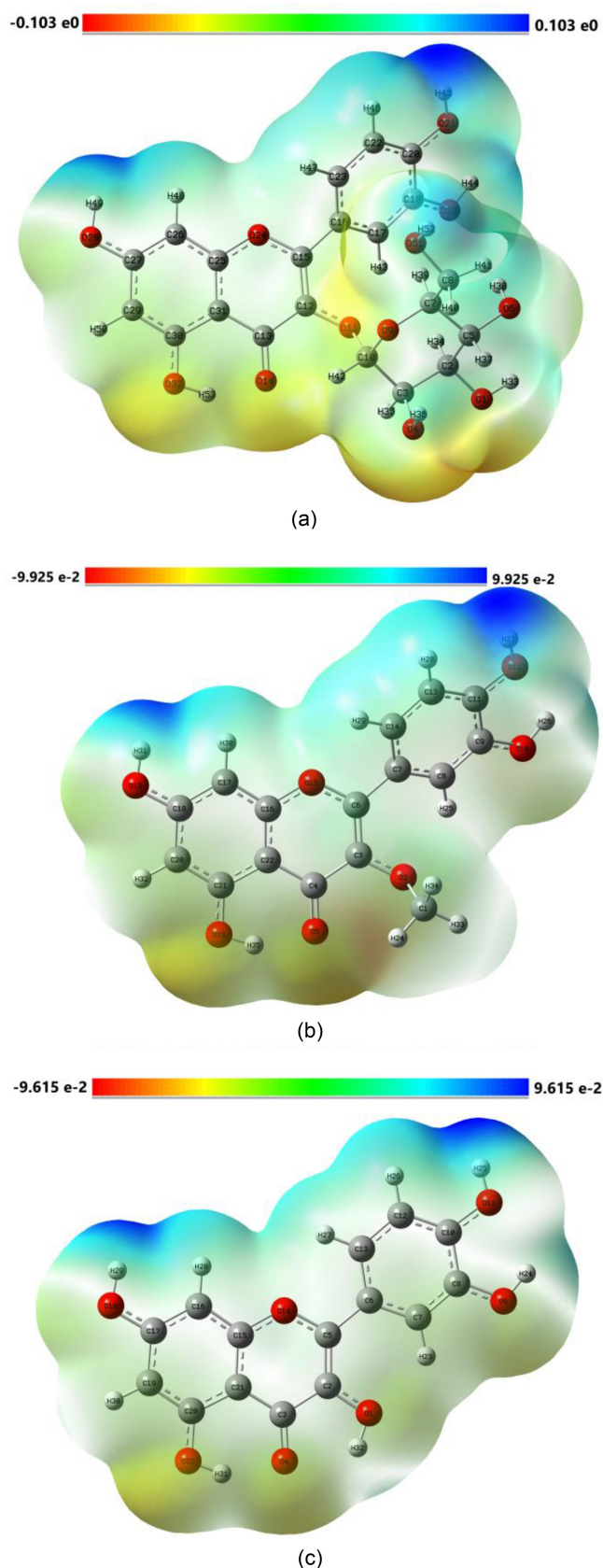


Figure 4. Molecular electrostatic potential surfaces of Isoquercitin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c).

docking results showing Isoquercetin's substantial binding affinity to hAPN (−9.0 kcal/mol) and favorable interactions with SOD (−9.0 kcal/mol). Conversely, the yellow coloration of oxygen atom O6 suggests a comparatively weaker nucleophilic character. Deep blue regions observed on hydrogen atoms H49 and H45, indicating high acidity, hint at their potential to interact with electrophilic residues in proteins, potentially influencing the antioxidant efficacy of this natural product. Moreover, the uniform green representation of carbon atoms signifies a neutral electrostatic potential across the molecule. Similarly, Ophioglonol shows an orange zone on the oxygen atom O5, indicating a high nucleophilic character. However, the oxygens in the alcoholic group display a weaker potential, indicating lower nucleophilic reactivity. Deep blue regions on hydrogen atoms H27 and H31 are associated with the alcoholic functions (−OH). This orange-colored nucleophilic site and deep blue regions on acidic hydrogen atoms suggest its ability to interact with electrophilic residues, aligning with its observed strong binding affinity to hAPN (−8.8 kcal/mol) and significant interactions with SOD (−7.9 kcal/mol). Quercetin also displays high nucleophilic oxygen atoms and deep blue regions on hydrogen atoms, suggesting its potential to neutralize free radicals and interact with electrophilic sites. This is consistent with its highest binding affinity to hAPN (−10.1 kcal/mol) and strong interaction with SOD (−9.8 kcal/mol). Additionally, in all the structures, aliphatic and peripheral hydrogen atoms are located in regions of weak electrophilicity, suggesting that these hydrogen atoms may form carbon-hydrogen bonds or engage in other interactions with nucleophilic residues in enzymes. These results provide a theoretical basis for the docking findings, demonstrating how the electrostatic properties of these compounds contribute to their binding affinities and biological activities.

### Physicochemical Parameters

According to "Lipinski's rule of five," drugs are more likely to be well-absorbed or permeable if they match specific requirements. These criteria include having less than 10 HBA and 5 HBD, a computed LogP value of less than 5 (CLogP < 5) or MilogP < 4.15, a molecular weight of less than 500 Da (MW ≤ 500), and no more than 10 rotatable bonds. Essentially, molecules with molecular weights less than 500 Da are more easily transported, dispersed, and absorbed than bigger molecules.<sup>[48]</sup> The study's findings are shown in Table 2. The lipophilicity of Isoquercetin is good, with a miLogP value of −0.36, falling below the recommended threshold of 5. Both Ophioglonol and Quercetin have miLogP values of 1.24 and 1.68, respectively, which are within the acceptable range. All three compounds have TPSA values above the recommended threshold of 10, with Isoquercetin having the highest TPSA at 210.50. The molecular weights of all three compounds are below the 500 Da threshold, making them more easily transported and absorbed. However, Isoquercetin has a higher number of hydrogen bond acceptors (HBA) than the recommended limit of 10, which may pose challenges for permeability

**Table 2.** Physicochemical parameters of the three phytochemicals Isoquercetin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (a) compound using the Molinspiration online server.

	Isoquercetin	Ophioglonol	Quercetin
miLogP	−0.36	1.24	1.68
TPSA	210.50	131.35	131.35
natoms	33	23	22
MW	464.38	316.26	302.24
nON	12	7	7
nOHNH	8	5	5
nviolations	2	0	0
nrotb	4	2	1
volume	372.21	256.89	240.08

miLogP: The logarithm of the partition coefficient between n-octanol and water, TPSA: Topological Polar Surface Area, natoms: The total number of atoms in a molecule, MW: Molecular Weight, nON: The number of oxygen and nitrogen atoms in the molecule, nOHNH: The number of hydroxyl (OH) and amine (NH) groups in the molecule, nviolations: The number of violations of Lipinski's rule of five, nrotb; Number of Rotatable Bonds, volume: The molecular volume.

and absorption. Ophioglonol and Quercetin both have acceptable HBA and HBD values, as well as a suitable number of rotatable bonds. Isoquercetin has 2 violations, exceeding the limits for HBA, which may impact its permeability and absorption. Overall, Ophioglonol and Quercetin meet all criteria outlined by Lipinski's rule of five, suggesting favorable characteristics for drug permeability and absorption, while Isoquercetin may face challenges in these areas.

In addition, Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin were tested for their drug capacity as GPCR ligands,<sup>[49,50]</sup> ion channel modulators (ICM), kinase inhibitors (KI), nuclear receptor ligands (NRL), protease inhibitors (PI), and enzyme inhibitors (EI). Scores over 0.00 indicate strong activity, scores between 0.00 and −0.5 suggest moderate activity, and scores < −0.5 indicate inactivity. The results were summarized in Table 3, it includes the drug capacity of Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin across various categories, including GPCR ligand, ion channel modulator, kinase inhibitor, nuclear receptor ligand, protease inhibitor, and enzyme inhibitor. As GPCR ligands, Isoquercetin and Ophioglonol exhibit moderate activity with scores of 0.06 and

**Table 3.** Drug ability estimation of the Isoquercetin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (a) compound using the Molinspiration online server.

	Isoquercetin	Ophioglonol	Quercetin
GPCR ligand	0.06	0.05	−0.06
Ion channel modulator	−0.04	−0.14	−0.06
Kinase inhibitor	0.13	0.16	0.28
Nuclear receptor ligand	0.20	0.44	0.36
Protease inhibitor	−0.06	−0.14	−0.25
Enzyme inhibitor	0.42	0.33	0.28

Scores > 0.00 reveal the high activity, while scores between 0.00 to −0.5 notice moderate activity and scores < −0.5 indicate inactivity

0.05, respectively, while Quercetin shows inactivity with a score of  $-0.06$ . As ion channel modulators, Isoquercitin and Quercetin demonstrate moderate inactivity with scores of  $-0.04$  and  $-0.06$ , respectively, while Ophioglonol exhibits slightly stronger inactivity with a score of  $-0.14$ . All three compounds exhibit strong activity as kinase inhibitors, with scores of 0.13, 0.16, and 0.28 for Isoquercitin, Ophioglonol, and Quercetin, respectively. Ophioglonol displays the highest score of 0.44 as a nuclear receptor ligand, indicating strong activity, while Quercetin exhibits a score of 0.36, suggesting moderate to strong activity, and Isoquercitin shows a score of 0.20, indicating moderate activity. As protease inhibitors, all compounds display inactivity, with scores of  $-0.06$ ,  $-0.14$ , and  $-0.25$  for Isoquercitin, Ophioglonol, and Quercetin, respectively. As enzyme inhibitors, Isoquercitin shows strong activity with a score of 0.42, while Ophioglonol and Quercetin exhibit moderate to strong activity with scores of 0.33 and 0.28, respectively.

### Molecular Properties and Drug-Likeness Profiles

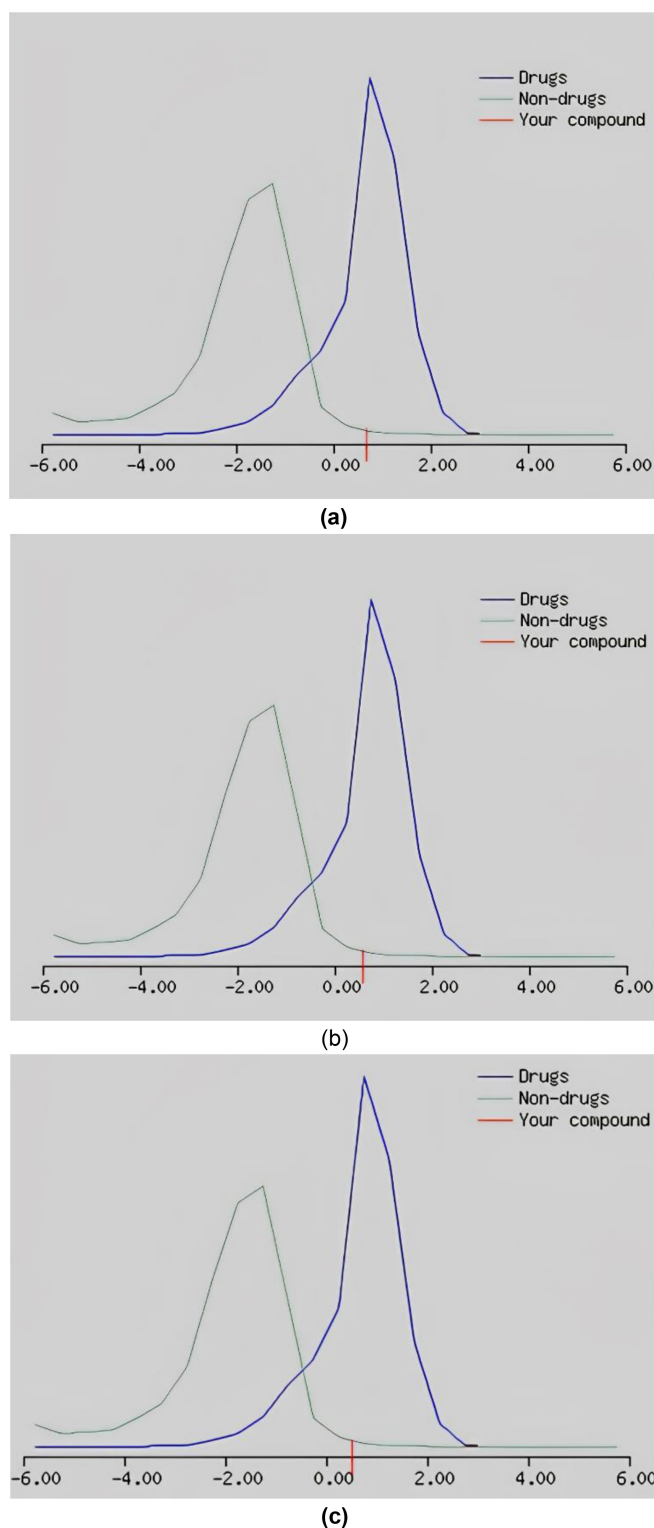
Molecular properties play a critical role in dictating the behavior and biological activity of a molecule. Parameters such as molecular weight, number of hydrogen bond acceptors (HBA), number of hydrogen bond donors (HBD), lipophilicity (Mol-LogP), solubility (MolLogS), and structural features are key factors in assessing a molecule's potential as a drug (See swissADME section). In this study, we are focusing on drug-likeness model scores, with a particular emphasis on the scores and generated graphs for Isoquercitin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c). These scores were calculated using the SMILES of each compound and the free MolSoft online server. Any chemical with a score of zero (0) or lower is not considered drug-like. Among the studied compounds, Isoquercitin exhibited the highest drug-likeness score (0.68), followed by Ophioglonol (0.59), and quercetin (0.52). The drug-likeness model scores are presented in Table 4, while Figure 5 illustrates these compounds based on the drug-likeness model. In the figure, the green tint represents non-drug-like behavior, while the blue color indicates drug-like activity.

### Pharmacokinetics and Cheminformatics for Small Molecules (pkCSM)

The machine learning platform known as pkCSM is designed to predict small-molecule pharmacokinetic properties, providing valuable insights into key aspects of absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity. This platform uses graph-

**Table 4.** Molecular properties and prediction of drug-likeness model score of the studied compounds (Isoquercitin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c)) calculated using MolSoft free website.

	(a)	(b)	(c)
Drug-likeness model score	0.68	0.59	0.52



**Figure 5.** Graph showing Isoquercitin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c) of maximum drug-likeness model score generated using the SMILES of each compound and the MolSoft online server.

based signatures to encode distance/pharmacophore patterns and is available at <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>. There are 28 regression and classification models within the platform, all of which have undergone thorough training and validation.

These models rely on diverse experimental datasets to cover a comprehensive range of ADMET descriptors. Table 5 presents predictions and some pharmacokinetic properties for Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin using the pkCSM platform.

The absorption predictions reveal significant differences among the compounds. Isoquercetin has a lower water solubility ( $-3.046$  log mol/L) than Ophioglonol ( $-3.153$  log mol/L) and Quercetin ( $-3.005$  log mol/L). However, Isoquercetin demonstrates higher Caco2 permeability ( $-0.694$  log Papp in  $10^{-6}$  cm/s) than Ophioglonol ( $-0.484$  log Papp in  $10^{-6}$  cm/s) and Quercetin ( $0.286$  log Papp in  $10^{-6}$  cm/s), indicating potentially better intestinal absorption. Additionally, the predicted values for human intestinal absorption (% Absorbed) vary significantly, with Isoquercetin (35.064%) exhibiting lower absorption compared to Ophioglonol (77.8%) and Quercetin (74.9%). These differences underscore the importance of under-

standing the absorption characteristics of the compounds for determining their bioavailability and effectiveness. In terms of distribution, certain predictions can shed light on how a compound is distributed throughout the body. For instance, VDss (volume of distribution at steady state) and the fraction unbound in human plasma are useful indicators. When examining Isoquercetin ( $-0.154$  log L/kg) and Ophioglonol ( $-0.044$  log L/kg), it becomes apparent that they have lower VDss values than Quercetin ( $0.113$  log L/kg), which suggests that these two compounds may have limited distribution within the body. Another important factor to consider is the fraction unbound in human plasma ( $F_u$ ), which can vary among compounds. Thus, Isoquercetin (0.148) has a higher fraction than Ophioglonol (0.061) and Quercetin (0.087). This variation could potentially influence their pharmacological activity. Metabolism predictions provide insights into the compounds'

**Table 5.** The predicted Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity (ADMET) values using several models for the isolated compounds (Isoquercetin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c)) via the pkCSM online server.

Property	Model Name	Predicted Value			Unit
		Isoquercetin	Ophioglonol	Quercetin	
Absorption	Water solubility	-3.046	-3.153	-3.005	Numeric (log mol/L)
	Caco2 permeability	-0.694	-0.484	0.286	Numeric (log Papp in $10^{-6}$ cm/s)
	Intestinal absorption (human)	35.064	77.8	74.9	Numeric (% Absorbed)
	Skin Permeability	-2.735	-2.735	-2.735	Numeric (log Kp)
	P-glycoprotein substrate	Yes	Yes	Yes	Categorical (Yes/No)
	P-glycoprotein I inhibitor	No	No	No	Categorical (Yes/No)
	P-glycoprotein II inhibitor	No	No	No	Categorical (Yes/No)
Distribution	VDss (human)	-0.154	-0.044	0.113	Numeric (log L/kg)
	Fraction unbound (human)	0.148	0.061	0.087	Numeric ( $F_u$ )
	BBB permeability	-1.904	-1.384	-1.573	Numeric (log BB)
	CNS permeability	-5.115	-3.496	-3.41	Numeric (log PS)
Metabolism	CYP2D6 substrate	No	No	No	Categorical (Yes/No)
	CYP3 A4 substrate	No	No	No	Categorical (Yes/No)
	CYP1 A2 inhibitor	No	Yes	Yes	Categorical (Yes/No)
	CYP2 C19 inhibitor	No	No	No	Categorical (Yes/No)
	CYP2 C9 inhibitor	No	No	No	Categorical (Yes/No)
	CYP2D6 inhibitor	No	No	No	Categorical (Yes/No)
	CYP3 A4 inhibitor	No	No	No	Categorical (Yes/No)
Excretion	Total Clearance	0.659	0.593	0.555	Numeric (log ml/min/kg)
	Renal OCT2 substrate	No	No	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	AMES toxicity	Yes	Yes	No	Categorical (Yes/No)
	Max. tolerated dose (human)	0.843	0.934	0.841	Numeric (log mg/kg/day)
	hERG I inhibitor	No	No	No	Categorical (Yes/No)
	hERG II inhibitor	Yes	Yes	No	Categorical (Yes/No)
	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.816	2.568	2.437	Numeric (mol/kg)
	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	3.101	2.401	2.69	Numeric (log mg/kg_bw/day)
	Hepatotoxicity	No	No	No	Categorical (Yes/No)
	Skin Sensitisation	No	No	No	Categorical (Yes/No)
	<i>T. Pyriformis</i> toxicity	0.285	0.3	0.293	Numeric (log ug/L)
Minnow toxicity	7.165	1.672	1.328	Numeric (log mM)	

interactions with cytochrome P450 enzymes (CYPs), which play a crucial role in drug metabolism. For instance, Ophioglonol is predicted to inhibit CYP1 A2, whereas the other compounds do not exhibit this inhibition. These interactions can influence the compounds' metabolic pathways and potential drug-drug interactions. Excretion predictions, such as total clearance and renal OCT2 substrate status, offer insights into the compounds' elimination from the body. Isoquercetin (0.659 log ml/min/kg) and Ophioglonol (0.593 log ml/min/kg) demonstrate slightly higher total clearance values compared to Quercetin (0.555 log ml/min/kg). Additionally, none of the compounds are predicted to be renal OCT2 substrates, indicating potential differences in their renal clearance pathways. Toxicity predictions provide crucial information regarding the compounds' safety profiles. For instance, Isoquercetin and Ophioglonol are predicted to exhibit AMES toxicity, while Quercetin is not. Furthermore, predictions for hERG I and II inhibition suggest potential cardiac safety concerns for Isoquercetin and Ophioglonol, but not for Quercetin. Additionally, predictions for oral rat acute and chronic toxicity offer insights into the compounds' toxicity profiles in preclinical models. Briefly, these predictions serve as a valuable guide for further preclinical and clinical investigations, aiding in the selection and optimization of lead compounds for drug development. Accurate toxicity predictions are vital in determining the safety profiles of various compounds. In our work, Isoquercetin and Ophioglonol, are predicted to display AMES toxicity, while Quercetin is not. Further, predictions for hERG I and II inhibition indicate potential cardiac safety concerns for Isoquercetin and Ophioglonol, but not for Quercetin. Additionally, predictions for oral rat acute and chronic toxicity provide valuable information about the toxicity profiles of these compounds in preclinical models. Additional models of the compound's toxicities were discussed in the ProTox III section.

### SwissADME Study

Table 6 summarize some additional physicochemical properties and the comparison among Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin reveals significant differences that could impact their pharmacological behaviors. Firstly, the number of heavy atoms, which indicates molecular size and complexity, is highest in Isoquercetin (33 atoms) followed by Ophioglonol (23 atoms) and Quercetin (22 atoms). This suggests that Isoquercetin possesses a larger and more complex structure compared to the other two compounds, potentially influencing its interactions with biological targets. Moreover, the fraction of *sp*<sup>3</sup> hybridized carbon atoms (*C*<sub>sp3</sub>) provides insights into the molecular flexibility and conformational space available to the compounds. Isoquercetin exhibits the highest fraction of *sp*<sup>3</sup> hybridized carbon atoms (0.29), indicating a more rigid structure compared to Ophioglonol (0.06) and Quercetin (0.00). This rigidity could affect the compounds' ability to adapt to binding pockets of target proteins, potentially influencing their pharmacological activity. Additionally, the molar refractivity, which relates to the polarizability and overall molecular volume,

is highest in Isoquercetin (110.16) followed by Ophioglonol (82.14) and Quercetin (78.04). This suggests that Isoquercetin possesses a larger molecular volume and higher polarizability compared to the other two compounds, potentially affecting their solubility, membrane permeability, and binding interactions with biological targets. These differences in physicochemical properties highlight the diverse structural features of Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin, which could influence their pharmacokinetic and pharmacodynamic properties.

The predicted lipophilicity values provide additional insights into the potential absorption, distribution, and metabolic fate of these compounds. Among the three compounds, Isoquercetin exhibits the highest Log *P*<sub>o/w</sub> values, with specific values of 2.11, 0.36, −0.54, −2.59, and −0.59 for iLOGP, XLOGP3, WLOGP, MLOGP, and SILICOS-IT, respectively. This indicates a greater degree of lipophilicity for Isoquercetin, suggesting enhanced affinity for lipid-rich environments and cell membranes. In contrast, Ophioglonol and Quercetin display lower Log *P*<sub>o/w</sub> values, with Ophioglonol having values of 1.65, 1.65, 1.62, −0.58, and 1.92 for the same parameters, and Quercetin having values of 1.63, 1.54, 1.99, −0.56, and 1.54. These values suggest relatively lower lipophilicity compared to Isoquercetin, which could impact their biodistribution and pharmacokinetic properties. However, the consensus Log *P*<sub>o/w</sub> values for all three compounds indicate moderate lipophilicity, suggesting favorable properties for crossing biological barriers such as the blood-brain barrier and cell membranes.

The predicted water solubility values provide important insights into the compound's potential to dissolve in aqueous environments, influencing its bioavailability and pharmacokinetic properties. Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin exhibit varying degrees of solubility, as indicated by their Log *S* values. Isoquercetin shows Log *S* values of −3.04, −4.35, and −1.51 for ESOL, Ali, and SILICOS-IT, respectively, suggesting relatively higher solubility compared to the other two compounds. The predicted solubility values for Isoquercetin are also higher, with values ranging from 4.23e−01 to 1.43e+01 mg/ml. Ophioglonol and Quercetin demonstrate slightly lower Log *S* values (−3.22 and −3.16 for ESOL) and predicted solubility values (ranging from 1.89e−01 to 7.25e−02 mg/ml) compared to Isoquercetin, indicating slightly lower solubility. However, all three compounds are classified as soluble or moderately soluble based on their Log *S* values and predicted solubility classes. These findings suggest that Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin possess favorable aqueous solubility, which could enhance their dissolution and absorption in biological systems.

The predicted pharmacokinetic properties shed light on the absorption, distribution, metabolism, and excretion (ADME) characteristics of the compounds, providing crucial insights into their potential therapeutic applications. Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin display varied pharmacokinetic profiles based on the predicted values. Regarding gastrointestinal (GI) absorption, Isoquercetin is predicted to have low absorption, while Ophioglonol and Quercetin exhibit high absorption potential. However, none of the compounds are predicted to permeate the blood-brain barrier (BBB), indicating limited central nervous system penetration. Additionally, all three

**Table 6.** Detailed comparison of various properties such as physicochemical properties, lipophilicity, water solubility, pharmacokinetics, drug-likeness, and medicinal chemistry parameters of three phytochemicals (Isoquercetin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c)).

	Isoquercetin	Ophioglonol	Quercetin
<b>Physicochemical Properties</b>			
Num. heavy atoms	33	23	22
Num. arom. heavy atoms	16	16	16
Fraction Csp3	0.29	0.06	0.00
Molar Refractivity	110.16	82.14	78.04
<b>Lipophilicity</b>			
Log $P_{o/w}$ (iLOGP)	2.11	1.65	1.63
Log $P_{o/w}$ (XLOGP3)	0.36	1.65	1.54
Log $P_{o/w}$ (WLOGP)	-0.54	1.62	1.99
Log $P_{o/w}$ (MLOGP)	-2.59	-0.58	-0.56
Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT)	-0.59	1.92	1.54
Consensus Log $P_{o/w}$	-0.25	1.25	1.23
<b>Water Solubility</b>			
Log S (ESOL)	-3.04	-3.22	-3.16
Solubility	4.23e-01 mg/ml ; 9.10e-04 mol/l	1.89e-01 mg/ml ; 5.98e-04 mol/l	2.11e-01 mg/ml ; 6.98e-04 mol/l
Class	Soluble	Soluble	Soluble
Log S (Ali)	-4.35	-4.02	-3.91
Solubility	2.10e-02 mg/ml ; 4.51e-05 mol/l	3.01e-02 mg/ml ; 9.51e-05 mol/l	3.74e-02 mg/ml ; 1.24e-04 mol/l
Class	Moderately soluble	Moderately soluble	Soluble
Log S (SILICOS-IT)	-1.51	-3.64	-3.24
Solubility	1.43e+01 mg/ml ; 3.08e-02 mol/l	7.25e-02 mg/ml ; 2.29e-04 mol/l	1.73e-01 mg/ml ; 5.73e-04 mol/l
Class	Soluble	Soluble	Soluble
<b>Pharmacokinetics</b>			
GI absorption	Low	High	High
BBB permeant	No	No	No
P-gp substrate	No	No	No
CYP1 A2 inhibitor	No	Yes	Yes
CYP2 C19 inhibitor	No	No	No
CYP2 C9 inhibitor	No	No	No

**Table 6.** continued

	Isoquercetin	Ophioglonol	Quercetin
<b>Physicochemical Properties</b>			
CYP2D6 inhibitor	No	Yes	Yes
CYP3 A4 inhibitor	No	Yes	Yes
Log $K_p$ (skin permeation)	-8.88 cm/s	-7.06 cm/s	-7.05 cm/s
<b>Drug-likeness</b>			
Lipinski	No; 2 violations: NorO > 10, NHorOH > 5	Yes; 0 violation	Yes; 0 violation
Ghose	No; 1 violation: WLOGP < -0.4	Yes	Yes
Veber	No; 1 violation: TPSA > 140	Yes	Yes
Egan	No; 1 violation: TPSA > 131.6	Yes	Yes
Muegge	No; 3 violations: TPSA > 150, H-acc > 10, H-don > 5	Yes	Yes
Bioavailability Score	0.17	0.55	0.55
<b>Medicinal Chemistry</b>			
PAINS	1 alert: catechol_A	1 alert: catechol_A	1 alert: catechol_A
Brenk	1 alert: catechol	1 alert: catechol	1 alert: catechol
Leadlikeness	No; 1 violation: MW > 350	Yes	Yes
Synthetic accessibility	5.32	3.28	3.23

compounds are not substrates for P-glycoprotein (P-gp), suggesting they may not be subject to efflux transport. Isoquercetin and Quercetin are not inhibitors of cytochrome P450 (CYP) enzymes 1 A2, 2 C19, 2 C9, or 3 A4, while Ophioglonol demonstrates inhibitory activity against CYP1 A2, CYP2D6, and CYP3 A4. These findings suggest potential differences in metabolic interactions among the compounds, influencing their pharmacokinetic behavior. Furthermore, the compounds exhibit favorable skin permeation properties, with Log  $K_p$  values ranging from -8.88 to -7.05 cm/s, indicating potential suitability for transdermal delivery.

The predicted druglikeness properties offer insights into the compounds' suitability for further development as potential drug candidates. Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin demonstrate varying degrees of adherence to established drug-likeness rules, as indicated by the predicted values. According to Lipinski's rule of five, which assesses properties related to absorption and permeation, Isoquercetin violates two criteria: the number of rotatable bonds (NorO > 10) and the number of hydrogen bond donors (NHorOH > 5). In contrast, Ophioglonol and Quercetin exhibit no violations, suggesting better adherence to Lipinski's rule. Ghose's rule evaluates molecular proper-

ties related to bioavailability, with Ophioglonol and Quercetin meeting the criteria, while Isoquercetin violates the threshold for WLOGP. Veber's rule, which assesses the compounds' suitability for oral administration based on the topological polar surface area (TPSA), indicates compliance for all three compounds. Similarly, Egan's rule, which considers TPSA values, finds Ophioglonol and Quercetin compliant, while Isoquercetin exceeds the threshold. Muegge's rule, which evaluates molecular properties associated with oral bioavailability, indicates compliance for Ophioglonol and Quercetin but identifies three violations for Isoquercetin. Moreover, the bioavailability scores range from 0.17 to 0.55, suggesting varying degrees of potential oral bioavailability among the compounds. These findings collectively suggest that Ophioglonol and Quercetin exhibit more favorable druglikeness profiles compared to Isoquercetin, indicating their potential suitability for further drug development efforts.

The predicted medicinal chemistry properties shed light on various aspects of the compounds' potential suitability for medicinal use. Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin exhibit different characteristics according to the predicted values. Notably, Isoquercetin has a molecular weight (MW) of 464.38 g/mol, Ophioglonol has a MW of 316.26 g/mol, and Quercetin has a MW of 302.24 g/mol. PAINS alerts, which flag potentially problematic substructures, indicate the presence of catechol\_A alerts in all three compounds. Additionally, Brenk alerts, which identify potentially reactive functional groups, highlight the presence of catechol alerts across the compounds. Concerning leadlikeness, which assesses compounds' similarity to known leads, Isoquercetin does not violate the criteria, while Ophioglonol and Quercetin meet the threshold, suggesting potential lead-likeness. Synthetic accessibility scores, which estimate the ease of synthesizing compounds, range from 3.23 to 5.32, with Isoquercetin being the most accessible and Quercetin being the least. These predictions provide valuable insights into the compounds' medicinal chemistry properties, indicating potential areas of concern such as the presence of certain substructures flagged by PAINS and Brenk alerts. Moreover, leadlikeness and synthetic accessibility scores suggest the compounds' potential suitability for further medicinal chemistry optimization and lead discovery efforts.

In conclusion, while Isoquercetin shows higher lipophilicity and complexity, it also exhibits lower water solubility and higher violations of druglikeness rules compared to Ophioglonol and Quercetin. These differences in physicochemical and pharmacokinetic properties could impact the compounds' efficacy and safety profiles, emphasizing the need for further experimental validation and detailed pharmacological studies to assess their potential as drug candidates effectively.

Figure 6 illustrates the optimal range for six physicochemical features that are essential for bioavailability: lipophilicity (LIPO), molecular weight (SIZE), polarity (POLA), insolubility (INSOLU), insaturation (INSATU), and flexibility (FLEX). The compounds analyzed in the study exhibited good oral bioavailability, as indicated by the radar chart, since all of their physical and chemical properties fell within the ideal range. The colored zone on the chart represents the suitable physicochemical

space for oral bioavailability, where  $LIPO$  falls between  $-0.7 < XLOGP3 < 5.0$ ,  $SIZE$  is between  $150 \text{ g mol}^{-1} < MW < 500 \text{ g mol}^{-1}$ ,  $POLAR$  falls between  $20 \text{ \AA}^2 < TPSA < 130 \text{ \AA}^2$ ,  $INSOLU$  is between  $-6 < \text{Log } S < 0$ ,  $INSATU$  is between  $0.25 < \text{Fraction } Csp3 < 1$ , and  $FLEX$  is between  $0 < \text{Num. rotatable bonds} < 9$ .<sup>[51]</sup>

### Toxicity Prediction with ProTox-III

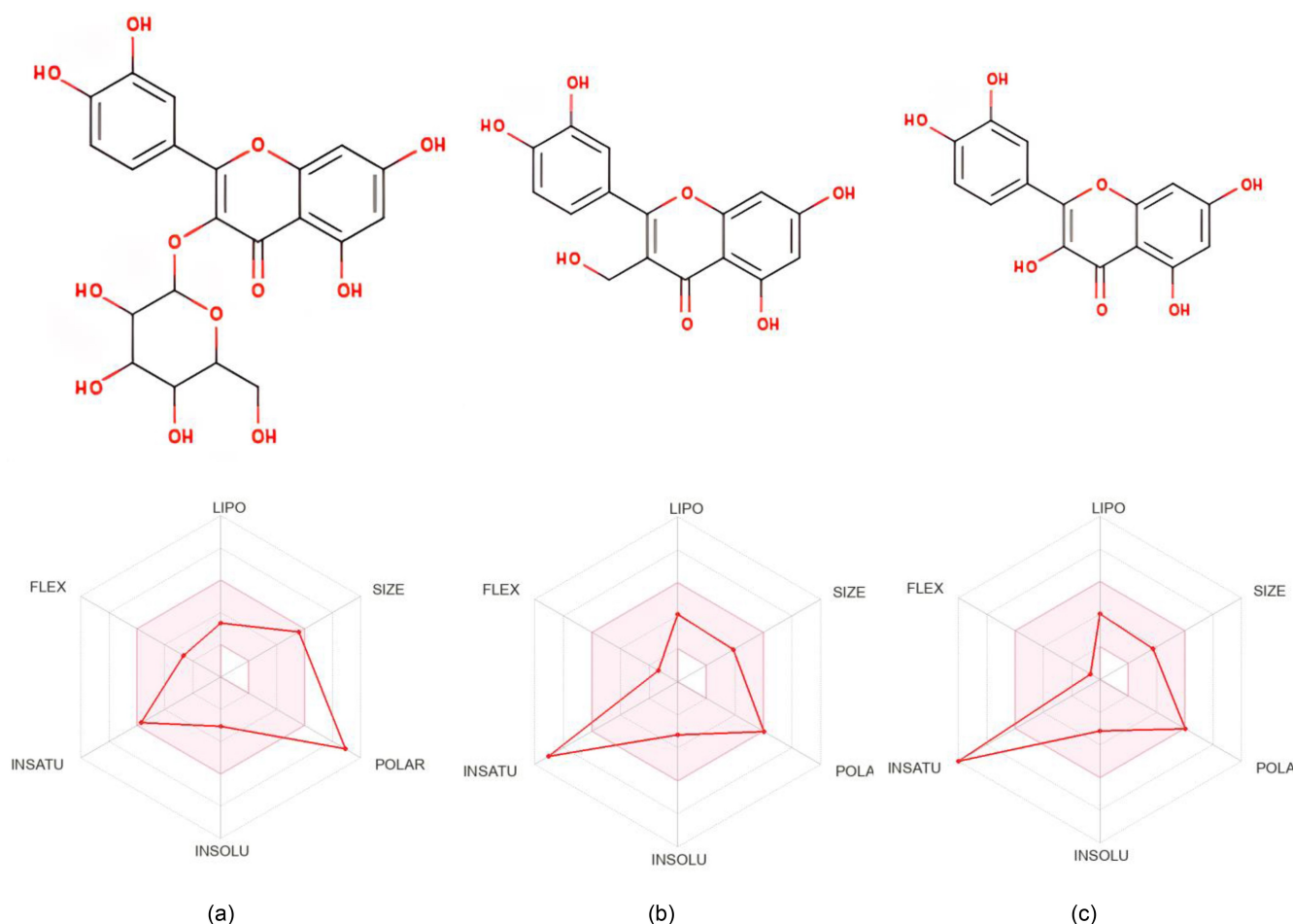
Additional *in silico* toxicity predictions, providing further insights into the potential toxicity of isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin across various targets, were performed using the ProTox III web server (<https://tox.charite.de/protox3/>). All the predicted results are illustrated in Figure 7 and summarized in Table 7.

The ProTox III findings, reveal that all of the compounds are safe. According to their LD50 values, Quercetin substance (Class III) is considered poisonous if consumed, with a range of more than 50 to 300. Ophioglonol (Class IV) is deemed injurious. Isoquercetin substance (Class V) is categorized as possibly harmful if consumed, with LD50 values ranging from over 2000 to 5000.

Regarding organ toxicity, all three compounds demonstrate no hepatotoxic or neurotoxic activity, suggesting a low risk of liver and neurological adverse effects. However, Isoquercetin and Ophioglonol exhibit nephrotoxic activity, with probabilities of 0.76 and 0.66, respectively, indicating potential harm to kidney function. In terms of respiratory toxicity, all compounds display activity, with probabilities ranging from 0.61 to 0.83, suggesting potential adverse effects on the respiratory system. Conversely, no cardiotoxic effects are predicted for any of the compounds, indicating a minimal risk of cardiac adverse effects.

Examining toxicity endpoints reveals diverse outcomes. While Isoquercetin and Ophioglonol show no carcinogenic or immunotoxic activity, Quercetin exhibits potential carcinogenicity and immunotoxicity with probabilities of 0.50 and 0.51, respectively, suggesting a possible risk of cancer and immune system disruption. Additionally, mutagenicity is observed for Ophioglonol and Quercetin, indicating a propensity to induce genetic mutations, while clinical toxicity is predicted only for Isoquercetin, hinting at potential adverse effects in clinical settings. All three compounds display activity in nutritional toxicity, suggesting possible adverse effects related to nutritional factors.

Analyzing nuclear receptor activities reveals diverse responses. While all compounds show inactivity in the androgen receptor and its ligand-binding domain, Quercetin exhibits activity in the estrogen receptor alpha and its ligand-binding domain, suggesting potential estrogenic effects. Furthermore, Ophioglonol and Quercetin demonstrate activity in the aryl hydrocarbon receptor, indicating possible endocrine-disrupting effects. In molecular initiating events, Isoquercetin and Ophioglonol predominantly exhibit inactivity, whereas Quercetin displays mixed activity, suggesting diverse mechanisms of action. Regarding metabolism, Quercetin shows varied activity across different cytochrome P450 (CYP) enzymes, suggesting its potential to affect drug metabolism and interactions.



**Figure 6.** Bioavailability radar maps for (a) Isoquercetin, (b) Ophioglonol, and (c) Quercetin demonstrating the FLEX, LIPO, SIZE, POLAR, INSOLU, and INSATU features.

Furthermore, the compounds' diverse activities in molecular initiating events and nuclear receptor interactions could influence their anticancer and antioxidant activities through various pathways. Understanding these interactions is crucial for elucidating the compounds' mechanisms of action and optimizing their therapeutic potential.

The identification of carcinogenic activity in Quercetin raises concerns regarding its safety in cancer therapy despite its known anticancer properties. Quercetin's estrogenic activity may also influence hormone-sensitive cancers, necessitating careful consideration in treatment strategies. Conversely, Isoquercetin and Ophioglonol's absence of carcinogenic activity suggests a safer profile in cancer therapy, potentially making them more viable candidates for anticancer interventions.

Moreover, for the antioxidant activity targeting SOD receptor, the compounds' predicted toxicological outcomes provide insights into their potential effects on oxidative stress and antioxidant defense mechanisms. Quercetin's immunotoxic and mutagenic activities may compromise cellular integrity and antioxidant pathways, limiting its efficacy as an antioxidant. Conversely, Isoquercetin and Ophioglonol's observed nephrotoxic and respiratory toxicities may indicate potential challenges

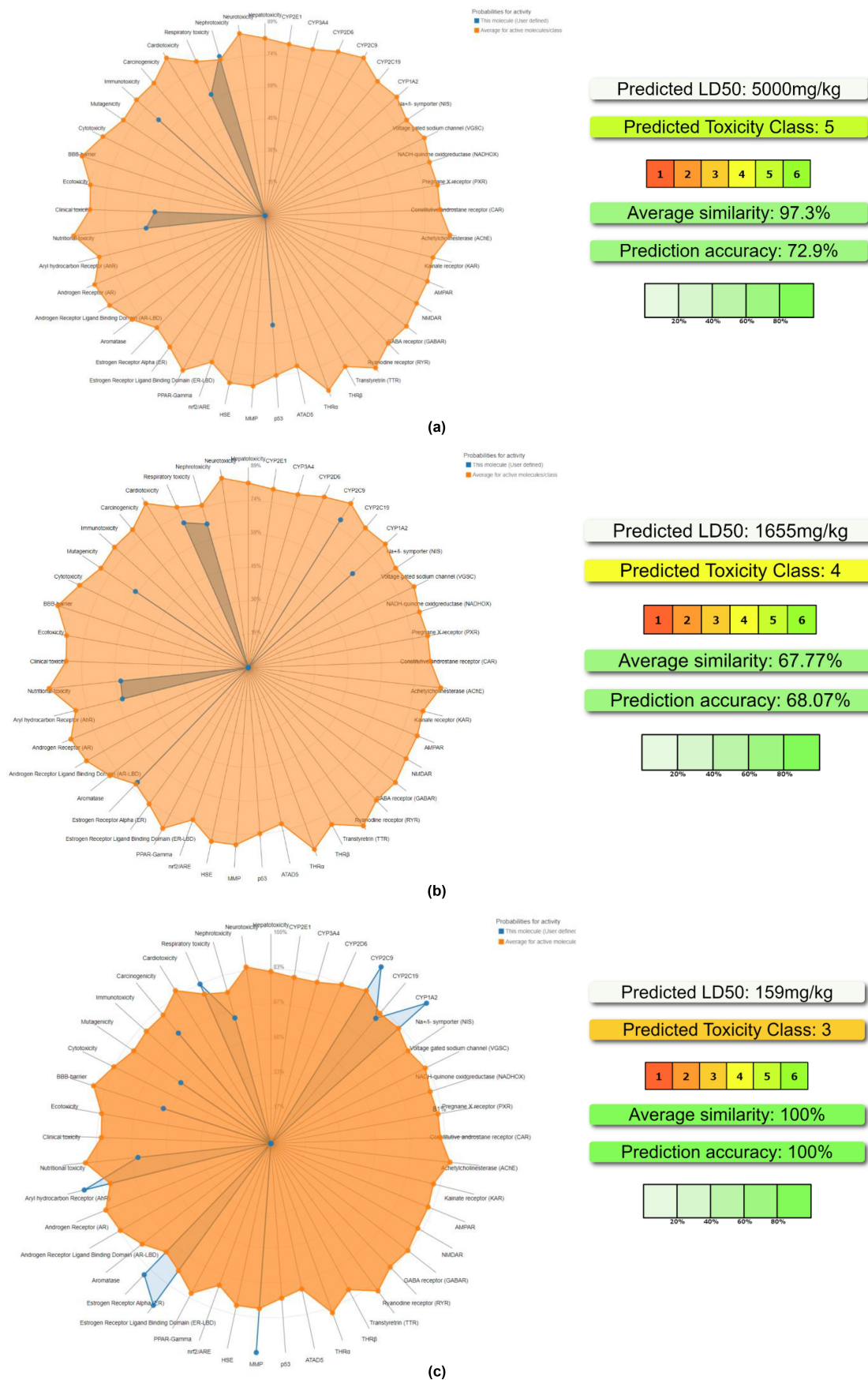
in antioxidant therapy, particularly if these effects exacerbate existing oxidative stress conditions.

While some compounds demonstrate promising safety profiles in certain aspects, others raise concerns regarding their potential adverse effects, highlighting the importance of informed decision-making in their usage and further research to confirm these predictions.

#### Pass Online Server

Predictions on the three phytochemical compounds' activity (Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin) are shown in Table 8. It details their anti-carcinogenic qualities and antioxidant capacity. Probabilities, shown as (Pa) and (Pi), respectively, are assigned to each compound, signifying the likelihood of its activity or inactivity in each corresponding category.

For the anticarcinogenic activity, Isoquercetin shows a high probability of activity ( $P_a = 0.965$ ), indicating a strong likelihood of exerting anticarcinogenic effects. Ophioglonol and Quercetin also display potential anticarcinogenic activity, although with lower probabilities ( $P_a = 0.001$  and  $P_a = 0.740$ , respectively). However, it's important to note that Ophioglonol's activity



**Figure 7.** The predicted LD50 values and Toxicity classes (Right) and radar summarizing the predicted Toxicities against various targets including Organ toxicity, Toxicity end points, Tox21-Nuclear receptor signalling pathways, Tox21-Stress response pathways, Molecular Initiating Events, and Metabolism (Left) for the studied compounds (a) Isoquercitin, (b) Ophioglonol, and (c) Quercetin generated using the ProTox-III free web server

**Table 7.** The toxicity prediction results (Active or Inactive) including various targets (Organ toxicity, Toxicity end points, Tox21-Nuclear receptor signalling pathways, Tox21-Stress response pathways, Molecular Initiating Events, and Metabolism) with their probabilities (ranged from 0 to 1) generated using ProTox III web server for the studied phytochemicals (a, b, and c).

Classification	Target	Isoquercetin		Ophioglonol		Quercetin	
		Prediction	Probability	Prediction	Probability	Prediction	Probability
Organ toxicity	Hepatotoxicity	Inactive	0,82	Inactive	0,79	Inactive	0,69
Organ toxicity	Neurotoxicity	Inactive	0,88	Inactive	0,89	Inactive	0,89
Organ toxicity	Nephrotoxicity	Active	0,76	Active	0,66	Active	0,62
Organ toxicity	Respiratory toxicity	Active	0,61	Active	0,70	Active	0,83
Organ toxicity	Cardiotoxicity	Inactive	0,67	Inactive	0,61	Inactive	0,99
Toxicity end points	Carcinogenicity	Inactive	0,85	Inactive	0,50	Active	0,68
Toxicity end points	Immunotoxicity	Active	0,66	Inactive	0,63	Inactive	0,87
Toxicity end points	Mutagenicity	Inactive	0,76	Active	0,60	Active	0,51
Toxicity end points	Cytotoxicity	Inactive	0,69	Inactive	0,92	Inactive	0,99
Toxicity end points	BBB-barrier	Inactive	0,57	Inactive	0,50	Active	0,53
Toxicity end points	Ecotoxicity	Inactive	0,58	Inactive	0,55	Inactive	0,53
Toxicity end points	Clinical toxicity	Active	0,51	Inactive	0,56	Inactive	0,53
Toxicity end points	Nutritional toxicity	Active	0,55	Active	0,57	Active	0,63
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aryl hydrocarbon Receptor (AhR)	Inactive	0,92	Active	0,57	Active	0,91
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor (AR)	Inactive	0,90	Inactive	0,67	Inactive	0,99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD)	Inactive	0,98	Inactive	0,97	Inactive	0,97
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aromatase	Inactive	1	Inactive	0,93	Inactive	0,91
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Alpha (ER)	Inactive	0,91	Active	0,70	Active	0,87
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD)	Inactive	0,99	Inactive	0,78	Active	0,95
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma)	Inactive	0,99	Inactive	0,98	Inactive	0,98
Tox21-Stress response pathways	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive element (nrf2/ARE)	Inactive	0,98	Inactive	0,96	Inactive	0,99
Tox21-Stress response pathways	Heat shock factor response element (HSE)	Inactive	0,98	Inactive	0,96	Inactive	0,99
Tox21-Stress response pathways	Mitochondrial Membrane Potential (MMP)	Inactive	0,98	Inactive	0,54	Active	1
Tox21-Stress response pathways	Phosphoprotein (Tumor Suppressor) p53	Active	0,50	Inactive	0,86	Inactive	0,97
Tox21-Stress response pathways	ATPase family AAA domain-containing protein 5 (ATAD5)	Inactive	1	Inactive	0,97	Inactive	0,99
Molecular Initiating Events	Thyroid hormone receptor alpha (THR $\alpha$ )	Inactive	0,90	Inactive	0,90	Inactive	0,90
Molecular Initiating Events	Thyroid hormone receptor beta (THR $\beta$ )	Inactive	0,78	Inactive	0,78	Inactive	0,78
Molecular Initiating Events	Transtyretin (TTR)	Inactive	0,97	Inactive	0,97	Inactive	0,97
Molecular Initiating Events	Ryanodine receptor (RYR)	Inactive	0,98	Inactive	0,98	Inactive	0,98

Table 7. continued							
Classification	Target	Prediction	Probability	Prediction	Probability	Prediction	Probability
		Isoquercetin		Ophioglonol		Quercetin	
Molecular Initiating Events	GABA receptor (GABAR)	Inactive	0,96	Inactive	0,96	Inactive	0,96
Molecular Initiating Events	Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR)	Inactive	0,92	Inactive	0,92	Inactive	0,92
Molecular Initiating Events	alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate receptor (AMPA)	Inactive	0,97	Inactive	0,97	Inactive	0,97
Molecular Initiating Events	Kainate receptor (KAR)	Inactive	0,99	Inactive	0,99	Inactive	0,99
Molecular Initiating Events	Achetylcholinesterase (AChE)	Inactive	0,82	Inactive	0,79	Inactive	0,69
Molecular Initiating Events	Constitutive androstane receptor (CAR)	Inactive	0,98	Inactive	0,98	Inactive	0,98
Molecular Initiating Events	Pregnane X receptor (PXR)	Inactive	0,92	Inactive	0,92	Inactive	0,92
Molecular Initiating Events	NADH-quinone oxidoreductase (NADH-OX)	Inactive	0,97	Inactive	0,97	Inactive	0,97
Molecular Initiating Events	Voltage gated sodium channel (VGSC)	Inactive	0,95	Inactive	0,95	Inactive	0,95
Molecular Initiating Events	Na <sup>+</sup> /I <sup>-</sup> symporter (NIS)	Inactive	0,98	Inactive	0,98	Inactive	0,98
Metabolism	Cytochrome CYP1A2	Inactive	1	Active	0,62	Active	1
Metabolism	Cytochrome CYP2C19	Inactive	0,99	Inactive	0,60	Active	0,77
Metabolism	Cytochrome CYP2C9	Inactive	0,92	Active	0,77	Active	0,99
Metabolism	Cytochrome CYP2D6	Inactive	0,96	Inactive	0,89	Inactive	0,85
Metabolism	Cytochrome CYP3A4	Inactive	1	Inactive	0,75	Inactive	0,79
Metabolism	Cytochrome CYP2E1	Inactive	0,98	Inactive	0,98	Inactive	1

**Table 8.** Prediction activities for the studied compounds Isoquercetin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c) generated using PASS online server.

Predicted Activity	(a)		(b)		(c)	
	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
Anticarcinogenic	0,965	0,001	0,740	0,007	0,757	0,007
Antioxidant	0,913	0,003	0,657	0,004	0,872	0,00

probability is significantly lower compared to the other two compounds.

Regarding antioxidant capacity, all three compounds demonstrate notable probabilities of activity. Isoquercetin and Quercetin exhibit relatively high probabilities of antioxidant activity ( $P_a=0.913$  and  $P_a=0.872$ , respectively), suggesting strong antioxidant potential. Ophioglonol also shows potential antioxidant activity, albeit with a slightly lower probability ( $P_a=0.657$ ). These predictions suggest that all three compounds have promising potential as both anticarcinogenic agents and antioxidants, with Isoquercetin showing particularly high probabilities in both categories. Thus, these activities were investigated by molecular docking analysis.

### Molecular Docking Study

A study was conducted to assess the anticancer and antioxidant activities of phytochemical compounds through molecular docking analysis against Human aminopeptidase N (PDB ID:4FYT) and superoxide dismutase (SOD) (PDB ID: 1CB4). The results of the analysis, including binding energy scores, interaction types, and receptor-ligand distances, were summarized in Table 9. In the re-docking validation phase, the co-crystallized ligand (Amastatin) demonstrated an excellent RMSD value of 0.0289 Å and a docking score of  $-13.9$  kcal/mole, as shown in Figure 8.

**Table 9.** The results of Molecular docking analysis (Binding energy scores (Kcal/mol), interactions, type of interaction, and distances (Å)) of the studied compounds Isoquercetin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c) as well as the standard molecules into the predicted active cavity of Human aminopeptidase N (hAPN/CD13) (PDB ID: 4FYT) and Superoxide dismutase (SOD) (PDB ID: 1CB4) receptors.

Ligand	Binding energy score (Kcal/mol)	Interaction	Type of interaction	Distance (Å)		
<i>Human aminopeptidase N (CD13) (PDB ID: 4FYT)</i>						
Isoquercetin	−9.0	A:ARG442:HE-:UNKI:O	Conventional Hydrogen Bond	2.448		
		:UNKI:H-A:ASP439:OD1	Conventional Hydrogen Bond	2.895		
		:UNKI:H-A:SER478:OG	Conventional Hydrogen Bond	2.519		
		:UNKI:H-A:GLU418:OE2	Conventional Hydrogen Bond	2.772		
		A:TYR477-:UNKI	Pi–Pi Stacked	4.647		
		A:HIS388-:UNKI	Pi–Pi T-shaped	5.659		
Ophioglonol	−8.8	A:ALA353:HN-:UNKO:O	Conventional Hydrogen Bond	2.606		
		A:HIS388:HD1-:UNKO:O	Conventional Hydrogen Bond	3.042		
		A:SER415:HG -:UNKO:O	Conventional Hydrogen Bond	2.648		
		:UNKO:H-A:SER478:OG	Conventional Hydrogen Bond	2.306		
		:UNKO:H-A:ASN438:O	Conventional Hydrogen Bond	2.619		
		:UNKO:H-A:GLU389:OE2	Conventional Hydrogen Bond	2.443		
		:UNKO:H-:UNKO:O	Conventional Hydrogen Bond	2.007		
		A:ARG442:NH1-:UNKO	Pi-Cation	4.277		
		A:HIS388-:UNKO	Pi–Pi Stacked	4.697		
		A:TYR477-:UNKO	Pi–Pi Stacked	4.883		
		A:TYR477-:UNKO	Pi–Pi Stacked	5.334		
		:UNKO-A:ALA351	Pi-Alkyl	5.178		
		Quercetin	−10.1	:UNKQ:H-A:ASN438:O	Conventional Hydrogen Bond	2.511
				:UNKQ:H-A:ALA353:O	Conventional Hydrogen Bond	2.098
:UNKQ:H-A:GLU418:OE1	Conventional Hydrogen Bond			2.596		
:UNKQ:H-A:GLU418:OE2	Conventional Hydrogen Bond			2.204		
A:HIS388-:UNKQ	Pi–Pi Stacked			4.509		
A:TYR477-:UNKQ	Pi–Pi Stacked			5.071		
A:TYR477-:UNKQ	Pi–Pi Stacked			5.599		
A:TYR477-:UNKQ	Pi–Pi Stacked			5.326		
:UNKQ-A:ALA351	Pi-Alkyl			5.348		
Amastatin	−13.9			A:ARG363:NH1-AMS:O6	Attractive Charge	5.235
		A:ARG363:NH1-AMS:O8	Attractive Charge	3.415		
		A:ARG363:NH2-AMS:O6	Attractive Charge	3.972		
		A:ARG363:NH2-AMS:O8	Attractive Charge	3.399		
		A:ARG381:NH2-AMS:O8	Attractive Charge	4.857		
		A:GLY352:HN-AMS:O3	Conventional Hydrogen Bond	1.615		
		A:ALA353:HN-AMS:O3	Conventional Hydrogen Bond	2.851		
		A:HIS388:HE2-AMS:O1	Conventional Hydrogen Bond	2.608		
		A:HIS388:HE2-AMS:O2	Conventional Hydrogen Bond	2.534		
		AMS:H1-A:GLU411:OE1	Conventional Hydrogen Bond	2.096		
		AMS:H2-A:GLN213:OE1	Conventional Hydrogen Bond	1.848		
		AMS:H14-A:GLU355:OE1	Conventional Hydrogen Bond	2.155		
		AMS:H14-A:GLU389:OE1	Conventional Hydrogen Bond	2.356		
		AMS:H15-A:ALA353:O	Conventional Hydrogen Bond	2.272		
		AMS:C1-A:TYR477:OH	Carbon Hydrogen Bond	3.529		
		AMS:C6-A:ALA353:O	Carbon Hydrogen Bond	3.262		
		AMS:C5-A:PHE896	Pi-Sigma	3.677		
		A:ALA351-AMS:C5	Alkyl	4.192		
		AMS:C5-A:MET354	Alkyl	5.003		
		Actinonin	−9.4	A:ARG381:HH12-:ACT:O3	Conventional Hydrogen Bond	2.705
:ACT:C1-A:THR384:OG1	Carbon Hydrogen Bond			3.491		
:ACT:C7-A:GLU380:OE2	Carbon Hydrogen Bond			3.428		
A:TYR477-:ACT	Pi-Alkyl			4.149		
A:TYR477-:ACT:C19	Pi-Alkyl			4.489		
<i>Superoxide dismutase (SOD) (PDB ID: 1CB4)</i>						
Isoquercetin	−9.0	B:LYS9:HZ2-:UNKI:O	Conventional Hydrogen Bond	2.852		
		B:CYS55:HN-:UNKI:O	Conventional Hydrogen Bond	2.601		
		B:VAL146:HN-:UNKI:O	Conventional Hydrogen Bond	2.077		
		:UNKI:H-A:ASN51:OD1	Conventional Hydrogen Bond	2.357		
		:UNKI:H-B:GLY10:O	Conventional Hydrogen Bond	2.613		
		:UNKI:H-A:CYS144:O	Conventional Hydrogen Bond	2.287		
		B:GLY54:CA-:UNKI:O	Carbon Hydrogen Bond	3.269		
		:UNKI-B:LYS9	Pi-Alkyl	5.156		
		:UNKI-A:VAL7	Pi-Alkyl	5.149		
		:UNKI-B:VAL146	Pi-Alkyl	5.206		
Ophioglonol	−7.9	A:VAL7:HN-:UNKO:O	Conventional Hydrogen Bond	2.039		
		:UNKO:H-B:ASN51:O	Conventional Hydrogen Bond	2.229		

Table 9. continued				
Ligand	Binding energy score (Kcal/mol)	Interaction	Type of interaction	Distance (Å)
<i>Human aminopeptidase N (CD13) (PDB ID: 4FYT)</i>				
Quercetin	−9.8	:UNKO:H-A:VAL146:O	Conventional Hydrogen Bond	2.010
		B:GLY145:CA-:UNKO:O	Carbon Hydrogen Bond	3.287
		:UNKO:C-B:LYS9:O	Carbon Hydrogen Bond	3.126
		:UNKO:C-B:CYS144:O	Carbon Hydrogen Bond	3.419
		:UNKO-A:VAL7	Pi-Alkyl	5.304
		:UNKO-A:VAL7	Pi-Alkyl	4.986
		:UNKO-B:VAL146	Pi-Alkyl	4.849
		B:VAL146:HN-:UNKQ:O	Conventional Hydrogen Bond	2.825
		B:VAL146:HN-:UNKQ:O	Conventional Hydrogen Bond	2.377
		:UNKQ:H-A:VAL7:O	Conventional Hydrogen Bond	2.603
		:UNKQ:H-B:LYS9:O	Conventional Hydrogen Bond	3.085
		B:GLY145:CA-:UNKQ:O	Carbon Hydrogen Bond	3.031
		:UNKQ-A:VAL7	Pi-Alkyl	5.239
		:UNKQ-A:VAL146	Pi-Alkyl	5.327
:UNKQ-B:VAL146	Pi-Alkyl	4.639		

Where: UNKI = Isoquercetin, UNKO = Ophioglonol, UNKQ = Quercetin, AMS = Amastatin, and ACT = Actinonin.

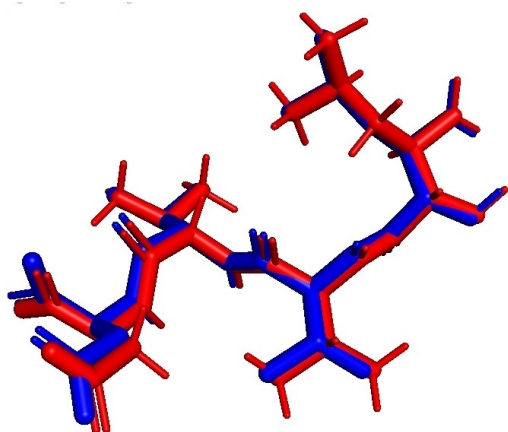


Figure 8. Validation step of Amastatin.

#### Interaction with the Human Aminopeptidase N (PDB ID:4FYT)

The study aimed to investigate the binding interactions of five molecules (three phytochemicals, Amastatin, and Actinonin) with the active cavity of Human Aminopeptidase N (Figure 9), with a focus on evaluating their potential anticancer activities against THP-1 human monocytic cell lines.

Based on molecular docking results, we found that three isolated phytochemicals (Isoquercetin (UNKI), Ophioglonol (UNKO), and Quercetin (UNKQ)) as well as two standard molecules (Amastatin (AMS) and Actinonin (ACT)) effectively bind to the active pocket of Human aminopeptidase N (hAPN/CD13) from THP-1 human monocytic cells with PDB code 4FYT. All 2D and 3D molecular docking interactions of the compounds Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin, as well as the standard drugs (Amastatin and Actinonin), with the predicted active cavity of N (hPAN/CD13) are shown in Figure 10.

Docking scores ranging from −13.9 Kcal/mol to −8.8 Kcal/mol provide a quantitative measure of the strength of ligand-

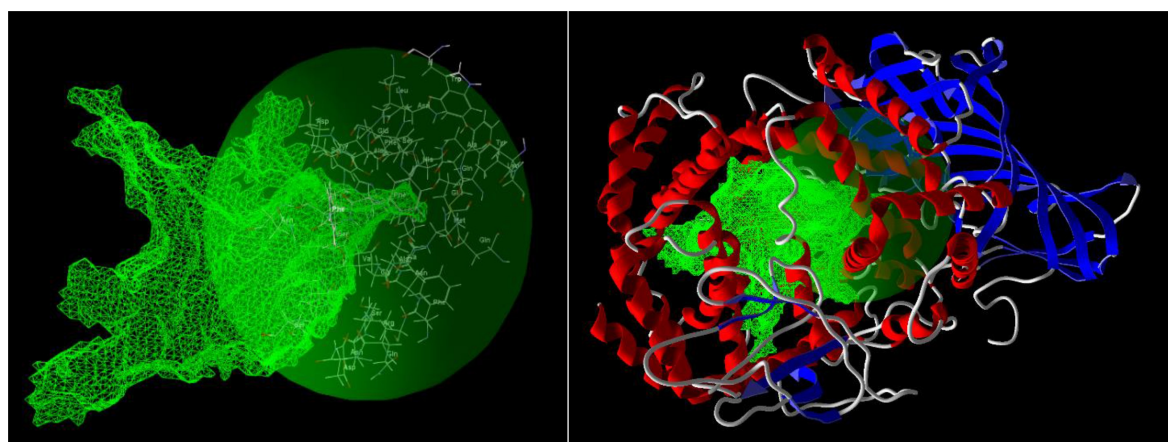
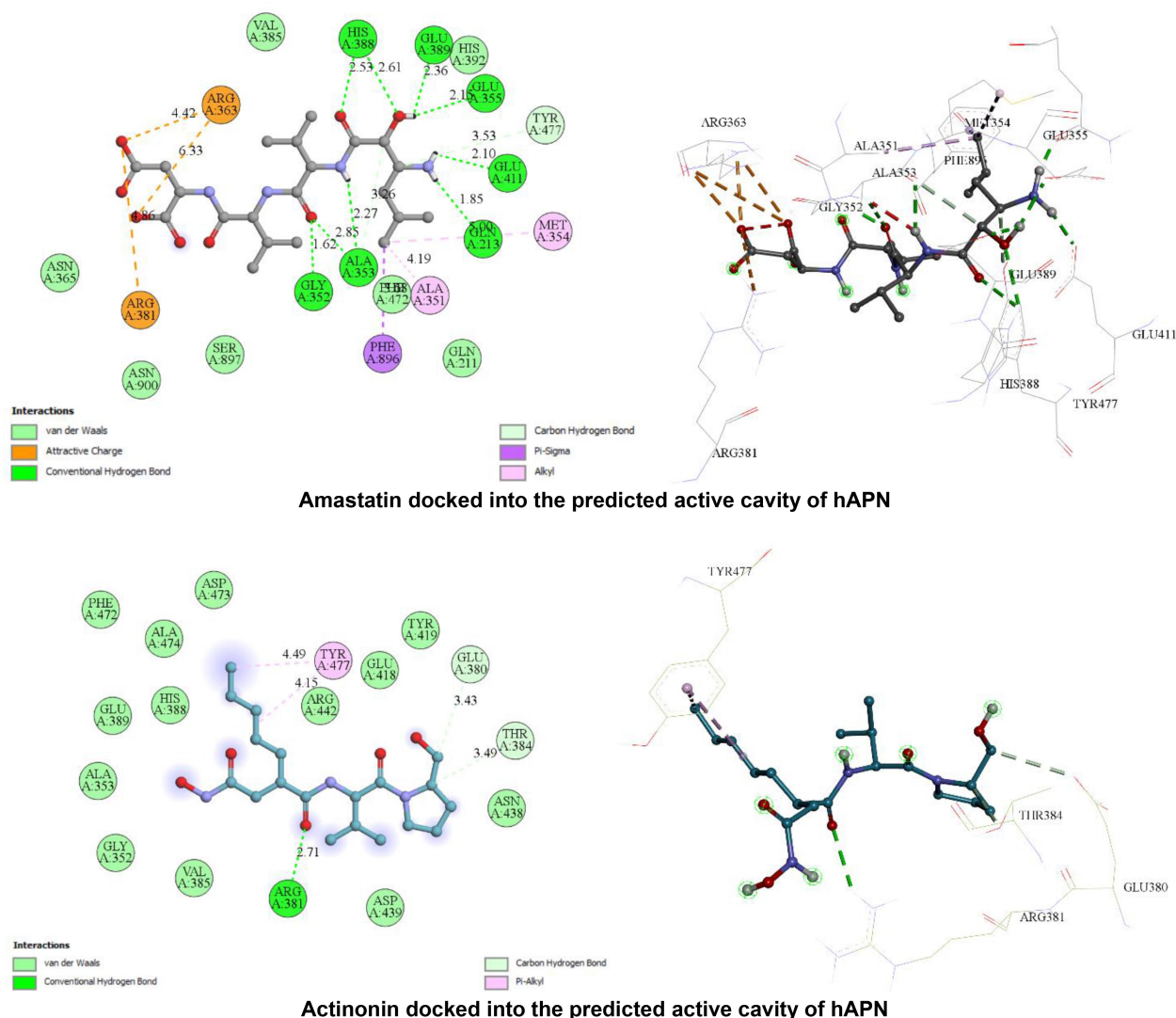


Figure 9. The predicted active cavity of human aminopeptidase N (CD13) (PDB ID: 4FYT) included the amino acid residues Leu, Ala, Thr, Trp, Arg, Gln, Glu, Asn, Asp, Gly, His, Mey, Phe, Ser, Tyr, and Val.

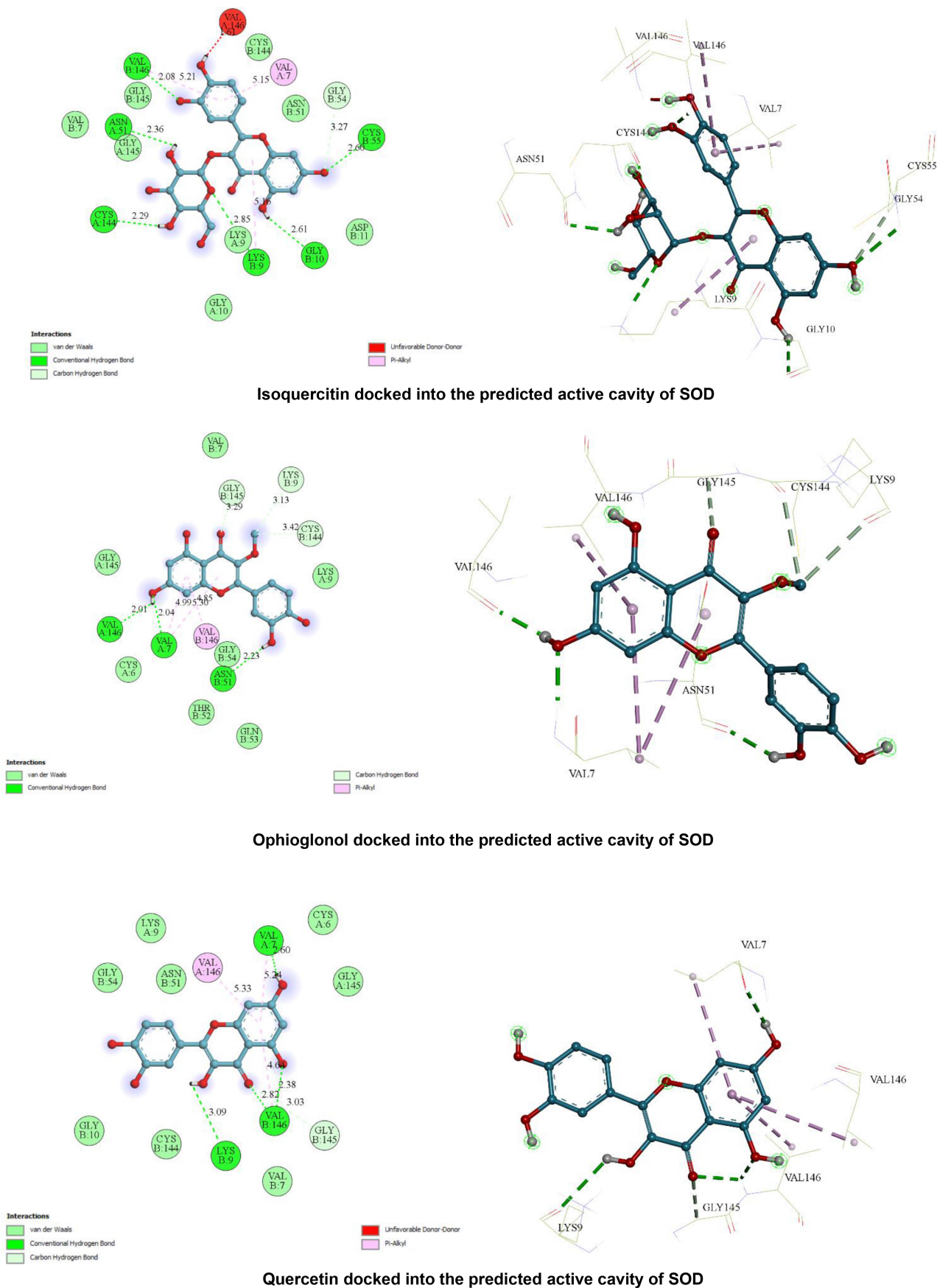


**Figure 10.** 2D (Left) and 3D (Right) molecular docking interaction of the studied compounds Isoquercetin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c), as well as the standard drugs (Amastatin and Actinonin) with the predicted active cavity of human aminopeptidase N (hPAN/CD13) (PDB ID: 4FYT).

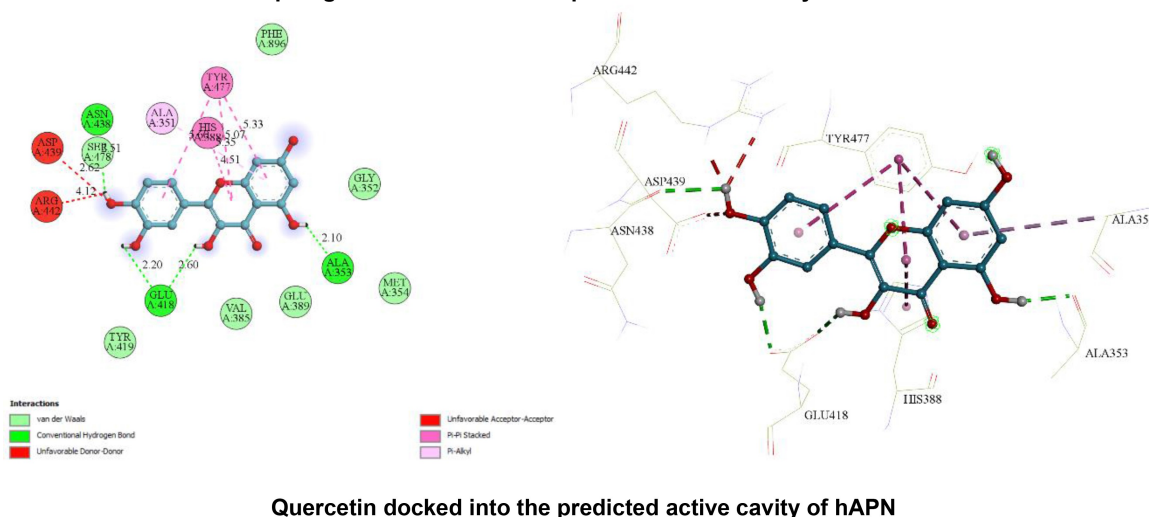
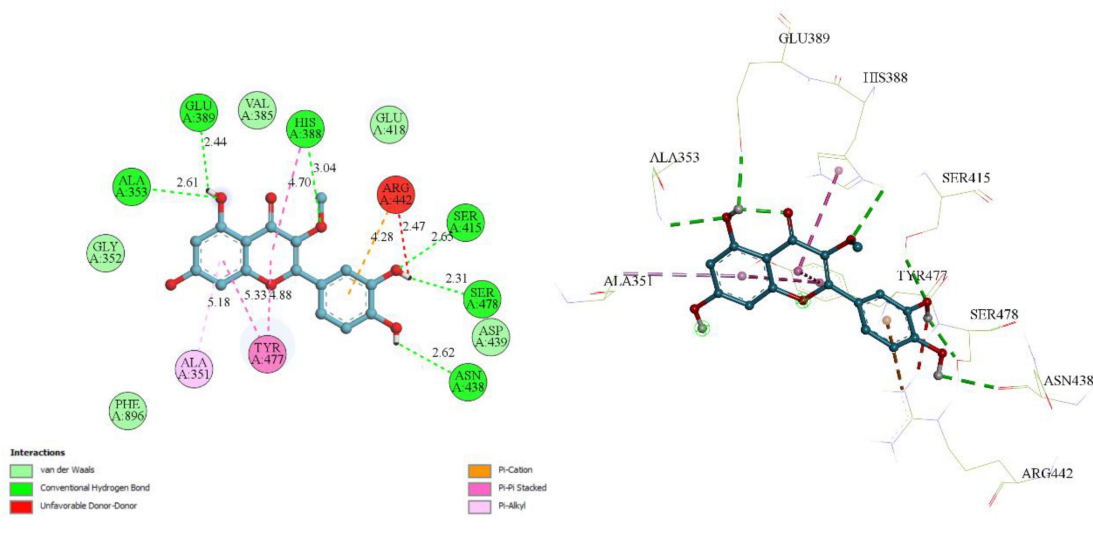
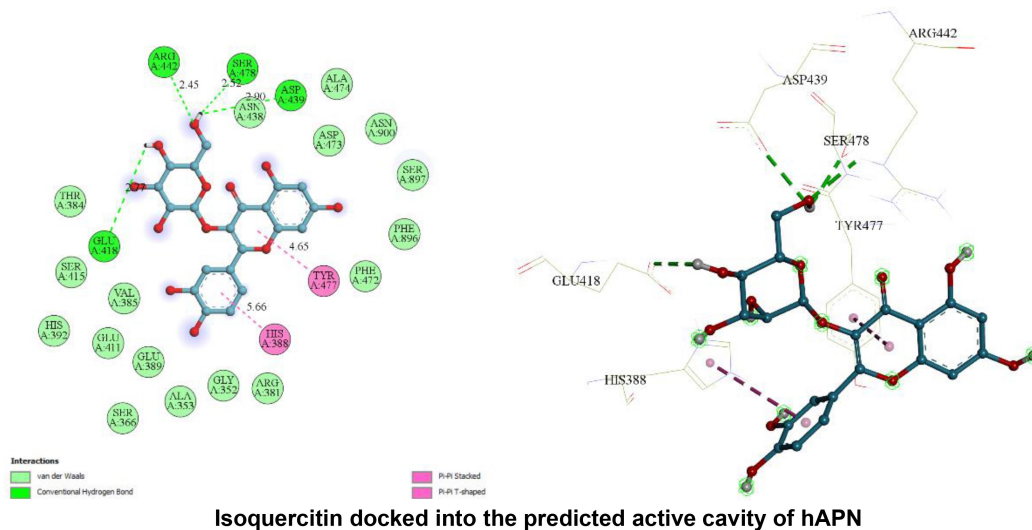
receptor binding. Amastatin (AMS) exhibited the highest affinity to hPAN/CD13, followed by Quercetin (UNKQ). Isoquercetin (UNKI) showed good binding affinity of  $-9.0$  kcal/mol to the hPAN protein, close to the Actinonin standard drug ( $-9.4$  kcal/mol). It formed four conventional hydrogen bonds with key residues ARG442, ASP439, SER478, and GLU418 of hPAN/CD13, with distances ranging from  $2.448$  Å to  $2.772$  Å. The presence of pi-pi stacking interactions with HIS388 and TYR477 suggests additional stabilizing interactions. In terms of anticancer activity against hPAN protein, we identified the ARG, GLU, and TYR amino acids as effective and highly involved in binding, as reported by Węglarz-Tomczak, Ewelina, et al.<sup>[52]</sup> In addition, Ophioglonol (UNKO) has a strong binding affinity to hPAN/CD13, with a docking score of  $-8.8$  Kcal/mol. This is due to six conventional hydrogen bonds formed with different parts of the hPAN/CD13 protein, as well as pi-cation, Pi-Alkyl, and pi-pi stacking interactions. Meanwhile, Quercetin (UNKQ) has the highest binding affinity to hPAN/CD13 among the tested

ligands, with a docking score of  $-10.1$  Kcal/mol. It forms four conventional hydrogen bonds with specific parts of the protein and also benefits from pi-pi stacking and Pi-Alkyl interactions. The Amastatin (AMS) standard drug has the strongest binding affinity to hPAN/CD13 among all ligands, with a docking score of  $-13.9$  Kcal/mol. It interacts with multiple residues, including GLY352, ALA353, HIS388, GLU411, GLN213, GLU355, and GLU389 of hPAN/CD13, forming nine hydrogen bonds with distances ranging from  $1.615$  Å to  $2.851$  Å. Additionally, two amino acids, ARG363 and ARG381, interact with the receptor through four attractive charge interactions. The presence of two carbon-hydrogen bonds and pi-sigma interactions further stabilizes the binding. The ACT drug standard also shows a high binding affinity to the hPAN receptor with a docking score of  $-9.0$  Kcal/mol. It interacts with residues ARG381, THR384, GLU380, and TYR477 through only one conventional hydrogen bond, two carbon-hydrogen bonds, and two Pi-Alkyl interactions, respectively, which contribute to its binding. Briefly, the





**Figure 12.** 2D (Left) and 3D (Right) molecular docking interaction of the studied compounds Isoquercetin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c) with the predicted active cavity of Superoxide dismutase (SOD) (PDB ID: 1CB4).



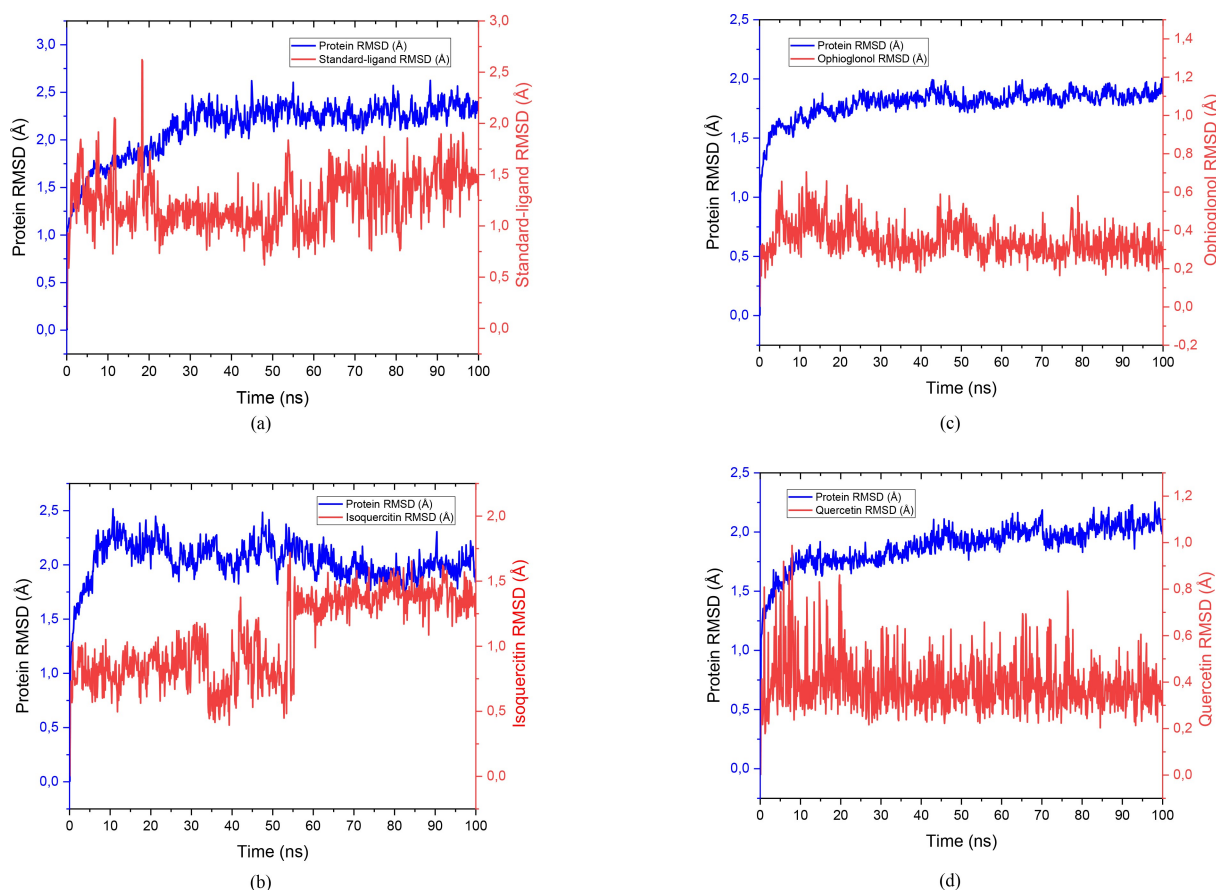
### Molecular Dynamic (MD) Simulations

To gain insight into the dynamic interactions of inhibitor Isoquercitin, Ophioglonol, Quercetin, and Actinonin reference molecules in their complexes with the corresponding anticancer enzyme mentioned above, and also the stability of this inhibitor in the active pocket of the studied enzyme, a representative complexes Isoquercitin/4FYT, Ophioglonol/4FYT, Quercetin/4FYT, and Actinonin/4FYT were subjected to 100 ns molecular dynamics (MD) simulations. The results of this calculation (Table 10), showed the number of active interactions of this inhibitor with residues in the active pocket of enzyme 4FYT. MD also indicated residues that participated in these active interactions and the length of time that the studied complexes were moderately stable in the active pocket of this enzyme. Thus, the Isoquercitin compound forms multiple hydrogen

bonds with important residues. Water-mediated hydrogen bonds are seen with residues at distances of 1.621 Å, 2.013 Å, and 2.434 Å, while conventional hydrogen bonds are formed with ALA289 (2.032 Å) and GLU325 (2.838 Å and 2.541 Å). Additional interactions include a carbon-hydrogen bond at 2.711 Å and a pi-pi stacking interaction with TYR413 at 4.500 Å. The Ophioglonol ligand shows strong binding through several conventional hydrogen bonds: with residues ALA289 (2.919 Å), SER414 (1.841 Å), ASP375 (2.529 Å), and GLU354 (1.579 Å and 1.599 Å). A pi-anion interaction with GLU347 is observed at 4.404 Å, and a pi-pi stacking interaction with HIE324 occurs at 4.145 Å. While, the Quercetin product interacts through water-mediated hydrogen bonds with distances of 1.768 Å, 2.271 Å, 1.931 Å, and 2.959 Å. Conventional hydrogen bonds are formed with ASP762 (1.785 Å) and ARG317 (2.303 Å). It also features carbon-hydrogen bonds at distances of 2.811 Å and 2.747 Å.

**Table 10.** The results of Molecular Dynamics (MD) simulations; interactions, type of interaction, and distances (Å) of the studied compounds Isoquercitin (a), Ophioglonol (b), and Quercetin (c) as well as the standard molecule (Actinonin) into the predicted active cavity of Human aminopeptidase N (hAPN/CD13) (PDB ID: 4FYT) receptor.

Ligand	Interaction	Type of interaction	Distance (Å)	
<i>Human aminopeptidase N (CD13) (PDB ID: 4FYT)</i>				
Isoquercitin	:UNKI:H1-X:WAT7861:O	Water H-Bond;Conventional H-Bond	1.621	
	X:WAT1744:H2:-UNKI:O4	Water H-Bond;Conventional H-Bond	2.013	
	X:WAT8040:H2:-UNKI:O10	Water H-Bond;Conventional H-Bond	2.434	
	X:ALA289:HN:-UNKI:O8	Conventional H-Bond	2.032	
	:UNKI:H10-X:ALA289:O	Conventional H-Bond	2.838	
	:UNKI:H10-X:GLU325:OE2	Conventional H-Bond	2.541	
	:UNKI:H11-X:GLU325:OE2	Conventional H-Bond	1.855	
	:UNKI:H13:-UNKI:O6	Conventional H-Bond	1.777	
	:UNKI:H15-X:PHE408:O	Conventional H-Bond	1.629	
	:UNKI:H17:-UNKI:O6	Carbon Hydrogen Bond	2.711	
	X:TYR413:-UNKI	Pi-Pi Stacked	4.500	
	Ophioglonol	X:WAT6639:H2-UNKO:O5	Water H-Bond;Conventional H-Bond	2.655
		X:ALA289:HN-UNKO:O6	Conventional H-Bond	2.919
X:SER414:HG-UNKO:O4		Conventional H-Bond	1.841	
UNKO:H3-X:ASP375:OD2		Conventional H-Bond	2.529	
UNKO:H4-X:GLU354:OE1		Conventional H-Bond	1.579	
UNKO:H6-X:GLU325:OE2		Conventional H-Bond	1.599	
UNKO:H8-X:GLU347:OE1		Conventional H-Bond	1.729	
X:GLU347:OE2-UNKO		Pi-Anion	4.404	
X:HIE324-UNKO		Pi-Pi Stacked	4.145	
Quercetin	:UNKQ:H1-A:WAT8058:O	Water H-Bond;Conventional H-Bond	1.768	
	:UNKQ:H2-A:WAT2362:O	Water H-Bond;Conventional H-Bond	2.271	
	A:WAT3636:H1:-UNKQ904:O1	Water H-Bond;Conventional H-Bond	1.931	
	A:WAT4801:H2:-UNKQ:O7	Water H-Bond;Conventional H-Bond	2.959	
	:UNKQ:H6-A:ASP762:OD1	Conventional H-Bond	1.785	
	:UNKQ:H10-A:ARG317:O	Conventional H-Bond	2.303	
	A:ASN314:HA:-UNKQ:O7	Carbon Hydrogen Bond	2.811	
	A:ASN759:HA:-UNKQ:O6	Carbon Hydrogen Bond	2.747	
	:UNKQ-A:ARG317	Pi-Alkyl	4.997	
	:UNKQ-A:ARG317	Pi-Alkyl	5.367	
Actinonin	ACT:H18-X:WAT4178:O	Water H-Bond;Conventional H-Bond	1.976	
	X:WAT7875:H1-ACT:O1	Water H-Bond;Conventional H-Bond	1.812	
	X:PHE832:HN-ACT:O4	Conventional H-Bond	2.655	
	X:SER833:HN-ACT:O4	Conventional H-Bond	1.994	
	X:ASN836:HD22-ACT:O2	Conventional H-Bond	2.784	
	ACT:H19-X:ASN286:OD1	Conventional H-Bond	2.093	
	ACT:H19-X:ASN286:O	Conventional H-Bond	2.854	
	ACT:H35-X:SER797:OG	Conventional H-Bond	2.384	
	X:SER833:HA-ACT:O2	Carbon Hydrogen Bond	2.727	
	X:SER833:HB2-ACT:O2	Carbon Hydrogen Bond	3.078	
	X:SER833:HB2-ACT:O4	Carbon Hydrogen Bond	2.658	
	X:SER833:HB2-ACT:O5	Carbon Hydrogen Bond	3.095	



**Figure 13.** The Root Mean Square Deviation (RMSD) of the protein and ligands was calculated after stabilizing the initial RMSD values. The plot displays the RMSD values for the protein on the left Y-axis, while the values for the ligands (Actinonin (a), Isoquercetin (b), Ophioglonol (c), and Quercetin (d)) are shown on the right Y-axis. The RMSD graph for the protein backbone is represented in blue, and the graph for the ligands is shown in red.

Additionally, pi-alkyl interactions with ARG317 are seen at 4.997 Å and 5.367 Å. Finally, the Actinonin standard drug engages in water-mediated hydrogen bonds with distances of 1.976 Å and 1.812 Å, and conventional hydrogen bonds with residues PHE832 (2.655 Å), SER833 (1.994 Å), ASN836 (2.784 Å), and ASN286 (2.093 Å and 2.854 Å). Carbon hydrogen bonds are also observed with SER833 at distances of 2.727 Å, 3.078 Å, 2.658 Å, and 3.095 Å. These results underscore the promising binding mechanisms and affinities of each compound, highlighting their potential efficacy and interaction dynamics within the enzyme's active pocket.

To evaluate the stability of protein-ligand complexes, we calculated the root mean square deviation (RMSD) for each system. The ligands, Isoquercetin, Ophioglonol, Quercetin, and Actinonin standard drug, were tested with Human aminopeptidase N (hAPN/CD13). As indicated in Figure 13, the presence of the ligand resulted in increased stability. The RMSD of ligand fitting on the protein stabilized after 10 ns, reaching approximately 2 to 2.5 Å after 100 ns. Throughout the simulation, numerous hydrogen bonds, hydrophobic interactions, and water bridges formed. Our results strongly suggest that the identified molecule could serve as a potential lead compound for inhibiting protein actions by interacting at the binding pocket.

## Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area (MM/GBSA) Calculations

The results of Molecular mechanics generalized born surface area (MM/GBSA) calculations are summarized in Table 11. Briefly, it contains the energy components which is a popular approach for estimating the binding affinity between a protein and its ligand. The  $\Delta E_{\text{vdW}}$  (kcal/mol) represents the van der Waals energy component that signifies the attractive and repulsive interactions between the protein and ligand. Lower (more negative) values indicate stronger favorable interactions. The  $\Delta E_{\text{ele}}$  (kcal/mol) represents the electrostatic energy, indicat-

**Table 11.** The calculated differences (Complex-Receptor-Ligand)  $\Delta E_{\text{vdW}}$  (kcal/mol),  $\Delta E_{\text{ele}}$  (kcal/mol),  $\Delta E_{\text{GB}}$  (kcal/mol), and  $\Delta G_{\text{MM-GBSA}}$  (kcal/mol)

Energy Component	Standard ligand	Isoquercetin	Quercetin	Ophioglonol
$\Delta E_{\text{vdW}}$ (kcal/mol)	-39.6287	-32.0086	-26.3930	-31.4979
$\Delta E_{\text{ele}}$ (kcal/mol)	-23.8191	-67.3039	-22.7958	-51.2530
$\Delta E_{\text{GB}}$ (kcal/mol)	49.5733	89.1263	38.7259	63.2715
$\Delta G_{\text{MM-GBSA}}$ (kcal/mol)	-19.1016	-15.1946	-14.0575	-24.1644

ing the electrostatic attraction or repulsion between the charged parts of the protein and ligand. More negative values indicate stronger electrostatic attraction. The  $\Delta E_{GB}$  (kcal/mol) represents the polar solvation energy calculated using the Generalized Born (GB) model. This energy accounts for the desolvation penalty when the ligand binds to the protein. Positive values indicate that solvation opposes binding. Lastly, the  $\Delta G_{MM-GBSA}$  (kcal/mol) is the net free binding energy, combining all energy components to provide an overall estimate of the binding affinity. More negative values indicate stronger binding between the protein and ligand. The results revealing substantial differences in binding strengths. Ophioglonol demonstrated the highest binding affinity with a  $\Delta G_{MM-GBSA}$  of  $-24.1644$  kcal/mol, primarily driven by significant van der Waals ( $-31.4979$  kcal/mol) and electrostatic interactions ( $-51.2530$  kcal/mol), despite unfavorable polar solvation energy ( $63.2715$  kcal/mol). The Standard Ligand also exhibited strong affinity with a  $\Delta G_{MM-GBSA}$  of  $-19.1016$  kcal/mol, supported by robust van der Waals interactions ( $-39.6287$  kcal/mol) and moderate electrostatic interactions ( $-23.8191$  kcal/mol), partially counteracted by a positive polar solvation energy ( $49.5733$  kcal/mol). Isoquercitin showed a moderate binding affinity, with a  $\Delta G_{MM-GBSA}$  of  $-15.1946$  kcal/mol, characterized by a strong electrostatic interaction ( $-67.3039$  kcal/mol) but offset by a higher polar solvation penalty ( $89.1263$  kcal/mol) and lower van der Waals interaction ( $-32.0086$  kcal/mol). In contrast, Quercetin displayed the weakest binding affinity, with a  $\Delta G_{MM-GBSA}$  of  $-14.0575$  kcal/mol, attributed to relatively weaker van der Waals ( $-26.3930$  kcal/mol) and electrostatic interactions ( $-22.7958$  kcal/mol), along with a significant polar solvation penalty ( $38.7259$  kcal/mol). In conclusion, these results suggest that Ophioglonol may be a more potent ligand for the protein compared to the other compounds.

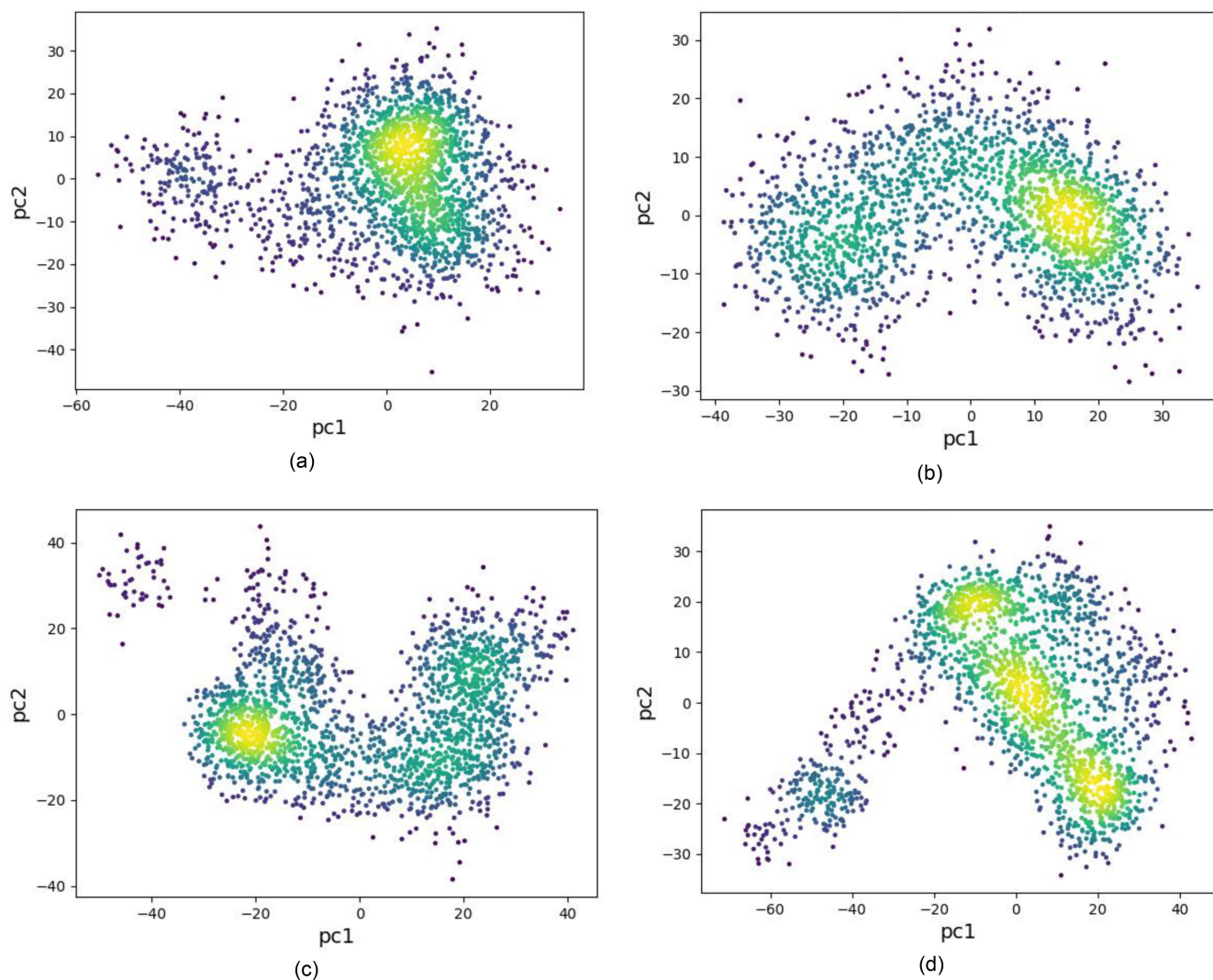
### Principal Component Analysis (PCA)

The principal component analysis (PCA) was employed to detect the protein's conformational changes mediated by the studied natural product binding and reveal the collective motions of MD trajectories. According to Figure 14, the PC analysis indicated conformational changes in all clusters where the green region exhibited the most significant movements, the white region represented intermediate movements and the purple region displayed the least flexible movements. The yellow-colored regions show the cluster type. The resulting graphs below show one cluster in each case (Figure 14 (a–c)), while in the case of the standard drug (Figure 14-d)), three different clusters were observed. Each of these clusters represent an energy minimum that was identified during the simulation.

## Conclusions

The analysis of the chemical reactivity indices of the isolated compounds, in both gas and water environments, indicates that

they have distinct electronic characteristics and may differ in their potential for reactivity. Isoquercitin consistently exhibited higher energy values of HOMO and LUMO orbitals compared to the other two compounds, suggesting different electronic properties which impacted its reactivity. Quercetin, on the other hand, consistently displayed the lowest ionization energy values, indicating its relatively higher ease in donating electrons, which could be advantageous for its potential anticancer activity. Additionally, Quercetin exhibited the highest electron affinity and electronegativity values, suggesting its stronger tendency to accept electrons and attract electrons, respectively, potentially enhancing its antioxidant activity. Isoquercitin's remarkably high Electronic Chemical Potential values suggested its greater propensity for electron transfer processes, relevant to its antioxidant and anticancer properties. Moreover, the behavior of electrophilicity values implied that Isoquercitin may have possessed a greater ability to engage in nucleophilic reactions, impacting its interactions with biological targets involved in antioxidant and anticancer mechanisms. The 100 ns molecular dynamics simulations of Isoquercitin, Ophioglonol, Quercetin, and Actinonin with the anticancer enzyme 4FYT demonstrated that each compound effectively binds to the enzyme's active site through various interactions. Isoquercitin formed hydrogen bonds at distances of  $1.621$  Å to  $2.838$  Å, with additional interactions including pi-pi stacking at  $4.500$  Å. Ophioglonol exhibited strong binding with hydrogen bonds at  $1.579$  Å to  $2.919$  Å and pi-interactions at  $4.145$  Å and  $4.404$  Å. Quercetin interacted through water-mediated hydrogen bonds ( $1.768$  Å to  $2.959$  Å), conventional hydrogen bonds ( $1.785$  Å and  $2.303$  Å), and pi-alkyl interactions at  $4.997$  Å and  $5.367$  Å. Actinonin demonstrated binding through water-mediated hydrogen bonds ( $1.812$  Å and  $1.976$  Å), conventional hydrogen bonds ( $1.994$  Å to  $2.854$  Å), and additional carbon-hydrogen bonds. The RMSD analysis showed that all complexes achieved stability with RMSD values of approximately  $2$  to  $2.5$  Å after 10 ns, indicating effective binding and stability of each compound within the enzyme's active site. These results suggest that Isoquercitin, Ophioglonol, Quercetin, and Actinonin are promising candidates for further development as potential inhibitors of the target enzyme. Furthermore, the MM/GBSA binding energies ( $\Delta G_{MM-GBSA}$ ), Ophioglonol shows the strongest binding affinity to the protein, followed by the Standard Ligand, Isoquercitin, and finally Quercetin. The differences in binding affinity can be attributed to variations in van der Waals, electrostatic, and polar solvation energies. Ophioglonol's strong binding affinity suggests it may be a more potent ligand for the protein compared to the others. The principal component analysis (PCA) revealed distinct conformational changes in the protein upon binding with the studied natural products, highlighting specific regions of flexibility and rigidity within the protein structure. The identification of different clusters, particularly the multiple clusters observed for the standard drug, suggests varying energy minima and potential conformational states during the binding process. These findings indicate that the natural products induce unique conformational dynamics in the protein, which could be crucial for understanding their binding mechanisms and potential therapeutic effects. Further-



**Figure 14.** PCA projection of 100 ns simulation for each complex Standard ligand/4FYT (a), Ophioglonol/4FYT (b), Quercetin/4FYT (c), and Isoquercetin/4FYT (d).

more, based on the results of their physicochemical properties and drug-likeness evaluation, Isoquercetin appeared to be the most promising of the three compounds, with the highest drug-likeness score. It had good lipophilicity but may have faced challenges in permeability and absorption due to its higher number of hydrogen bond acceptors. Meanwhile, Ophioglonol and Quercetin had favorable characteristics for drug permeability and absorption, as they met Lipinski's rule of five criteria. Additionally, the study's findings indicated that these compounds exhibited diverse pharmacological activities, highlighting their potential therapeutic applications across different drug categories.

In addition, Isoquercetin demonstrated varying degrees of water solubility, intestinal absorption, and distribution compared to Ophioglonol and Quercetin. Its higher Caco2 permeability suggested better intestinal absorption potential, while differences in VDss and fraction unbound in plasma indicated varying distribution patterns. However, Isoquercetin and Ophioglonol both exhibited AMES toxicity and potential hERG

inhibition, suggesting safety concerns that required further investigation. Ophioglonol, on the other hand, presented unique metabolic interactions as a CYP1A2 inhibitor, potentially influencing its metabolism and drug-drug interactions. Additionally, its slightly higher total clearance compared to Quercetin may have affected its elimination kinetics. Quercetin, although exhibiting favorable properties in some aspects such as AMES toxicity and hERG inhibition, showed differences in water solubility, intestinal absorption, and metabolic interactions compared to Isoquercetin and Ophioglonol. These variations underscored the need for a thorough evaluation of its pharmacokinetic and safety profiles.

Furthermore, in the comparison of the physicochemical properties of the three compounds, some significant differences were identified, that could have influenced their pharmacological behavior. Thus, as predicted by the molinspiration server, Isoquercetin had a larger and more complex structure compared to Ophioglonol and Quercetin, which could have

impacted its interaction with biological targets. Additionally, Isoquercetin had a more rigid structure, which could have affected its adaptability to binding pockets of target proteins. Moreover, Isoquercetin had a larger molecular volume and higher polarizability compared to the other two compounds, which could have affected their solubility, membrane permeability, and binding interactions with biological targets. The predicted lipophilicity values suggested that Isoquercetin was more lipophilic compared to Ophioglonol and Quercetin, which could have affected their biodistribution and pharmacokinetic properties. However, all three compounds exhibited moderate lipophilicity, indicating favorable properties for crossing biological barriers. The predicted water solubility values indicated that Isoquercetin had relatively higher solubility compared to Ophioglonol and Quercetin, which could have enhanced their dissolution and absorption in biological systems. Despite variations, all three compounds were classified as soluble or moderately soluble, indicating favorable aqueous solubility. The predicted pharmacokinetic properties provided insights into the absorption, distribution, metabolism, and excretion characteristics of the compounds. Isoquercetin, in particular, showed low gastrointestinal absorption potential, while Ophioglonol and Quercetin exhibited high absorption potential. Additionally, differences in metabolic interactions among the compounds may have influenced their pharmacokinetic behavior. The predicted drug-likeness properties revealed that Ophioglonol and Quercetin had more favorable drug-likeness profiles compared to Isoquercetin, indicating their potential suitability for further drug development efforts. Finally, the predicted medicinal chemistry properties highlighted various aspects of the compounds' potential suitability for medicinal use, including concerns such as the presence of potentially problematic substructures and ease of synthesis. The results of ProTox III platform revealed that Isoquercetin and Ophioglonol demonstrated lower toxicity levels compared to Quercetin. While Quercetin exhibited potential toxicity, including carcinogenic and immunotoxic activity, Isoquercetin and Ophioglonol showed no carcinogenic activity and exhibited safer profiles in hormone-sensitive conditions. However, Isoquercetin and Ophioglonol exhibited nephrotoxic activity, potentially posing harm to kidney function, and all three compounds showed respiratory toxicity. Overall, the study provided valuable insights into the potential therapeutic applications of these compounds across different drug categories. Future research should focus on validating predictions experimentally, studying various physiological environments, and conducting detailed toxicity, pharmacokinetic, and structural binding studies. Long-term safety and efficacy assessments and formulation development to improve bioavailability and therapeutic efficacy are also essential.

## Methods

### Theoretical Study

Chemical structures of three phytochemicals, Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin, were created using the Chem-Draw 12.0 tool. Subsequently, the molecular geometries were optimized, and the energy of each molecule was minimized under neutral conditions in both the gas phase and water solvent using the Density Functional Theory (DFT) method and the B3LYP6col 311 G++(2d, 2p) basis set.<sup>[58]</sup> All DFT calculations were performed utilizing Gaussian software.<sup>[59]</sup> The Highest Occupied Molecular Orbital (HOMO), and the Lowest Unoccupied Molecular Orbital (LUMO) were visualized and gap energies were examined. GaussSum program<sup>[58]</sup> was utilized to examine the total density of state (TDOS) and the corresponding plots were generated with OriginPro software.<sup>[60]</sup> To investigate the nucleophilic and electrophilic sites on the studied compounds, the Molecular Electrostatic surface potential (MESP) plots<sup>[61–64]</sup> were displayed and analyzed. Finally, certain Global reactivity descriptors were calculated and analyzed.

### Global Reactivity Descriptors Analysis

Chemical reactivity indices play a crucial role in comprehending the characteristics of different molecules. In this work, diverse indices such as Electron affinity ( $A$ ), Electronic chemical potential ( $\mu$ ), Chemical hardness ( $\eta$ ), Global softness ( $S$ ), Electronegativity ( $\chi$ ), Electrophilicity index ( $\omega$ ), and Ionization potential ( $I$ ) were evaluated for three phytochemicals (Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin). These indices were determined by utilizing the energies of the frontier molecular orbitals HOMO and LUMO of the optimized structures. According to Koopman's theorem, Electron affinity ( $A = -E_{\text{LUMO}}$ ) and ionization potential ( $I = -E_{\text{HOMO}}$ ) indicate the ability of a chemical compound to donate or accept a single electron, respectively. The chemical hardness value ( $\eta$ ), which reflects the stability and reactivity of a chemical system, can be calculated as  $\eta = (E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}})$ .<sup>[65,66]</sup> Global softness ( $S$ ) expresses the extent of electron cloud diffusion within a molecular system and is defined as  $S = 1/\eta$ . Additionally, the chemical potential is defined as the negative term of a molecule's electronegativity.<sup>[67]</sup> Electrophilicity ( $\omega = \mu^2/2\eta$ ) measures an electrophile's capability to receive electrons from a nucleophile.<sup>[68,69]</sup> Conversely, electronegativity ( $\chi = -\mu = -1/2 (E_{\text{LUMO}} + E_{\text{HOMO}})$ ) indicates a nucleophile's ability to attract electrons from an electrophilic system. The maximal charge acceptance ( $\Delta N_{\text{max}}$ ) refers to the maximum charge a molecular system can accept within a given electronic structure and can be calculated as  $\Delta N_{\text{max}} = -(\mu/\eta)$ .<sup>[70,71]</sup>

### Generation

The lead compounds (Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin) were submitted for estimation of several *in silico* pharmacokinetic parameters. The chemical structure of these compounds was provided in the form of a canonical simplified molecular input line entry system (SMILES) unless otherwise stated. The SMILES of the three phytochemicals were obtained using the Open Babel GUI tool<sup>[72]</sup> and are given in Table 12.

### Molinspiration Platform

Lead chemicals Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin were evaluated using the Molinspiration online server to estimate their molecular descriptors and drug-likeness properties. The estimated molecular properties included LogP, TPSA (Topological polar surface area), HBD (number of hydrogen bond donors), and HBA

**Table 12.** Smiles of the isolated phytochemicals Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin.

Compounds	Smiles
Isoquercetin	<chem>O=c3c(OC1OC(CO)C(O)C1O)c(c2ccc(O)c(O)c2)oc4cc(O)cc(O)c34</chem>
Ophioglonol	<chem>O=c2c(CO)c(c1ccc(O)c(O)c1)oc3cc(O)cc(O)c23</chem>
Quercetin	<chem>O=c2c(O)c(c1ccc(O)c(O)c1)oc3cc(O)cc(O)c23</chem>

(number of hydrogen bond acceptors). Furthermore, the drug-likeness property of each compound was analyzed based on GPCR (G-protein coupled receptor ligand), ICM (Ion channel modulators), KI (Kinase inhibitors), NRL (Nuclear receptor ligands), PI (Protease inhibitors), and EI (Enzyme inhibitors). The analysis was conducted using the molinspiration free web server at <https://www.molinspiration.com/>.

### Pharmacokinetic Properties

The pkCSM platform, <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>, is a machine-learning system that predicts the pharmacokinetic properties of small compounds by utilizing graph-based signatures. The application includes 28 well-trained and validated regression and classification models that cover a wide range of ADMET descriptors from various experimental datasets. These descriptors include important metrics such as CaCo-2 permeability, water solubility, intestinal absorption in humans, and P-glycoprotein substrate/inhibitor. Additionally, characteristics related to distribution, such as the human Volume of Distribution and the permeability of the Blood-Brain Barrier (BBB), are included. The pkCSM server also evaluates metabolic features using models that analyze substrate characteristics and cytochrome inhibition, while models for renal OCT2 substrate and total clearance are used to account for excretion. Furthermore, a variety of endpoints such as Rat LD50, AMES toxicity, Skin sensitization, and Minnow toxicity are covered by toxicity predictions.<sup>[73]</sup>

### SwissADME

The swissADME website, <http://www.swissadme.ch/>,<sup>[51]</sup> supports drug development by calculating physical characteristics, pharmacokinetic qualities, druglike nature, and medicinal chemistry friendliness of lead chemicals Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin.

### ProTox III

An essential step in the creation of new drugs is the prediction of compound toxicity. In addition to being quicker than determining lethal doses in animals, computational toxicity predictions can also aid in lowering the number of animal tests conducted. As a result, Drwal et al.'s ProTox III online server (<https://comptox.charite.de/protox3/>),<sup>[74]</sup> a virtual laboratory for estimating the toxicities of small compounds, was used for the *in silico* toxicological investigation of the isolated compounds. The predictions include Hepatotoxicity, Neurotoxicity, Nephrotoxicity, Respiratory toxicity, Cardiotoxicity, Carcinogenicity, Immunotoxicity, Mutagenicity, Cytotoxicity, BBB-barrier, Ecotoxicity, Clinical toxicity, Nutritional toxicity, Aryl hydrocarbon Receptor (AhR) Androgen Receptor (AR), Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD), Aromatase, Estrogen Receptor Alpha (ER), Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD), Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma), Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive

element (nrf2/ARE), Heat shock factor response element (HSE) Mitochondrial Membrane Potential (MMP), Phosphoprotein (Tumor Suppressor) p53, ATPase family AAA domain-containing protein 5 (ATAD5), Thyroid hormone receptor alpha (THR $\alpha$ ) Thyroid hormone receptor beta (THR $\beta$ ), Transthyretin (TTR), Ryanodine receptor (RYR), GABA receptor (GABAR), Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR),  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate receptor (AMPA), Kainate receptor (KAR), Acetylcholinesterase (AChE), Constitutive androstane receptor (CAR), Pregnane X receptor (PXR), NADH-quinone oxidoreductase (NADHox), Voltage gated sodium channel (VGSC) Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter (NIS), Cytochrome CYP1 A2, Cytochrome CYP2 C19, Cytochrome CYP2 C9, Cytochrome CYP2D6, Cytochrome CYP3 A4, and Cytochrome CYP2E1.

### Pass Online Server (Way2Drug)

PASS Online web site (<https://www.way2drug.com/passonline/>) predicts more than 4000 different types of biological activity, including those related to pharmacology, modes of action, toxic and adverse effects, interactions with metabolic enzymes and transporters, influence on gene expression.

### Molecular Docking Study

A molecular docking study was performed using AutoDock Vina 4.2 (MGLTools 1.5.7)<sup>[75]</sup> to determine how isolated molecules interact with target enzymes. Isoquercetin, Ophioglonol, and Quercetin, as well as standard molecules (Amastatin, and Actinonin), were optimized and converted to pdb format using the Open Babel GUI tool.<sup>[72]</sup> The target structures were obtained from the RSC Protein Data Base (<https://www.rcsb.org/>). For anticancer activity, human aminopeptidase N (hAPN/CD13) (PDB ID:4FYT) was used, while for antioxidant activity, copper-zinc superoxide dismutase (SOD) (PDB ID: 1CB4) was used. The Kollman charge of hAPN protein was  $-219.03$ , while SOD had a charge of  $-55.18$ . The grid dimensions were set at 40 Å with a spacing of 0.500 Å, centered on specific coordinates for hAPN and SOD receptors. The predicted active cavity of hAPN included amino acid residues such as Leu, Ala, Thr, Trp, Arg, Gln, Glu, Asn, Asp, Gly, His, Met, Phe, Ser, Tyr, and Val. While, for SOD, the predicted active pocket included amino acid residues such as Ala, Arg, Asn, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Phe, Pro, Ser, Thr, Tyr, and Val. Using the Lamarckian Genetic Algorithm, nine different docking poses of the ligands with the receptors were produced for each molecule. To do additional analysis with BIOVIA Discovery Studio 2021, the position with the highest binding energy was chosen.

### Molecular Dynamic (MD) Simulations

The molecular docking analysis was carried out on the lead compounds and the standard drug (Actinonin) to assess their fit into the active cavity of human aminopeptidase N (hAPN/CD13) protein (PDB ID:4FYT). Subsequently, MD simulations were performed using the Amber 22 package.<sup>[76,77]</sup> The ligand parameters were generated using the Antechamber module and the General Amber Force Field (GAFF).<sup>[78]</sup> Atomic charges of the ligand were determined using the restrained electrostatic potential (RESP) protocol with the B3LYP/6-311 G++(2 d, 2p) basis set.<sup>[79]</sup> For the MD simulations, the force field 14SB was employed,<sup>[80]</sup> and Na<sup>+</sup> counter ions and a TIP3P water box<sup>[81,82]</sup> were added to mimic physiological salt concentration and neutralize the system. The Sander. MPI was used for energy minimization, while PMEMD. CUDA was used for heating, equilibration, and MD simulations. Following equilibration, MD simulations were run at a constant temperature of 310 K and 1 atm pressure. Finally, MD trajectories<sup>[83]</sup>

of all systems were analyzed to obtain RMSD, energy decomposition, and principal component analysis (PCA) plot analysis.

### Molecular Mechanics/Generalized Born Surface Area (MM/GBSA) Analysis

The binding affinity of the selected protein-ligand complexes was calculated using the Prime MMGBSA module of the MM/GBSA protocol described by Rodriguez et al.<sup>[84]</sup>. This method involved processing molecular docked complexes from 100 ns MD simulation trajectories by removing explicit TIP4P water molecules and ions, as reported by Mena-Ulecia et al.<sup>[85]</sup>. After processing, the net free binding energy ( $\Delta G$ ) for each protein-ligand complex was calculated using Equation (2):

$$\Delta G_{\text{MMGBSA bind}} = \Delta G_{\text{complex (minimized)}} - (\Delta G_{\text{ligand (minimized)}} + \Delta G_{\text{receptor (minimized)}}) \quad (2)$$

Where  $\Delta G_{\text{MMGBSA bind}}$  represents the net free binding energy,  $\Delta G_{\text{complex}}$  represents the binding energy of the receptor-ligand complex, and  $\Delta G_{\text{ligand}}$  and  $\Delta G_{\text{receptor}}$  represent the energy for the ligand and receptor, respectively.

### Principal Component Analysis (PCA)

In the context of molecular dynamics (MD) simulations, PCA (Principal Component Analysis) is a powerful technique to analyze and interpret the conformational space explored by the system. Prior to performing principal component analysis (PCA) on the molecular dynamics (MD) trajectories, the 100 nanosecond MD trajectories of the wild-type and mutant complexes underwent solvent and ion removal using the CPPTRAJ module<sup>[83]</sup> implemented in AMBER 22.<sup>[76,77]</sup> The PCA computation was carried out using the aligned trajectories against the fully minimized structure. It is used to reduce the dimensionality of complex datasets, obtained from MD simulations, and to identify major patterns or trends in the data.

### Acknowledgements

The authors are grateful to the DGRSDT of the Ministry of Higher Education and Scientific Research of Algeria for PRFU Project (B00L01UN050120200001) and (B00L01UN050120230004). We are grateful to Dr. Rafik Nezzar Manager of High-Performance Computing (HPC), University of Batna 2 for his invaluable technical support.

### Conflict of Interests

The authors declare no conflict of interest.

### Data Availability Statement

Research data are not shared.

**Keywords:** Anticancer activity · Antioxidant activity · pkCSM profile · DFT · Molecular Dynamics

- [1] S. Wei, T. Sun, J. Du, B. Zhang, D. Xiang, W. Li, *Oncol. Rep.* **2018**, *40*, 3213–3222.
- [2] J. Dai, M. Ashrafzadeh, A. R. Aref, G. Sethi, Y. N. Ertas, *Drug Discovery Today* **2024**, *29*, 103981.
- [3] X. He, Z. Jiang, O. U. Akakuru, J. Li, A. Wu, *Chem. Commun.* **2021**, *57*, 12417–12435.
- [4] A. Gupta, K. Bihman, I. Raheja, S. K. Sharma, H. K. Kar, *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2016**, *6*, 248–252.
- [5] R. Bhimanwar, L. Kothapalli, A. Khawshi, *Res. J. Pharm. Technol.* **2020**, *13*, 2043–2050.
- [6] M. Dueñas, F. Surco-Laos, S. González-Manzano, A. M. González-Paromás, C. Santos-Buelga, *Euro. Food Res. and Tech.* **2011**, *232*, 103–111.
- [7] P. Singh, Y. Arif, A. Bajguz, S. Hayat, *Plant Phys. Biochem.* **2021**, *166*, 10–19.
- [8] Y. Lang, N. Gao, Z. Zang, X. Meng, Y. Lin, S. Yang, Y. Yang, Z. Jin, B. Li, *J. Future Foods* **2024**, *4*, 193–204.
- [9] S. V. S. da Silva, O. M. Barboza, J. T. Souza, É. N. Soares, C. C. Dos Santos, L. V. Pacheco, I. P. Santos, T. B. D. S. Magalhães, M. B. P. Soares, E. T. Guimarães, C. S. Meira, S. L. Costa, V. D. A. da Silva, L. L. B. de Santana, A. de F. Santos Júnior, *Molecules* **2021**, *26*, 6923.
- [10] B. Salehi, L. Machin, L. Monzote, J. Sharifi-Rad, S. M. Ezzat, M. A. Salem, R. M. Merghany, N. M. El Mahdy, C. S. Kılıç, O. Sytar, M. Sharifi-Rad, F. Sharopov, N. Martins, M. Martorell, W. C. Cho, *ACS Omega* **2020**, *5*, 11849–11872.
- [11] Z. P. Yuan, L. J. Chen, L. Y. Fan, M. H. Tang, G. L. Yang, H. S. Yang, X. B. Du, G. Q. Wang, W. X. Yao, Q. M. Zhao, B. Ye, R. Wang, P. Diao, W. Zhang, H. Bin Wu, X. Zhao, Y. Q. Wei, *Clin. Cancer Res.* **2006**, *12*, 3193–3199.
- [12] S. A. Almatroodi, M. A. Alsahli, A. Almatroudi, A. K. Verma, A. Aloliqi, K. S. Allemailem, A. A. Khan, A. H. Rahmani, *Mol.* **2021**, *26*, 1315.
- [13] E. Tavana, H. Mollazadeh, E. Mohtashami, S. M. S. Modaresi, A. Hosseini, H. Sabri, A. Soltani, H. Javid, A. R. Afshari, A. Sahebkar, *BioFactors* **2020**, *46*, 356–366.
- [14] T. Macedo, V. Ribeiro, A. P. Oliveira, D. M. Pereira, F. Fernandes, N. G. M. Gomes, L. Araújo, P. Valentão, P. B. Andrade, *J. Ethnopharmacol.* **2020**, *248*, 112312.
- [15] D. E. Wentworth, D. B. Tresnan, B. C. Turner, I. R. Lerman, B. Bullis, E. M. Hemmilla, R. Levis, L. H. Shapiro, K. V. Holmes, *Virology* **2005**, *335*, 185–197.
- [16] M. Wickström, R. Larsson, P. Nygren, J. Gullbo, *Cancer Sci.* **2011**, *102*, 501–508.
- [17] U. Lendeckel, F. Karimi, R. Al Abdulla, C. Wolke, *Biomedicine* **2023**, *11*, 724.
- [18] M. Wickström, R. Larsson, P. Nygren, J. Gullbo, *Cancer Sci.* **2011**, *102*, 501–508.
- [19] J. M. Domínguez, G. Pérez-Chacón, M. J. Guillén, M. J. Muñoz-Alonso, B. Somovilla-Crespo, D. Cibrián, B. Acosta-Iborra, M. Adrados, C. Muñoz-Calleja, C. Cuevas, F. Sánchez-Madrid, P. Avilés, J. M. Zapata, *J. Hematol. Oncol.* **2020**, *13*, 1–15.
- [20] S. Venugopal, N. Daver, F. Ravandi, *Curr. Hematol. Malig. Rep.* **2021**, *16*, 89–96.
- [21] S. Ghosh, R. Lalani, V. Patel, D. Bardoliwala, K. Maiti, S. Banerjee, S. Bhowmick, A. Misra, *J. Control. Rel.* **2019**, *296*, 114–139.
- [22] O. M. Ighodaro, O. A. Akinloye, *Alexandria Med. J.* **2018**, *54*, 287–293.
- [23] G. R. Buettner, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2012**, *11*, 341–346.
- [24] J. G. Scandalios, *Plant Physiol.* **1993**, *101*, 7.
- [25] B. Poljsak, *Oxid Med Cell Longev* **2011**, *2011*, 194586.
- [26] E. Birben, U. M. Sahiner, C. Sackesen, S. Erzurum, O. Kalayci, *World Allergy Organ. J.* **2012**, *5*, 9–19.
- [27] M. Hasanuzzaman, M. H. M. B. Bhuyan, F. Zulfiqar, A. Raza, S. M. Mohsin, J. Al Mahmud, M. Fujita, V. Fotopoulos, *Antioxidants (Basel)* **2020**, *9*, 681.
- [28] K. J. A. Davies, E. Percy, *IUBMB Life* **2020**, *50*, 279–289.
- [29] V. Lobo, A. Patil, A. Phatak, N. Chandra, *Pharmacogn. Rev.* **2010**, *4*, 118.
- [30] R. Vona, L. Pallotta, M. Cappelletti, C. Severi, P. Matarrese, *Antioxidants (Basel)* **2021**, *10*, 201.
- [31] M. Zheng, Y. Liu, G. Zhang, Z. Yang, W. Xu, Q. Chen, *Antioxidants (Basel)* **2023**, *12*, 1675.
- [32] A. R. Fetoni, F. Paciello, R. Rolesi, G. Paludetti, D. Troiani, *Free Radical Biol. Med.* **2019**, *135*, 46–59.
- [33] A. W. Boots, G. R. M. M. Haenen, A. Bast, *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *585*, 325–337.

- [34] H. N. Liu, Y. Liu, L. L. Hu, Y. L. Suo, L. Zhang, F. Jin, X. A. Feng, N. Teng, Y. Li, *Poult. Sci.* **2014**, *93*, 347–353.
- [35] R. Sotler, B. Poljšak, R. Dahmane, T. Jukić, D. Pavan Jukić, C. Rotim, P. Trebše, A. Starc, *Acta Clin. Croat* **2019**, *58*, 726–736.
- [36] C. Andreini, I. Bertini, G. Cavallaro, G. L. Holliday, J. M. Thornton, *J. Bio. Inorg. Chem.* **2008**, *13*, 1205–1218.
- [37] J. Palion-Gazda, A. Kwiecień, K. Choroba, M. Penkala, A. Kryczka, B. Machura, *Molecules* **2024**, *29*, 3074.
- [38] K. Senthilkumar, M. Pizzotti, K. Thirumoorthy, G. Di Carlo, S. Righetto, A. Orbelli Biroli, M. Haukka, N. Palanisami, *J. Phys. Chem.* **2016**, *120*, 20277–20287.
- [39] J. T. Mo, Z. Wang, X. Y. Xu, F. Dieter, M. Pan, C. Y. Su, *Chem. Eng. J.* **2024**, *483*, 149343.
- [40] A. Del Guerso, S. Leroy, F. Fages, R. H. Schmehl, *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 359–366.
- [41] H. Ghanem, O. Khaoua, A. Ouahab, N. Benbellat, H. Haba, *Lett. Drug Des. Discovery* **2023**, *21*, 2644–2660.
- [42] H. Soukehal, O. Khaoua, S. Zeroual, N. Benbellat, A. Gouasmia, S. Golhen, *J. Mol. Struct.* **2024**, *1316*, 139039.
- [43] S. Belhouchat, S. Zeroual, N. Benbellat, O. Khaoua, S. Bouchekioua, R. Menacer, H. Chermette, *Chem. Select* **2024**, *9*, 202304155.
- [44] F. Guenfoud, O. Khaoua, Z. Cherak, L. Loucif, W. Boussebaa, N. Benbellat, M. Laabassi, P. Mosset, *J. Mol. Struct.* **2024**, *1300*, 137293.
- [45] T. Koopmans, *Physics* **1934**, *1*, 104–113.
- [46] A. Midoune, A. Messaoudi, *Comp. Rend. Chim.* **2020**, *23*, 143–158.
- [47] A. Midoune, A. Messaoudi, *Inorg. Chim. Acta* **2021**, *516*, 120151.
- [48] M. Q. Zhang, B. Wilkinson, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2007**, *18*, 478–488.
- [49] V. Cherezov, D. M. Rosenbaum, M. A. Hanson, S. G. F. Rasmussen, S. T. Foon, T. S. Kobilka, H. J. Choi, P. Kuhn, W. I. Weis, B. K. Kobilka, R. C. Stevens, *Science* **2007**, *318*, 1258–1265.
- [50] B. Trzaskowski, D. Latek, S. Yuan, U. Ghoshdastider, A. Debinski, S. Filipek, *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 1090–1109.
- [51] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1–13.
- [52] E. Węglarz-Tomczak, M. Talma, M. Giurg, H. V. Westerhoff, R. Janowski, A. Mucha, *Oncotarget* **2018**, *9*, 29365.
- [53] A. C. Rosa, D. Corsi, N. Cavi, N. Bruni, F. Dosio, *Molecules* **2021**, *26*, 1844.
- [54] R. Maurya, M. Namdeo, *Biochem. IntechOpen* **2022**, *4*, 336.
- [55] P. Mishra, P. Sharma, *Metab. Signa Def. Mech.* **2019**, *3*, 53–88.
- [56] P. Mondola, S. Damiano, A. Sasso, M. Santillo, *Front. Plant Physiol.* **2016**, *7*, 221914.
- [57] B. Hatai, S. K. Banerjee, *J. Pharmacogn. Phytochem.* **2019**, *8*, 1700–1706.
- [58] N. M. O'Boyle, A. L. Tenderholt, K. M. Langner, *J. Comput. Chem.* **2008**, *29*, 839–845.
- [59] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr, J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2019**.
- [60] E. Seifert, *J. Chem. Inf. Model.* **2014**, *54*, 1552.
- [61] P. Politzer, P. R. Laurence, K. Jayasuriya, *Environ. Health Perspect.* **1985**, *61*, 191–202.
- [62] M. A. Hermsmeier, T. M. Gund, *J. Mol. Graphics* **1989**, *7*, 150–152.
- [63] S. R. Gadre, I. H. Shrivastava, *J. Chem. Phys.* **1991**, *94*, 4384–4390.
- [64] O. Khaoua, S. Mouffouk, N. Benbellat, S. Zeroual, S. Golhen, A. Gouasmia, H. Chermette, H. Haba, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2024**, *27*, e202400033.
- [65] B. T. Ogunyemi, D. Felix Latona, A. A. Ayinde, I. A. Adejoro, *Advanced J. Chem. Sec A* **2019**, *2020*, 485–492.
- [66] O. Khaoua, N. Benbellat, S. Zeroual, S. Mouffouk, S. Golhen, A. Gouasmia, H. Chermette, H. Haba, *J. Mol. Struct.* **2023**, *1273*, 134331.
- [67] H. O. Pritchard, H. A. Skinner, *Chem. Rev.* **1955**, *55*, 745–786.
- [68] R. G. Parr, L. V. Szentpály, S. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1922–1924.
- [69] W. Bououden, Y. Benguerba, *J. Drug Delivery Ther.* **2020**, *10*, 68–74.
- [70] A. D. Udoikono, E. C. Agwamba, H. Louis, I. Benjamin, I. Ahmad, E. U. Ejiofor, E. F. Ahuekwe, K. Chukwuemeka, A. S. Adeyinka, H. M. Patel, A. L. Manicum, M. Edim, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2023**, *41*, 10136–10160.
- [71] F. Guenfoud, O. Khaoua, Z. Cherak, L. Loucif, W. Boussebaa, N. Benbellat, M. Laabassi, P. Mosset, *J. Mol. Struct.* **2024**, *1300*, 137293.
- [72] N. M. O'Boyle, M. Banck, C. A. James, C. Morley, T. Vandermeersch, G. R. Hutchison, *J. Cheminf.* **2011**, *3*, 1–14.
- [73] D. E. V. Pires, T. L. Blundell, D. B. Ascher, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 4066–4072.
- [74] M. N. Drwal, P. Banerjee, M. Dunkel, M. R. Wettig, R. Preissner, *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, W53–W58.
- [75] G. M. Morris, H. Ruth, W. Lindstrom, M. F. Sanner, R. K. Belew, D. S. Goodsell, A. J. Olson, *J. Comput. Chem.* **2009**, *30*, 2785–2791.
- [76] D. A. Case, H. M. Aktulga, K. Belfon, I. Y. Ben-Shalom, J. T. Berryman, S. R. Brozell, D. S. Cerutti, T. E. Cheatham III, G. A. Cisneros, V. W. D. Cruzeiro, T. A. Darden, R. E. Duke, G. Giambasu, M. K. Gilson, H. Gohlke, A. W. Goetz, R. Harris, S. Izadi, S. A. Izmailov, K. Kasavajhala, M. C. Kaymak, E. King, A. Kovalenko, T. Kurtzman, T. S. Lee, S. LeGrand, P. Li, C. Lin, J. Liu, T. Luchko, R. Luo, M. Machado, V. Man, K. M. Merz, Y. Miao, O. Mikhailovskii, G. Monard, H. Nguyen, K. A. O'Hearn, A. Onufriev, F. Pan, S. Pantano, R. Qi, A. Rahnamoun, D. R. Roe, A. Roitberg, C. Sagui, S. Schott-Verdugon, A. Shajan, J. Shen, C. L. Simmerling, N. R. Skrynnikov, J. Smith, R. C. Walker, J. Wang, H. Wei, R. M. Wolf, X. Wu, Y. Xiong, Y. Xue, D. M. York, S. Zhao, P. A. Kollman, Amber 22, University of California, San Francisco. **2022**.
- [77] D. A. Case, H. Metin Aktulga, K. Belfon, D. S. Cerutti, G. A. Cisneros, V. Wilian, D. Cruzeiro, N. Forouzes, T. J. Giese, A. W. Götz, H. Gohlke, A. S. Izadi, K. Kasavajhala, M. C. Kaymak, E. King, T. Kurtzman, T.-S. Lee, P. Li, J. Liu, T. Luchko, R. Luo, M. Manathunga, M. R. Machado, H. M. Nguyen, K. A. O'hearn, A. V. Onufriev, F. Pan, S. Pantano, R. Qi, A. Rahnamoun, A. Risheh, S. Schott-Verdugo, A. Shajan, J. Swails, J. Wang, H. Wei, X. Wu, Y. Wu, S. Zhang, S. Zhao, Q. Zhu, T. E. Cheatham, D. R. Roe, A. Roitberg, C. Simmerling, D. M. York, M. C. Nagan, K. M. Merz, *J. Chem. Info. Mod. ACS-Pub.* **2023**, *63*, 6191.
- [78] J. Wang, R. M. Wolf, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, D. A. Case, *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1157–1174.
- [79] W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, P. A. Kollman, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9620–9631.
- [80] J. A. Maier, C. Martinez, K. Kasavajhala, L. Wickstrom, K. E. Hauser, C. Simmerling, *J. Chem. Theory Comput.* **2015**, *11*, 3696–3713.
- [81] D. J. Price, C. L. Brooks, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 10096–10103.
- [82] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, M. L. Klein, *J. Chem. Phys.* **1983**, *79*, 926–935.
- [83] D. R. Roe, T. E. Cheatham, *J. Chem. Theory Comput.* **2013**, *9*, 3084–3095.
- [84] Y. A. Rodríguez, M. Gutiérrez, D. Ramírez, J. Alzate-Morales, C. C. Bernal, F. M. Güiza, A. R. Romero Bohórquez, *Chem. Biol. Drug Des.* **2016**, *88*, 498–510.
- [85] K. Mena-Ulecia, W. Tiznado, J. Caballero, *PLoS One* **2015**, *10*, e0142774.

Manuscript received: April 14, 2024

# *Résumé*

Cette étude présente une investigation théorique des propriétés structurales et biologiques de la quercétine et de deux de ses dérivés : la 3-méthoxyquercétine et l'isoquercétine. L'approche combine: des calculs DFT analysant les propriétés électroniques (réactivité, mécanismes d'action), étayés par des données expérimentales (RMN, UV-Vis) et évaluant l'impact des modifications structurales. Des simulations de docking moléculaire et de dynamique moléculaire ont été menées pour évaluer la stabilité des complexes protéine-ligand, et les interactions atomiques. Des prédictions physico-chimiques et pharmacocinétiques ont été réalisées via des serveurs web spécialisés.

La quercétine native présente une forte capacité donneuse / acceptrice d'électrons mais un profil toxicologique défavorable (risques cancérigène, immunotoxique). Elle cible les enzymes SOD et hAPN/CD13 (via les cartographies MESP), avec une affinité modérée à faible (évaluée par MM/GBSA).

La 3-méthoxyquercétine montre une affinité supérieure pour les cibles enzymatiques (hAPN/CD13, SOD) surpassant même le ligand de référence (Actinonine) et présente un profil toxicologique plus favorable.

L'isoquercétine cible également SOD/hAPN (via MESP), mais présente des risques toxiques significatifs (mutagénicité au test AMES, inhibition du canal hERG potentiellement cardiotoxique). Elle offre une stabilité accrue mais une perméabilité réduite (déviation des critères de Lipinski).

Les résultats valident le potentiel thérapeutique de ces composés contre le cancer et les maladies liées au stress oxydatif. La 3-méthoxyquercétine se distingue comme la candidate optimale, combinant une haute affinité pour les cibles, un profil de sécurité amélioré des propriétés électroniques prometteuses justifiant un développement ultérieur.

## **Mots-clés**

Quercétine, 3-méthoxyquercétine, isoquercétine, DFT , Dynamique moléculaire, Stress oxydatif

# *Abstract*

This study presents a theoretical investigation of the structural and biological properties of quercetin and two of its derivatives: 3-methoxyquercetin and isoquercetin. The approach combines: DFT calculations analyzing electronic properties (reactivity, action mechanisms), supported by experimental data (NMR, UV-Vis), and evaluating the impact of structural modifications. Molecular docking and molecular dynamics simulations to assess protein-ligand complex stability and atomic-level interactions. Physicochemical and pharmacokinetic predictions using specialized web servers.

Native quercetin exhibits strong electron donor/acceptor capability but an unfavorable toxicological profile (carcinogenic and immunotoxic risks). It targets SOD and hAPN/CD13 enzymes (via MESP mapping), with moderate-to-low binding affinity (MM/GBSA evaluation).

3-methoxyquercetin demonstrates superior affinity for enzymatic targets (hAPN/CD13, SOD), outperforming the reference ligand (Actinonine), and displays a more favorable toxicological profile.

Isoquercetin also targets SOD/hAPN (via MESP) but shows significant toxic risks (AMES test mutagenicity, potentially cardiotoxic hERG channel inhibition). It offers enhanced stability but reduced permeability (deviation from Lipinski's rules).

The results validate the therapeutic potential of these compounds against cancer and oxidative stress-related diseases. 3-methoxyquercetin emerges as the optimal candidate, combining high target affinity, an improved safety profile, and promising electronic properties, warranting further development.

## **Keywords**

Quercetin, 3-O-methylquercetin, Isoquercetin, DFT, Molecular Dynamics, Oxidative Stress

## ملخص

تقدم هذه الدراسة تحليلاً نظرياً للخصائص التركيبية والبيولوجية لمركب الكيرسيتين ومشتقيه: 3-ميثيل كيرسيتين والايروكيرسيتين. اعتمد المنهج على: نظرية الكثافة الوظيفية DFT لتحليل الخصائص الإلكترونية (النشاط الكيميائي، آليات العمل)، مدعمة ببيانات تجريبية (الرنين المغناطيسي النووي RMN، مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية UV-Vis) وتقييم أثر التعديلات التركيبية، محاكاة الالتصاق الجزيئي والديناميكا الجزيئية لتقييم استقرار معقدات البروتين-الليجاند والتفاعلات الذرية و كذا تنبؤات فيزيوكيميائية وصيدلانية حركية باستخدام منصات ويب متخصصة.

أظهر الكيرسيتين الأصلي قدرة عالية على فقدان/اكتساب الإلكترونات، لكنه اتسم بملف سمي غير مرغوب (مخاطر مسرطنة ومناعية سامة). يستهدف إنزيمات (SOD و hAPN/CD13) عبر خرائط الجهد الكهروستاتيكي الجزيئي (MESP)، مع ألفة ارتباط متوسطة إلى ضعيفة (حسب تقييم MM/GBSA).

تفوق 3-ميثيل كيرسيتين بألفة ارتباط أعلى للإنزيمات المستهدفة (SOD ، hAPN/CD13) متجاوزاً الليجاند المرجعي (أكتينون (Actinonine) ، مع ملف سمي أكثر أماناً.

يستهدف الأيزوكيرسيتين إنزيمات (SOD/hAPN) عبر (MESP)، لكنه يحمل مخاطر سمية كبيرة (إمكانية إحداث الطفرات اختبار AMES، تثبيط قنوات hERG المسببة لسمية قلبية محتملة). يتميز بثباتية أعلى لكن نفاذية أقل (انحراف عن معايير Lipinski)

تؤكد النتائج على الإمكانات العلاجية لهذه المركبات في مكافحة السرطان وأمراض الإجهاد التأكسدي. يبرز 3-ميثيل كيرسيتين كمرشح أمثل، جامعاً بين: ألفة ارتباط عالية مع الأهداف، ملف أمان محسّن خصائص إلكترونية واعدة ما يبرر تطويره في دراسات لاحقة.

### الكلمات المفتاحية

كيرسيتين، 3-ميثيل كيرسيتين، ايزوكيرسيتين، DFT، ديناميكا جزيئية، إجهاد تأكسدي