



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي
Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Intitulé :

**Etude *in silico* des interactions de quelques antioxydants
avec le globule rouge humain**

Présenté par :

Zouaoui Wassim

Soutenu le .../.../2025, Devant le Jury :

Président : Mme. BENOUDAH Zohra

MCB

Université de B.B.A.

Encadreur : M. BELLIK Yuva

Professeur

Université de B.B.A.

Examineur : Mme. BOUMAIZA Souad

MAA

Université de B.B.A.

Année universitaire 2024-2025

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier **ALLAH** le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la santé, la persévérance et l'énergie nécessaire pour accomplir ce travail.

Je tiens à remercier Mme. BENOUADAH Zohra qui m'a fait l'honneur de présider le jury de cette soutenance.

Je remercie également Mme. BOUMAIZA Souad qui a pris le temps d'examiner ce travail et de participer au jury de ce travail.

Je tiens tout particulièrement à exprimer ma gratitude à mon encadreur M. BELLIK Yuva pour avoir accepté d'assurer la direction de ce travail et pour son soutien et ses conseils précieux.

Je souhaite également exprimer ma gratitude envers tous mes professeurs de licence et de master de la Faculté des Sciences de la Nature et de Vie, qui grâce à leurs compétences, m'ont grandement aidé à l'accomplissement de mes études.

Enfin, je tiens à remercier ma famille et mes amis pour leur soutien constant tout au long de mon parcours universitaire.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mon **père** exceptionnel et à ma très aimée **mère**, qui voient en moi la source de leur fierté.

Que Dieu vous garde et que le succès soit toujours à ma portée afin que je puisse vous apporter du bonheur.

Je souhaite un avenir lumineux et prospère à mon frère Abdmouine ainsi qu'à mes sœurs Rana et Aya.

À mes amis et collègues, à toutes les personnes qui me sont importantes, celles qui m'ont constamment soutenu et encouragé, qui ont été présentes à mes côtés tout au long de mon parcours académique.

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations.....	
Liste des figures	
Liste des tableaux.....	
I. Introduction	1
Stress oxydatif et approches in silico	3
II. Les radicaux libres et le stress oxydant.....	3
II.1.1. Sensibilité des globules rouges au stress oxydatif	4
III. Docking moléculaire.....	5
III.1. Définition	5
III.2. Phases du docking.....	5
III.2.1. Identification des structures	5
III.2.2. Préparation des structures	5
III.2.3. Réalisation du docking moléculaire	6
III.2.4. Prédiction et analyse.....	6
III.3. AutoDock.....	7
I. Etude <i>in silico</i> des interactions entre les antioxydants et les protéines des globules rouges	8
I.1. Interactions entre les antioxydants et l'hémoglobine	9
I.1.1. Interaction avec la vitamine C.....	10
I.1.2. Interaction avec l'acide gallique	11
I.1.3. Interaction avec la quercétine	12
I.1.4. Interaction avec le butylhydroxytoluène (BHT).....	13
I.1.5. Interaction avec le butylhydroxyanisole (BHA).....	15
I.2. Interactions entre les antioxydants et la spectrine	17
Interaction avec la vitamine C.....	19
Interaction avec la quercétine	19
Interaction avec l'acide gallique	19
Interaction avec le BHT	20
Interaction avec le BHA.....	20
Interaction des antioxydants avec la bande 3	21
Interaction avec la vitamine C.....	23
Interaction avec l'acide gallique	23
Interaction avec la quercétine	23
Interaction avec le BHT	24
Interaction avec le BHA.....	24
Interaction des antioxydants avec l'anhydrine	25
Interaction avec la vitamine C.....	27
Interaction avec l'acide gallique	27
Interaction avec la quercétine	27
Interaction avec le BHA.....	28

Interaction avec le BHT	28
Conclusion.....	29
Reference bibliographies	31
Annexes.....	34
Résumé	48

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
AMBER	Modèles assistés avec raffinement énergétique
Asn	Asparagine (acide aminé)
Asp	Acide aspartique (aspartate, acide aminé)
AutoDock	Automated Docking (logiciel de docking moléculaire)
BBD	Logiciel de modélisation moléculaire (Biovia Biovia Discovery)
BHA	Acide bêta-hydroxylé (Butylated Hydroxyanisole)
BHT	Butylhydroxytoluène (Butylated Hydroxytoluene)
Cys	Cystéine (acide aminé)
ERA	Espèces Réactives de l'Azote
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
Glu	Acide glutamique (glutamate, acide aminé)
GPx	Glutathione Peroxydase
GSH	Glutathion
Hb	Hémoglobine
His	Histidine (acide aminé)
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
Keq	Constante d'équilibre
Leu	Leucine (acide aminé)
LGA	Algorithme Génétique Lamarckien (Lamarckian Genetic Algorithm)
Lys	Lysine (acide aminé)
metHb	Méthémoglobine
NO•	Monoxyde d'azote
O₂	Dioxygène
O₂•⁻	Anion superoxyde
ONOO⁻	Peroxynitrite
•OH	Radical hydroxyle
PDB	Banque de données sur les protéines (Protein Data Bank)
PubChem	Base de données de chimie ouverte (Public Chemical Database)
PyMOL	Logiciel de visualisation de structures chimiques en 3D (Python Molecular Graphics Tool)
R	Constante des gaz parfaits
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire

RMSD	Écart Quadratique Moyen (Root-Mean-Square Deviation)
Ser	Sérine (acide aminé)
SOD	Superoxyde Dismutase
Tyr	Tyrosine (acide aminé)
Val	Valine (acide aminé)
π-σ	Interaction entre un cycle aromatique et un atome lié par liaison sigma
π-alkyle	Interaction entre un cycle aromatique et un groupe alkyle
π-anion	Interaction entre un cycle aromatique et un ion négatif
π-cation	Interaction entre un cycle aromatique et un ion positif
π-π en T	Interaction entre deux cycles aromatiques en forme de T
2D	Visualisation bidimensionnelle
3D	Visualisation tridimensionnelle
8-oxoG / 8-oxo-dG	8-oxo-7,8-dihydroguanine (base oxydée de l'ADN)
ΔG	Énergie libre de Gibbs
ΔGL	Énergie libre de liaison

Liste des figures

Figures	Titre	Page
Figure 1	Complexe de jonction membranaire du globule rouge: interactions entre les protéines transmembranaires et le cytosquelette	8
Figure 2	Visualisation en 2D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine et la vitamine C en absence du H ₂ O ₂ .	10
Figure 3	Représentation en 3D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine et la vitamine C en présence du H ₂ O ₂ .	10
Figure 4	Visualisation en 2D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine et l'acide gallique en absence du H ₂ O ₂ .	11
Figure 5	Représentation en 3D des interactions moléculaires entre l'acide gallique et l'hémoglobine en présence du H ₂ O ₂	11
Figure 6	Visualisation en 2D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine et la quercétine en absence du H ₂ O ₂ .	13
Figure 7	Représentation en 3D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine, la quercétine et le H ₂ O ₂ .	13
Figure 8	Visualisation en 2D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine et le BHT en absence du H ₂ O ₂ .	14
Figure 9	Représentation en 3D des interactions moléculaires entre le BHT et l'hémoglobine en présence du H ₂ O ₂	15
Figure 10	Visualisation en 2D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine et le BHA en absence du H ₂ O ₂ .	15
Figure 11	Représentation en 3D des interactions moléculaires entre le BHA, l'hémoglobine en présence du H ₂ O ₂ .	16
Figure 12	Représentation en 2D des interactions moléculaires entre la vitamine C et la spectrine en absence du H ₂ O ₂ .	19
Figure 13	Représentation en 3D des interactions moléculaires entre la vitamine C et la spectrine en présence du H ₂ O ₂ .	19
Figure 14	Représentation en 2D des interactions moléculaires entre la quercétine et la spectrine en absence du H ₂ O ₂ .	19
Figure 15	Représentation en 3D des interactions moléculaires entre la quercétine et la spectrine en présence du H ₂ O ₂ .	19
Figure 16	Représentation en 2D des interactions moléculaires entre l'acide gallique et la spectrine en absence du H ₂ O ₂ .	19
Figure 17	Représentation en 3D des interactions moléculaires entre l'acide gallique et la spectrine en en présence du H ₂ O ₂ .	19
Figure 18	Représentation en 2D des interactions moléculaires entre le BHT et la spectrine en absence du H ₂ O ₂ .	20

Figure 19	Représentation en 3D des interactions moléculaires entre le BHT et la spectrine en présence du H ₂ O ₂ .	20
Figure 20	Représentation en 2D des interactions moléculaires entre le BHA et la spectrine en absence du H ₂ O ₂ .	20
Figure 21	Représentation en 3D des interactions moléculaires entre le BHA et la spectrine en présence du H ₂ O ₂ .	20
Figure 22	Schéma 2D montre l'interaction entre la vitamine c et la bande 3 en absence H ₂ O ₂ .	23
Figure 23	Représentation 3D de l'interaction entre la bande 3 et la vitamine c en la présence de H ₂ O ₂ .	23
Figure 24	Schéma 2D montre l'interaction entre l'acide gallique et la bande 3 en absence H ₂ O ₂ .	23
Figure 25	Représentation 3D de l'interaction entre la bande 3 et l'acide gallique en présence H ₂ O ₂ .	23
Figure 26	Schéma 2D montre l'interaction entre la quercitrine la bande 3 en absence H ₂ O ₂ .	23
Figure 27	Représentation 3D d'une interaction moléculaire entre la bande 3 et la quercétine en absence peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).	23
Figure 28	Schéma 2D montre l'interaction entre le BHT et la bande 3 en absence H ₂ O ₂ .	24
Figure 29	Représentation tridimensionnelle de l'interaction entre le BHT et la bande 3 en présence de H ₂ O ₂ .	24
Figure 30	Schéma 2D montre l'interaction entre le BHA et la bande 3 en absence H ₂ O ₂ .	24
Figure 31	représentation 3D de l'interaction entre la bande et le BHA en presence le H ₂ O ₂ .	24
Figure 32	Representation 2D de l'interaction entre la vitamine C et l'ankyrine en absence de H ₂ O ₂	27
Figure 32	Représentation de l'interaction entre la vitamine c et l'ankyrine en présence H ₂ O ₂ .	27
Figure 34	Représentation 2D de l'interaction entre la vitamine C et l'ankyrine en absence de H ₂ O ₂ .	27
Figure 35	Représentation tridimensionnelle de la réaction entre l'acide gallique et l'ankyrine.	27
Figure 36	Représentation 2D de l'interaction entre la quercétine et l'ankyrine en absence le H ₂ O ₂ .	27
Figure 37	Représentation de l'interaction entre la quercétine et l'ankyrine en présence le H ₂ O ₂ .	27
Figure 38	Représentation bidimensionnelle montrant les acides aminés du site actif de l'ankyrine formant des liaisons avec le BHA sans H ₂ O ₂ .	28

Figure 39	Représentation tridimensionnelle montrant les acides aminés du site actif de l'ankyrine formant des liaisons avec le BHA en présence le H_2O_2 .	28
Figure 40	Représentation bidimensionnelle montrant les acides aminés du site actif de l'ankyrine formant des liaisons avec le BHT sans H_2O_2 .	28
Figure 41	Représentation tridimensionnelle montrant les acides aminés du site actif de l'ankyrine formant des liaisons avec le BHT en présence le H_2O_2 .	28

Liste des tableaux

Tableau	Titre du tableau	Page
Tableau 1	Énergies de liaison (kcal/mol) entre l'hémoglobine et les différents antioxydants en absence et en présence du H ₂ O ₂	9
Tableau 2	Énergies de liaison (kcal/mol) entre la spectrine et les différents antioxydants en absence et en présence du H ₂ O ₂ .	17
Tableau 3	Énergies de liaison (kcal/mol) entre la protéine bande 3 et les différents antioxydants en absence et en présence du H ₂ O ₂ .	21
Tableau 4	Énergies de liaison (kcal/mol) entre la protéine ankyrine et les différents antioxydants en absence et en présence du H ₂ O ₂ .	25

I. Introduction

Les globules rouges sont des cellules hautement spécialisées dans le transport de l'oxygène à partir des poumons au reste du corps (**Girasole et al, 2012**). Leur durée de vie est de 120 jours, au cours desquels ils effectuent un déplacement de près de 500 km dans la microcirculation. Ces cellules présentent de nombreuses propriétés attribuables aux lipides et aux protéines de la membrane. De plus, le cytosquelette comprend plusieurs protéines dont la spectrine, l'ankyrine et l'actine (**Bennett et Baines, 2001**).

Dans la plupart des cellules, les mitochondries sont la principale source des radicaux libres (**Johnson et al, 2005**). Malgré l'absence de mitochondries dans les globules rouges, les radicaux libres sont produits en continu en raison de la teneur élevée en O₂ dans le sang artériel, ainsi que la présence abondante de fer héminique (**Baynes, 2005**). En effet, l'hémoglobine (Hb) est considérée comme l'une des principales sources de production des radicaux libres au sein des érythrocytes en raison de son autooxydation spontanée qui produit l'O₂[•] et la méthémoglobine (metHb). Cette protéine devient incapable de lier ou de transporter l'O₂ (**Johnson et al, 2005**). Par ailleurs, la richesse de la membrane cellulaire en acides gras polyinsaturés la rend une cible privilégiée à l'attaque par les radicaux oxydants ce qui peut entraîner la perte de l'intégrité membranaire et la mort cellulaire (**Baynes, 2005**). Bien que le stress oxydatif puisse endommager les globules rouges elles-mêmes, l'effet de masse des grandes quantités de radicaux libres qui quittent les globules ont un énorme potentiel d'endommager d'autres composants de la circulation (**Johnson et al, 2005**).

Ces dernières années, les avancées technologiques fulgurantes ont révolutionné le secteur de la biologie et de la biotechnologie permettant une exploration détaillée des organismes au niveau moléculaire. L'utilisation des méthodes de docking moléculaire (l'amarrage moléculaire) a rendu possible l'analyse et la compréhension des interactions moléculaires, y compris celles entre les antioxydants et les différentes protéines de l'organisme (**Gonzales et al. 2023 ; Zhang et al. 2025**). Plusieurs études de simulation *in silico* ont souligné l'importance d'identifier le mécanisme de liaison pour une meilleure compréhension des interactions moléculaires. Cela repose essentiellement sur une connaissance approfondie des forces physiques mis en jeu dans les interactions et une évaluation de la façon dont ces forces contribuent au processus global de réaction (**Ajay & Murcko, 1995**). L'amarrage moléculaire prédit comment un ligand se lie à une protéine dont la structure est connue. Il examine efficacement l'espace de grande dimension et utilise des fonctions de notation pour évaluer les conformations. Il facilite le criblage virtuel d'un grand nombre de composés et aide à développer des hypothèses concernant l'inhibition de

la cible (**Morris & Lim-Wilby, 2008a**). L'amarrage moléculaire a de nombreuses applications dans la découverte de médicaments, notamment les études structure-activité, l'optimisation des composés, la recherche de nouveaux candidats grâce au criblage virtuel, le développement d'hypothèses de sites de liaison pour faciliter les prédictions dans les études de mutation, la cristallographie aux rayons X pour ajuster la densité électronique des substrats et des inhibiteurs, ainsi que la chimie et l'analyse de l'ADN (**Morris & Lim-Wilby, 2008a**).

Dans le présent travail, nous nous sommes proposés d'étudier par modélisation et simulation moléculaire les interactions possibles entre quelques antioxydants de référence et les protéines fonctionnelles des globules rouges. Nous avons choisi comme cible l'hémoglobine, la spectrine, l'ankyrine, ainsi que la protéine bande 3. Les ligands (quercétine, acide gallique, vitamine C, BHT, et BHA) ont été sélectionnés en fonction de leur potentiel antioxydant, tel que rapporté et validé dans la littérature scientifique. Notre démarche consiste d'une part, à étudier ces interactions dans les conditions normales (absence d'oxydant), et d'autre part, l'étude de ces mêmes interactions en présence d'un agent oxydant (peroxyde d'hydrogène).

Le but de cette étude prospective est de mesurer l'affinité de liaison et la stabilité des complexes formés entre les antioxydants et leurs cibles intraérythrocytaires en utilisant AutoDock.

Stress oxydatif et approches in silico

II. Les radicaux libres et le stress oxydant

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERA) proviennent de sources endogènes variées. La chaîne respiratoire mitochondriale produit de faibles quantités d'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$, 2-4 % de l' O_2 consommé) lors des transferts d'électrons, et les cellules phagocytaires activées libèrent du superoxyde via la NADPH-oxydase (l'explosion oxydative) au cours de l'inflammation (**Favier, 2003**).

Par ailleurs, le monoxyde d'azote ($NO\cdot$) généré par les NO-synthases réagit localement avec le superoxyde pour former du peroxynitrite ($ONOO^-$), espèce très réactive et dommageable (**Ouznadji, 2020**). D'autres réactions chimiques, comme les cycles redox des quinones ou l'action des métaux de transition libres (fer, cuivre) via la réaction de Fenton, engendrent des radicaux hydroxyles ($\cdot OH$) à partir du H_2O_2 et les métaux toxiques (**Charrier & Anastasio, 2015**). Ces radicaux libres, extrêmement réactifs en raison de leur électron non apparié, initient des réactions en chaîne (la peroxydation lipidique). Dans les conditions du stress oxydatif, ces ERO/ERA provoquent des lésions multiples : les lipides membranaires subissent une peroxydation (formation de composés cytotoxiques comme le malonaldéhyde), l'ADN accumule des bases oxydées (notamment la 8-oxo-7,8-dihydroguanine) et des cassures de brins, tandis que les protéines voient leurs résidus sulfurés et aromatiques oxydés (pontage de cystéines, apparition de groupes carbonyles), compromettant leur fonction enzymatique (**Valavanidis et al., 2009**). Ces dommages moléculaires, établis par de nombreuses études expérimentales, contribuent au vieillissement cellulaire et à diverses pathologies (cancers, maladies neurodégénératives, cardiovasculaires, etc.) (**Valavanidis et al., 2009; Vona et al., 2021**).

Pour se défendre, la cellule possède des mécanismes antioxydants complémentaires. Des enzymes telles que le superoxyde dismutase (SOD) qui catalysent la dismutation de l' $O_2^{\cdot-}$ en H_2O_2 . La catalase, abondante dans les peroxysomes, décompose rapidement deux molécules de H_2O_2 en deux molécules d'eau et O_2 . La glutathion peroxydase (GPx, à base de sélénocystéine) qui réduit simultanément les hydroperoxydes lipidiques en alcools et le H_2O_2 en eau en oxydant le glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé. Ces trois systèmes (SOD, catalase, GPx) agissent en synergie pour maintenir l'homéostasie redox (**Jomova et al., 2023**). D'autres systèmes de défense non enzymatiques tels que le glutathion qui joue un rôle central de cofacteur de la glutathion peroxydase (GPx), il neutralise directement certains radicaux libres et recycle d'autres antioxydants. Les antioxydants diététiques renforcent cette protection, en particulier, la vitamine

E (α -tocophérol) qui est un antioxydant lipidique majeur capable d'interrompre la chaîne de peroxydation membranaire alors que la vitamine C régénère la vitamine E oxydée.

Les caroténoïdes et les polyphénols (flavonoïdes, acides phénoliques, ...) issus de fruits et légumes captent électroniquement les radicaux organiques (**Vona et al., 2021**). Par ailleurs, des systèmes de chélation (transferrine, ferritine, métallothionéines) limitent la disponibilité du fer et du cuivre libres, réduisant la production de radicaux $\cdot\text{OH}$ par la réaction de Fenton et d'Haber-Weiss.

Le **BHA** (butylhydroxyanisole) et le **BHT** (butylhydroxytoluène) sont des antioxydants chimiques fréquemment employés dans les secteurs de l'alimentation, de la cosmétique et de la pharmacie afin d'éviter l'oxydation des graisses et d'étendre la durée de vie des produits. Le **BHA** est un antioxydant utilisé depuis de nombreuses années pour maintenir et stabiliser la fraîcheur, les propriétés nutritives, le goût et la teinte des produits alimentaires ainsi que des aliments pour animaux. Le **BHT**, quant à lui, joue un rôle de protection des aliments ; il contribue également à la stabilité des produits pharmaceutiques, des vitamines liposolubles et des produits cosmétiques. On l'utilise aussi pour augmenter la longévité de matériaux comme le caoutchouc, les élastomères et les plastiques, ce qui peut expliquer sa présence en tant qu'additif indirect dans les produits alimentaires (**Williams et al., 1999**).

II.1.1. Sensibilité des globules rouges au stress oxydatif

Les globules rouges (érythrocytes) sont particulièrement exposés au stress oxydatif. Chargés en hémoglobine pour le transport de l'oxygène, cette protéine génère par auto-oxydation des superoxydes en permanence qui se transforment en H_2O_2 (**Möller et al., 2022**). De plus, privés de noyau et de mitochondries, les globules rouges ne peuvent pas synthétiser de nouveaux enzymes de défense ni activer de réponse transcriptionnelle au stress oxydant (Möller et al., 2022)

Les globules rouges reposent sur un système antioxydant préexistant, ils contiennent des niveaux élevés de glutathion réduit et des enzymes telles que la catalase, la GPx et la peroxiredoxine-2 pour éliminer le H_2O_2 et peroxydes lipidiques (**Melo et al., 2023**). L'action combinée de ces défenses empêche l'accumulation d'hémoglobine oxydée et limite l'oxydation de la membrane, ce qui permet aux globules rouges de circuler jusqu'à 120 jours. Sans ces mécanismes, les érythrocytes subiraient rapidement des dommages irréversibles (dégradation de la membrane et hémolyse) (**Möller et al., 2022 ; Melo et al., 2023**).

III. Docking moléculaire

III.1. Définition

Le docking moléculaire *in silico* est une méthode de bio-informatique employée pour anticiper la structure d'un complexe intermoléculaire résultant de l'association entre au moins deux molécules. C'est une technique très facile, peu coûteuse et rapide. L'intérêt du docking moléculaire est de comprendre la façon dont plusieurs molécules interagissent afin d'identifier des positions et des conformations favorables à l'association d'un ligand à un récepteur (**Corbeil et al., 2007**). Ainsi, les outils du docking jouent un rôle crucial en biologie, pharmacie et médecine, étant donné que la majorité des principes actifs sont des ligands de petite dimension qui interagissent avec une protéine cible d'importance thérapeutique (récepteur) dans le but d'influer sur les processus relatifs à cette protéine (**Taylor et al., 2002**).

III.2. Phases du docking

L'application du processus de docking nécessite quatre phases essentielles pour réaliser l'interaction d'un ligand avec un récepteur (souvent de nature protéique).

III.2.1. Identification des structures

Cette première phase qui précède le docking moléculaire est effectuée afin d'identifier les structures moléculaires impliquées dans la formation du complexe (le récepteur et le ligand). Ces structures sont obtenues en utilisant trois techniques d'analyse (la résonance magnétique nucléaire (RMN), la microscopie électronique et la cristallographie aux rayons X). L'utilisation de ces méthodes expérimentales permet actuellement de définir la structure moléculaire des protéines (**Howard & Brown, 2001**). Il existe un répertoire mondial de dépôt d'informations sur la structure tridimensionnelle des protéines et des acides nucléiques appelée Protéine Data Bank (PDB) qui est accessible gratuitement en ligne (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Lorsque la cible n'est pas disponible au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée.

III.2.2. Préparation des structures

La mise en place du récepteur pour le docking ne peut être effectuée qu'après l'identification des structures concernées (**Bitencourt-Ferreira et al., 2019**). Il est essentiel d'identifier les sites de liaison potentiels lors de la préparation du récepteur qui sera utilisé dans le processus de docking.

III.2.3. Réalisation du docking moléculaire

La modélisation moléculaire, est une méthode qui établit l'orientation privilégiée d'une molécule (ligand) vis-à-vis d'une autre (récepteur) lors de leur union pour constituer un complexe stable (**Lengauer & Rarey, 1996**). Ensuite, une fonction de score permet d'évaluer ces conformations par un calcul rapide de leur énergie d'interaction avec ce récepteur.

Dans la présente étude, nous avons choisi AutoDock4.2 comme outil de modélisation. Cela offre une plateforme consolidée pour prévoir les interactions entre les protéines et les ligands. Ce programme offre également un contrôle total du processus de modélisation, y compris la conception moléculaire l'identification, des sites de liaison potentiels sur la protéine cible et la prévision des modes de liaison du ligand (**Morris *et al.*, 2009a**).

III.2.4. Prédiction et analyse

Le programme emploie un algorithme génétique lamarkien (LGA), qui combine un algorithme génétique global avec une optimisation locale. Les paramètres (position, orientation, torsions) du ligand par rapport le récepteur sont générés de manière aléatoire pour le développement des modes d'interactions possibles. Cette étape s'effectue comme suit :

- Un algorithme de docking permet de produire les modes de liaison pour divers ligands. Il est donc indispensable que l'algorithme d'une recherche conformationnelle puisse explorer de manière efficace et exhaustive l'espace conformationnel possible. La capacité d'un algorithme à localiser correctement le ligand par rapport à son récepteur est généralement évaluée en utilisant l'écart quadratique moyen (RMSD, Root-Mean-Square Deviation) du modèle généré par le logiciel en fonction des coordonnées cartésiennes (x pose, y pose, z pose) par rapport aux coordonnées de la structure du cristal (x cristal, y cristal, z cristal) (**Bell & Zhang, 2019**). L'équation suivante utilisée par AutoDock permet de calculer le RMSD :

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - x_i')^2 + (y_i - y_i')^2 + (z_i - z_i')^2}$$

Une différence maximale de deux angströms est tolérée, au-delà de laquelle la prédiction n'est plus jugée satisfaisante (**Morris *et al.*, 2009b**). Habituellement, les erreurs liées au Docking proviennent d'un échantillonnage défaillant ou d'une fonction de score inappropriée.

- Le score est une valeur quantitative servant à mesurer le degré de liaison entre un ligand et un récepteur. Il s'agit d'une évaluation de l'énergie libre liée à la transition de l'état indépendant de la protéine et du ligand vers leur union sous forme de complexe (**Kollman et al., 2000**). Le principe thermodynamique étant :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}}$$

L'affinité chimique peut être calculée par l'énergie libre de Gibbs ΔG_L à une température T (**Morris et al., 1998**).

$$\Delta G_L = -RT \ln K_{eq}$$

R est la constante des gaz parfaits.

K_{eq} est la constante d'équilibre.

- Les fonctions de score qui reposent sur un champ de force évaluent, à l'aide de la mécanique moléculaire, l'énergie d'interaction du complexe ainsi que l'énergie interne du ligand (**Simonson et al., 2002**). Autodock utilisent un champ de force moléculaire AMBER. Les équations de Van der Waals et électrostatiques sont fréquemment inclus dans les interactions entre un récepteur et un ligand (**Morris et al., 1998**).

Les logiciels les plus fréquemment utilisés sont : AutoDock, GOLD et DOCK.

III.3. AutoDock

Le logiciel AutoDock utilise l'algorithme génétique lamarckien (LGA) pour générer un ensemble de conformations possibles d'un complexe protéine-ligand (Morris et al., 1998). Sa notation est basée sur un modèle semi-empirique inspiré du champ de force AMBER, intégrant les forces de van der Waals, électrostatique et la solvation. Les performances d'AutoDock sont évalués sur des ensembles de complexes protéine-ligand avec des constantes d'affinité connues (Simonson et al., 2002).

I. Etude *in silico* des interactions entre les antioxydants et les protéines des globules rouges

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude par modélisation et simulation moléculaire des interactions protéine-ligand entre cinq antioxydants de référence (**la vitamine C** (54670067), **le BHA** (8456) , **le BHT** (31404), **la quercétine** (5280343)et **l'acide gallique** (341)) et les protéines du globule rouge humaine (**l'hémoglobine** (1hho), **l'ankyrine** (1n11), **la bande 3** (7tw6), et **la spectrine** (3lbx)).

La première étape a consisté à rechercher les structures tridimensionnelles des protéines membranaires cibles à partir de la base de données PDB et les structures moléculaires de quelques antioxydants standards à partir de la base de données des structures chimiques (Pubchem).

La deuxième étape a consisté à réaliser des simulations de Docking entre chaque antioxydant et protéine pour définir les sites de liaison possibles en absence et présence du H_2O_2 , puis comparer les énergies de liaison et mesurer l'efficacité de chaque composé à bloquer l'interaction entre la protéine et le H_2O_2 .

La dernière étape de ce processus consiste à visualiser et à analyser ces interactions moléculaires, à l'aide de deux logiciels (Biovia Discovery Studio et PyMOL), qui fournissent une représentation précise des sites de liaison, des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes. Ces outils ont permis d'identifier le site de liaison des antioxydants et leur rôle dans le maintien des protéines érythrocytaires notamment en présence d'agent oxydant (H_2O_2).

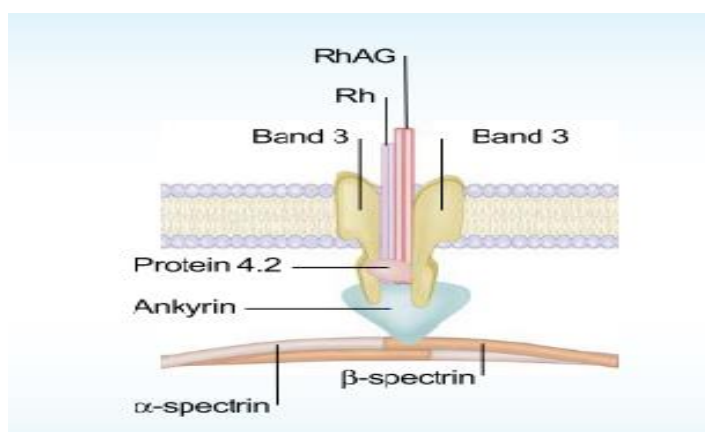


Figure 1 : Complexe de jonction membranaire du globule rouge: interactions entre les protéines transmembranaires et le cytosquelette

I.1. Interactions entre les antioxydants et l'hémoglobine

Dans le but d'examiner l'effet des différents antioxydants sur l'hémoglobine dans deux situations différentes (absence et présence du H_2O_2), le processus de docking moléculaire a été appliqué dans chaque situation. Le tableau ci-dessous résume les énergies de liaison obtenues pour chaque complexe formé.

Tableau 1 : Énergies de liaison (kcal/mol) entre l'hémoglobine et différents antioxydants en absence et en présence du H_2O_2 .

Complexe	Énergie de liaison (sans H_2O_2) kcal/mol	Coordonnées du centre de la grille (sans H_2O_2)	Énergie de liaison (avec H_2O_2) kcal/mol	Coordonnées du centre de la grille (avec H_2O_2)
Quercétine + hémoglobine	-6.74	x=23.807 y= 33.703, z= 11.177	-6.89	x= 23.809 y= 33.710 z= 11.175
BHT + hémoglobine	-6.47	x=23.807 y= 33.703, z= 11.177	-5.87	x= 23.809 y= 33.710 z= 11.175
BHA + hémoglobine	-5.45	x=23.807 y= 33.703, z= 11.177	-4.89	x= 23.809 y= 33.710 z= 11.175
Acide gallique+ hémoglobine	-4.25	x=23.807 y= 33.703, z= 11.177	-3.24	x= 23.809 y= 33.710 z= 11.175
Vitamine C +hémoglobine	-3.80	x = 23.807 Y =33.703 Z= 11.177	-3.89	x= 23.809 y= 33.710 z= 11.175
H_2O_2 + hémoglobine	-----	-----	-2.32	x=23.807 y= 33.703 z= 11.177

Le Tableau 1 présente les meilleures énergies de liaison obtenues avec AutoDock 4.2 pour chaque antioxydant interagissant avec l'hémoglobine, en l'absence et en présence de H_2O_2 . Globalement, les résultats révèlent que la quercétine affiche l'affinité de liaison la plus élevée dans les deux conditions, avec des énergies de -6,74 kcal/mol sans H_2O_2 et -6,89 kcal/mol avec H_2O_2 . À l'inverse, la vitamine C présente les plus faibles affinités, avec des valeurs de -3,80 kcal/mol (sans H_2O_2) et -3,89 kcal/mol (avec H_2O_2). Les antioxydants BHA et BHT montrent également une diminution modérée de leur affinité en présence de H_2O_2 . L'acide gallique, quant à lui, présente une baisse plus marquée de son énergie de liaison en présence du peroxyde d'hydrogène (-4,25 vs -3,24 kcal/mol). Ainsi, l'impact de H_2O_2 sur l'interaction ligand-protéine

varie selon les composés, mais la quercétine reste le ligand le plus stable quelle que soit la condition.

I.1.1. Interaction avec la vitamine C

L'arrimage du complexe hémoglobine-vitamine C a fourni les modes d'interaction illustrés dans la figure 1. Le complexe est stabilisé par des liaisons hydrophiles formées avec les résidus Cys B : 112, Asp A : 126, Asn B : 108, Leu B : 105, His A : 122, Lys A : 99.

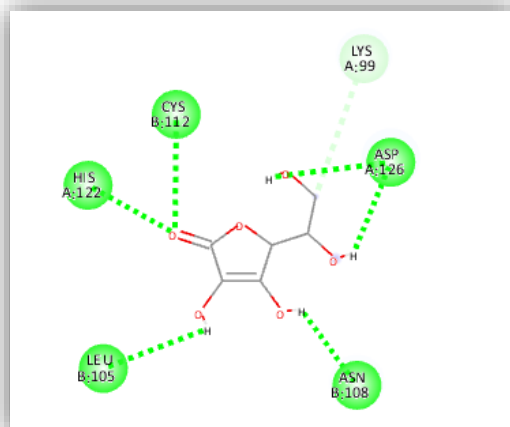


Figure 2 : Visualisation en 2D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine et la vitamine C en absence du H_2O_2 . (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

D'après les résultats du tableau 1, il existe une faible affinité entre la vitamine C et l'hémoglobine, établie principalement par des interactions de type hydrophile (**Fig. 01**).

En présence du H_2O_2 , la vitamine C maintient une partie de sa capacité à interagir avec l'hémoglobine comme le montre la figure 2. Le complexe est stabilisé par des liaisons hydrogène avec les résidus Asp 126, His 122 et Tyr 35. À ce stade, l'énergie de liaison, légèrement plus négative (-3,89 kcal/mol), indique une affinité légèrement supérieure dans un milieu oxydant.

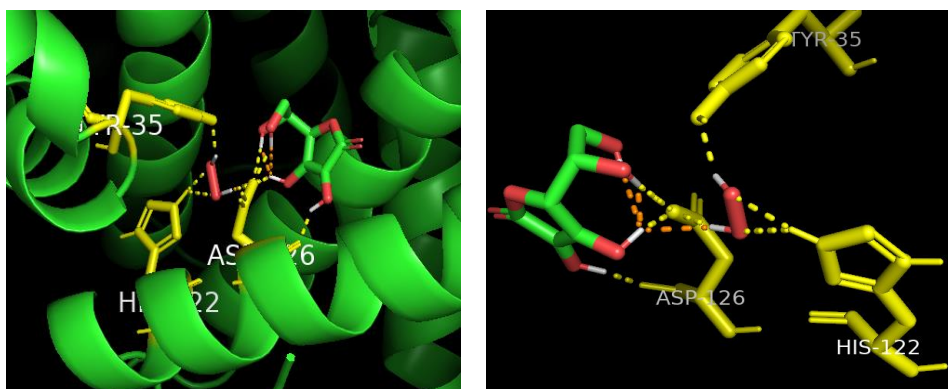


Figure 3 : Représentation en 3D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine et la vitamine C en présence du H₂O₂. (Origine par PyMOL)

I.1.2. Interaction avec l'acide gallique

Le complexe hémoglobine–acide gallique est stabilisé de manière modérée par des liaisons hydrogène avec certains résidus polaires de la protéine notamment Lys A:99, Ser A:102, Asn B:108, His A:103, Asp A:126, His A:122 et Cys B:112, révélant ainsi le caractère hydrophile de l'acide gallique (**Fig. 03**). L'énergie de liaison du complexe, mesurée en absence du H₂O₂, est de -4,25 kcal/mol. Cela indique clairement que l'affinité est plutôt faible en comparaison avec d'autres antioxydants comme la quercétine ou le BHT.

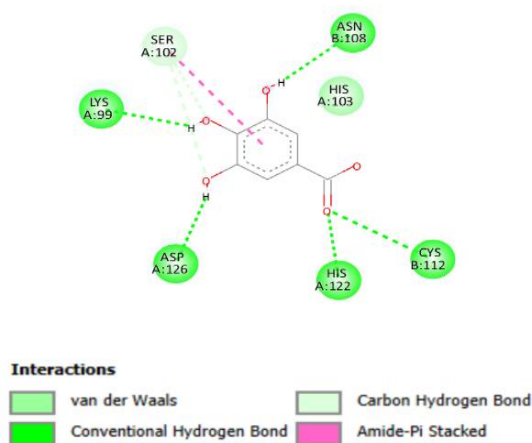


Figure 4 : Visualisation en 2D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine et l'acide gallique en absence du H₂O₂. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

D'après le tableau 1, l'interaction de l'acide gallique avec l'hémoglobine en présence du H₂O₂ a provoqué une réduction de l'énergie de liaison (-3,24 kcal/mol), suggérant ainsi que l'affinité entre le complexe hémoglobine-acide gallique est moins importante (**Fig. 04**).

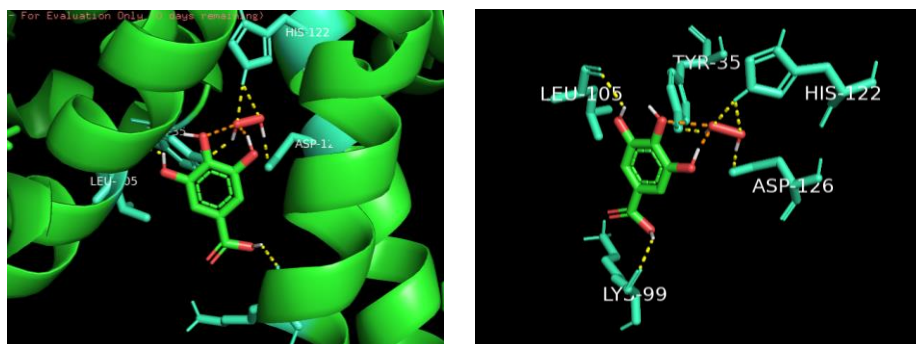


Figure 5 : Représentation en 3D des interactions moléculaires entre l'acide gallique et l'hémoglobine en présence du H₂O₂. (Origine par PyMOL)

Ces observations suggèrent que si l'acide gallique montre une certaine capacité à former un réseau de liaisons hydrogène dans des conditions normales, il est susceptible d'être affecté de manière significative en interagissant avec l'hémoglobine en présence du H_2O_2 . À l'inverse, la vitamine C semble susceptible de conserver au moins une partie de sa spécificité vis-à-vis des protéines dans un environnement oxydatif.

I.1.3. Interaction avec la quercétine

L'interaction hémoglobine-quercétine en absence du H_2O_2 indique une association de grande affinité, caractérisée par une énergie de -6,74 kcal/mol, c'est une interaction particulièrement stable. Cette stabilité est le résultat d'un mélange de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes (Wu et al., 2022).

Comme le montre la figure 05, de nombreuses liaisons hydrogène (en vert) se forment entre la quercétine et les résidus Glu B:101, Lys A:99, Asn B:108 et Asp A:126. Ces interactions hydrophiles s'ajoutent aux interactions hydrophobes spécifiques. On observe notamment des interactions π - σ et π -alkyle avec le résidu Lys A:99 (violet et rose), ainsi qu'une interaction π -anionique avec l'Asp A:126 (orange), qui renforcent l'ancrage de la molécule dans le domaine actif. Ces interactions hybrides à la fois hydrophiles et hydrophobes pourraient être à l'origine de l'affinité élevée constatée entre la quercétine et l'hémoglobine. En effet, sa composition flavonoïdique, riche en cycles aromatiques et en groupes hydroxyles, favorise l'apparition simultanée des liaisons hydrogène et des interactions de type π (Teixeira et al., 2017)

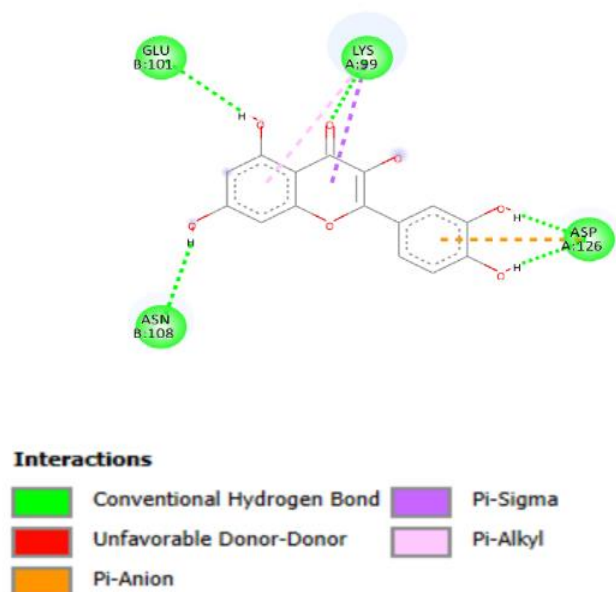


Figure 6 : Visualisation en 2D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine et la quercétine en absence du H_2O_2 . (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

La présence du H_2O_2 (**Fig. 06**) diminue encore plus l'énergie de liaison à -6,89 kcal/mol, indiquant l'établissement de liaison additionnelle (Tyr 35). Cette forte affinité peut être attribuée à la modification du réseau de liaisons de la quercétine avec les résidus de l'hémoglobine en présence d'agent oxydant. Ceci vient appuyer le rôle protecteur de la quercétine dans les conditions de stress oxydant.

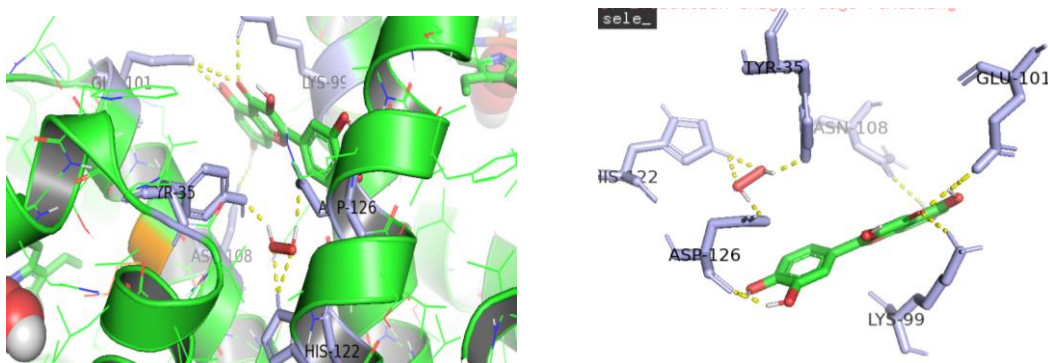


Figure 7: Représentation en 3D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine, la quercétine et le H_2O_2 . (Origine par PyMOL)

I.1.4. Interaction avec le butylhydroxytoluène (BHT)

L'interaction entre l'hémoglobine et le BHT a montré également une forte affinité de liaison, avec une énergie de -6,47 kcal/mol en absence du H_2O_2 . Elle résulte de la nature lipophile du BHT et des acides aminés présents dans le site actif de l'hémoglobine, qui favorise les interactions hydrophobes au niveau du site de liaison de l'hémoglobine.

La Figure 7 représente les divers types d'interactions qui stabilisent ce complexe. On remarque la présence d'une liaison hydrogène (indiquée en vert) avec le résidu Asn B:108, mais aussi différentes interactions de type π -alkyle (représentées en rose clair) avec les résidus LEU A:106, Leu A:129, His A:103, Cys B:112 et Lys A:99. En outre, une interaction empilée amide- π (illustrée en violet) avec la SER A:102 contribue à la stabilité du complexe. Cependant, il faut souligner la présence de chocs stériques négatifs (en rouge) impliquant des molécules d'eau (HOH A:154 et HOH B:165). Ces interactions, connues sous le nom de 'unfavorable bumps', pourraient diminuer, à une moindre mesure, la stabilité du complexe, bien qu'elles soient en partie contrebalancées par un grand nombre d'interactions hydrophobes.

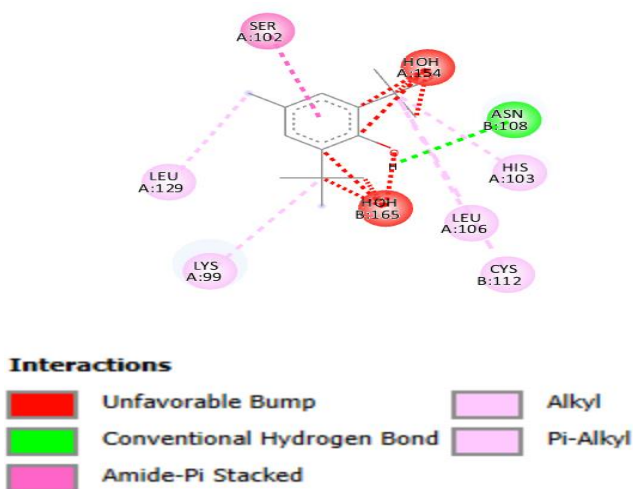


Figure 8 : Visualisation en 2D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine et le BHT en absence du H₂O₂. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

L'interaction entre le BHT et l'hémoglobine en présence du H₂O₂ indique des changements dans le réseau d'interaction en comparaison à la conformation observée en absence du H₂O₂. L'énergie de liaison évolue de -6,47 kcal/mol à -5,87 kcal/mol, signifiant une petite baisse d'affinité.

Le ligand BHT (indiqué en vert) se lie par une seule liaison hydrogène au résidu LYS-99 de l'hémoglobine (**Fig. 9**). Tandis que, la molécule du H₂O₂ (en rouge) forme trois liaisons hydrogène avec les résidus Asp-126, His-122 et Tyr-35 de l'hémoglobine, occupant ainsi une place dans le site de liaison.

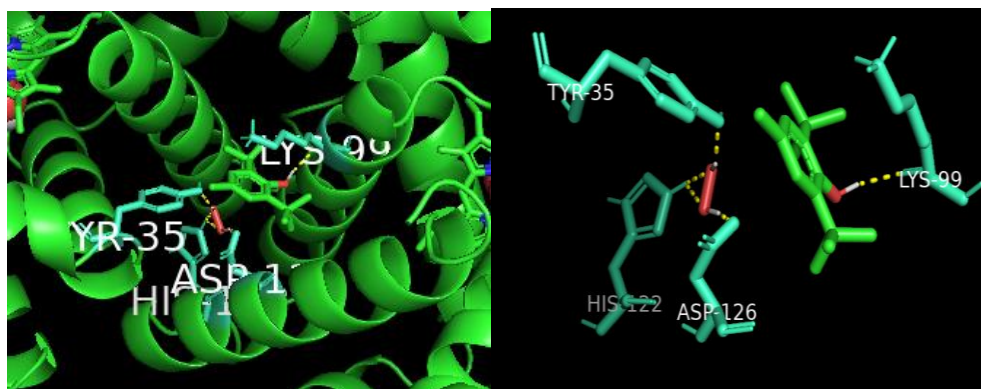


Figure 9 : Représentation en 3D des interactions moléculaires entre le BHT et l'hémoglobine en présence du H₂O₂. (Origine par PyMOL)

I.1.5. Interaction avec le butylhydroxyanisole (BHA)

En absence du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le complexe hémoglobine-BHA présente une énergie de liaison de -5,45 kcal/mol, il s'agit d'une liaison moyennement forte. Cette affinité découle d'un ensemble d'interactions stabilisantes, à la fois hydrophobes et électrostatiques.

La figure 10 met en évidence les principales interactions établies, une liaison hydrogène (en vert) est constatée entre le groupe hydroxyle du BHA et l'acide aminé Lys A:99. De plus, diverses interactions hydrophobes de type π -alkyle (en rose clair) sont établies avec les résidus Val B:109, His A:122 et Cys B:112, renforçant la stabilité grâce à un effet de « pi-stacking » latéral. Des interactions électrostatiques sont également formées : des liaisons π -cation avec l'His A:103 et des liaisons π -anion avec l'Asp A:126 (en orange), qui renforcent plus la fixation du BHA dans la cavité de liaison. Enfin, une interaction π - π en T (rose foncé) avec le résidu Tyr B:35 vient s'ajouter à ce réseau complexe, favorisant la stabilité tridimensionnelle du ligand dans l'espace de la cavité protéique.

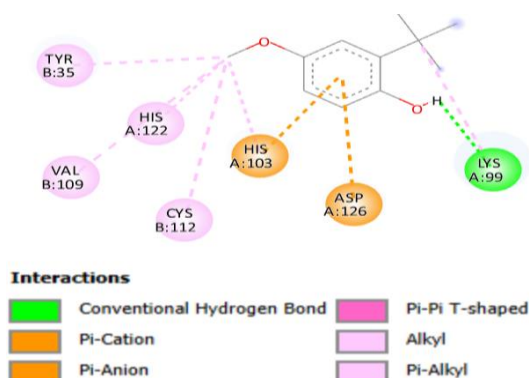


Figure 10 : Visualisation en 2D des interactions moléculaires entre l'hémoglobine et le BHA en absence du H₂O₂. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

En présence du H₂O₂, l'énergie de liaison du complexe hémoglobine-BHA passe de -5,45 kcal/mol à -4,89 kcal/mol, ce qui indique une diminution légère de l'affinité. Cette baisse est due

à une réorganisation locale du site actif de l'hémoglobine, provoquée par l'interaction du peroxyde d'hydrogène avec certains résidus.

La figure 11 indique que le ligand BHA reste en interaction par liaison hydrogène avec la Lys-99, conservant ainsi un certain point d'ancrage dans le site actif. Cependant, la zone autour du ligand est remplie par la molécule du H_2O_2 qui interagit intensément avec les résidus Tyr-35 et Asp-126, comme illustré par les liaisons hydrogène.

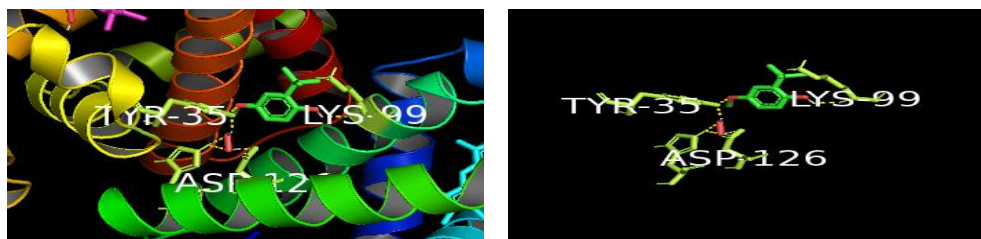


Figure 11 : Représentation en 3D des interactions moléculaires entre le BHA, l'hémoglobine en présence du H_2O_2 . (Origine par PyMOL)

I.2. Interactions entre les antioxydants et la spectrine

Les énergies de liaison obtenues entre la spectrine et les divers antioxydants, en absence et en présence du peroxyde d'hydrogène sont présentées dans le tableau 2. Ces valeurs ont été calculées à partir de simulations d'amarrage moléculaire.

Tableau 2 : Énergies de liaison (kcal/mol) entre la spectrine et les différents antioxydants en absence et en présence du H₂O₂.

Complexe	Énergie de liaison (sans H ₂ O ₂) kcal/mol	Coordonnées du centre de la grille (sans H ₂ O ₂)	Énergie de liaison (avec H ₂ O ₂) kcal/mol	Coordonnées du centre de la grille (avec H ₂ O ₂)
BHT + la spectrine	-3.52	x= -4.738 y= -27.392 z= -9.417	-3.34	x= -4.522 y= -27.041 z= -9.506
Acide gallique+ la spectrine	-3.38	x= -4.522 y= -27.041 z= -9.507	-3.39	x= -4.522 y= -27.041 z= -9.506
BHA + la spectrine	-3.13	x= -4.522 y= -27.041 z= -9.507	-3.09	x= -4.522 y= -27.041 z= -9.506
Vitamine C + la spectrine	-2.85	X= -4.738 y= -27.392, z= -9.417	-2.66	x= -4.522 y= -27.041 z= -9.506
Quercétine + la spectrine	-2.70	x= -4.522 y= -27.041 z= -9.507	-2.67	x= -4.522 y= -27.041 z= -9.506
H ₂ O ₂ + la spectrine	-----	-----	-2.46	x= -4.522 y= -27.041 z= -9.507

D'après le tableau 2, le BHT est l'antioxydant ayant la plus forte affinité avec la spectrine en absence du H₂O₂, avec une énergie de liaison de -3.52 kcal/mol, suivi par l'acide gallique (-3.38 kcal/mol) et le BHA (-3.13 kcal/mol). La vitamine C et la quercétine ont montré des affinités plus faibles.

Les énergies de liaison générée par autodock montrent que la spectrine présente des affinités variables pour les antioxydants étudiés. Les valeurs les plus négatives correspondent aux interactions les plus fortes. Ainsi, le BHT forme la liaison la plus stable (-3,52 kcal/mol en absence du H₂O₂), suivi de l'acide gallique (-3,38 kcal/mol), et du BHA (-3,13 kcal/mol). La vitamine C et la quercétine affichent des affinités faibles (-2,85 et -2,70 kcal/mol, respectivement). Le H₂O₂ seul se lie à la spectrine de façon beaucoup plus faible (-2,46 kcal/mol). Donc, la spectrine interagit préférentiellement avec les molécules les plus hydrophobes (BHT) tandis que la vitamine C plus polaire, forme des complexes moins stables (**Fig.11-20**).

En présence du H_2O_2 , la plupart des énergies de liaison des antioxydants diminuent ce qui correspond à une baisse de leur affinité, probablement, induite par la concurrence ou l'effet perturbateur du H_2O_2 sur les résidus de la protéine cible (spectrine). Le BHT passe de $-3,52$ à $-3,34$ kcal/mol alors que la vitamine C passe de $-2,85$ à $-2,66$ kcal/mol. Seule l'acide gallique conserve une énergie inchangée ($-3,38 \rightarrow -3,39$ kcal/mol). Des études ont mis en évidence, que le stress oxydatif, au sein des globules rouges drépanocytaires, affecte non seulement la structure membranaire, mais aussi les éléments protéiques du cytosquelette, notamment la spectrine, l'actine et la protéine 4.1. L'oxydation de la spectrine perturbe sa liaison à l'actine ou aux protéines qui relient la membrane et le cytosquelette comme la protéine 4.1. Cette perturbation de l'interaction entre la membrane et le cytosquelette compromet l'intégrité membranaire, augmentant ainsi sa susceptibilité à l'hémolyse (Q. Wang & Zennadi, 2021).

La spectrine est une grande protéine cytosquelettique hétérodimérique composée de deux sous-unités α et β . Elle joue un rôle crucial dans le maintien de la stabilité et de la structure de la membrane cellulaire et de la forme de la cellule. En outre, elle contribue à diverses fonctions cellulaires telles que l'adhésion cellulaire, l'aplatissement cellulaire et le cycle cellulaire. Les mutations de la spectrine conduisent à diverses maladies humaines telles que l'anémie hémolytique héréditaire, l'ataxie spinocérébelleuse de type 5, le cancer, ainsi que d'autres pathologies (Zhang *et al.*, 2013).

Interaction avec la vitamine C

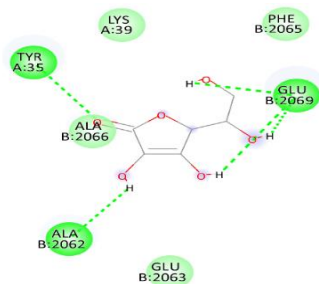


Figure 12: Représentation en 2D des interactions moléculaires entre la vitamine C et la spectrine en absence du H2O2. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

Interaction avec la quercétine

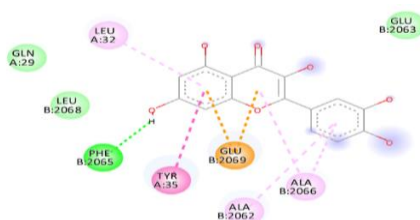


Figure 14 : Représentation en 2D des interactions moléculaires entre la quercétine et la spectrine en absence du H2O2. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

Interaction avec l'acide gallique

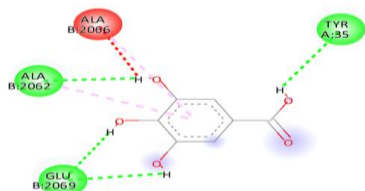


Figure 16 : Représentation en 2D des interactions moléculaires entre l'acide gallique et la spectrine en absence du H2O2. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

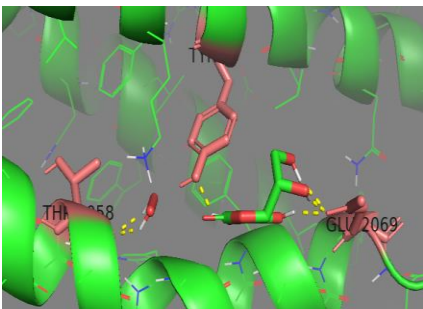


Figure 13: Représentation en 3D des interactions moléculaires entre la vitamine C et la spectrine en présence du H2O2. (Origine par PyMOL)

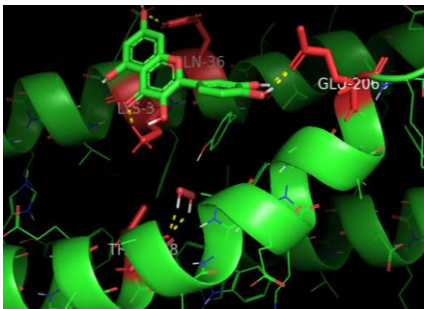
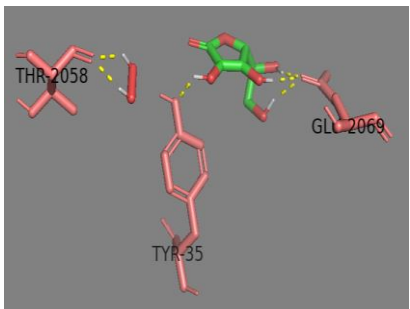


Figure 15 : Représentation en 3D des interactions moléculaires entre la quercétine et la spectrine en présence du H2O2. (Origine par PyMOL)

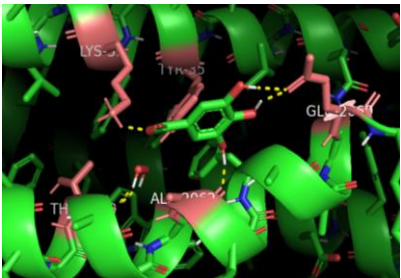
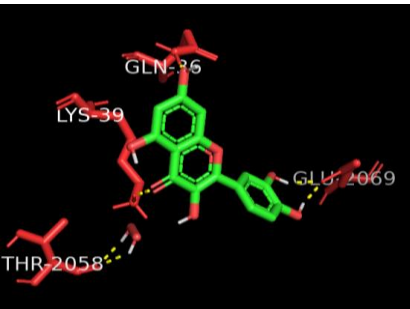


Figure 17: Représentation en 3D des interactions moléculaires entre l'acide gallique et la spectrine en en présence du H2O2. (Origine par PyMOL)

Interaction avec le BHT

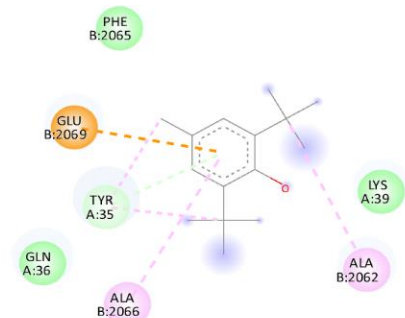


Figure 18 : Représentation en 2D des interactions moléculaires entre le BHT et la spectrine en absence du H2O2. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

Interaction avec le BHA

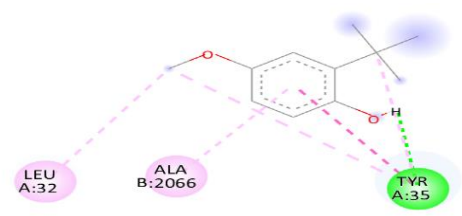


Figure 20: Représentation en 2D des interactions moléculaires entre le BHA et la spectrine en absence du H2O2. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

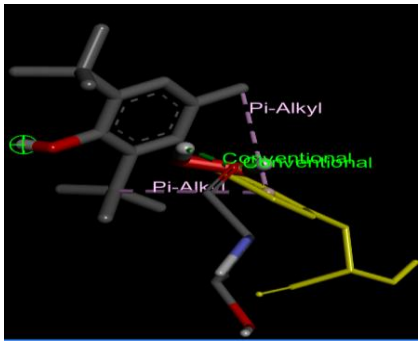
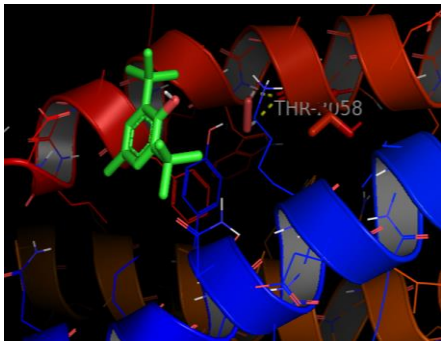


Figure 19: Représentation en 3D des interactions moléculaires entre le BHT et la spectrine en présence du H2O2. (Origine par PyMOL)

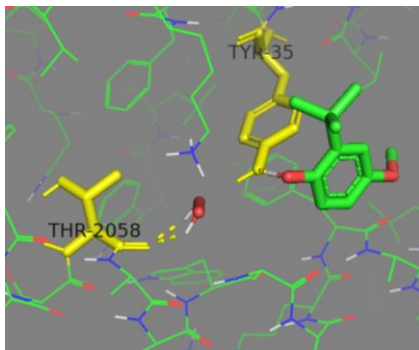
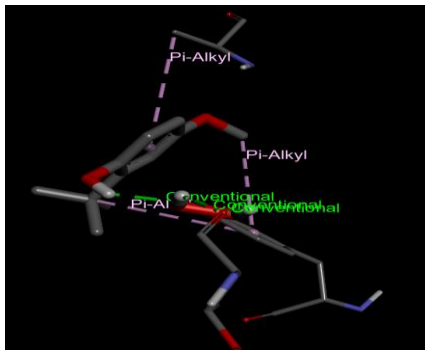


Figure 21: Représentation en 3D des interactions moléculaires entre le BHA et la spectrine en présence du H2O2. (Origine par PyMOL)

Interaction des antioxydants avec la bande 3

Les énergies de liaison obtenues de l'interaction entre la protéine bande 3 et les différents antioxydants, en absence et en présence du peroxyde d'hydrogène sont présentées dans le tableau 3. Ces valeurs ont été calculées à partir de simulations d'amarrage moléculaire.

Tableau 3 : Énergies de liaison (kcal/mol) entre la protéine bande 3 et les différents antioxydants en absence et en présence du H₂O₂.

Complexe	Énergie de liaison (sans H ₂ O ₂) kcal/mol	Coordonnées du centre de la grille (sans H ₂ O ₂)	Énergie de liaison (avec H ₂ O ₂) kcal/mol	Coordonnées du centre de la grille (avec H ₂ O ₂)
Acide gallique+ la bande 3	-6.33	X=179.147 y=182.031 z=165.311	-4.86	X=179.147 y=182.031 z=165.311
Quercétine + la bande 3	-5.46	X=179.147 y=182.031 z=165.311	-5.15	X=179.147 y=182.031 z=165.311
BHT + la bande 3	-5,13	X=179.147 y=182.031 z=165.311	-4.27	X=179.147 y=182.031 z=165.311
BHA + la bande 3	-4.02	X=179.147 y=182.031 z=165.311	-3.74	X=179.147 y=182.031 z=165.311
Vitamine C + la bande 3	-3.44	X=179.147 y=182.031 z=165.311	-2.83	X=179.147 y=182.031 z=165.311
H ₂ O ₂ + la bande 3	-----	-----	-3.06	X=179.147 y=182.031 z=165.311

Le H₂O₂ peut oxyder les chaînes latérales d'acides aminés. Les résidus de lysine peuvent subir une carbonylation (formation d'un groupe aldéhyde et d'acide aminodipique). Ces modifications induisent le changement de la géométrie et de la polarité des extrémités de la protéine. Par exemple, la transformation de la lysine ε-NH₂ en -CHO supprime sa charge positive et sa capacité à libérer un hydrogène (**Yin et al., 2019**). Les résidus de tyrosine peuvent être convertis en nitrotyrosine ou oxydés en dopaquinone, l'oxydation de la tyrosine (en quinone) perturbe la résonance aromatique et élimine son groupement -OH (donneur d'hydrogène) (**Cai & Yan, 2013**).

La protéine bande 3 (échangeur d'anions 1) est un composant majeur de la membrane érythrocytaire. Elle assure l'échange Cl⁻/HCO₃⁻ nécessaire à l'équilibre acido-basique et aux

échanges gazeux des globules rouges. Cette protéine liée au cytosquelette, contribue à la déformabilité et au maintien de la forme biconcave des érythrocytes. L'intégrité de la bande 3 est donc cruciale pour l'homéostasie cellulaire et la circulation du CO₂ (**Remigante et al., 2019**).

Selon les énergies de liaison obtenues (plus l'énergie est négative, plus le composé est stable), tous les antioxydants ont formé en général des complexes favorables avec la bande 3. Le BHT et le BHA, possédant de larges noyaux phénoliques lipophiles, favorisent leur insertion dans les membranes et l'interaction avec les domaines transmembranaires hydrophobes de la protéine bande 3 établissant de fortes interactions hydrophobes. Le BHT et le BHA sont connus pour piéger les radicaux libres grâce à leurs noyaux phénoliques (**Ren et al., 2025**).

La quercétine, de grande taille avec plusieurs groupements –OH, est capable de former de nombreuses liaisons hydrogène (en vert) et interactions π – π (en rose) (**Fig. 23**) avec des résidus de la protéine bande 3 (**Kim, 2017**). La vitamine C présente des énergies de liaison moins négatives, reflétant une affinité plus faible (**Fig.22 et Fig.23**)

Des études *in vitro* ont montré que l'exposition de la protéine bande 3 au H₂O₂ altère significativement l'activité d'échange d'anions. Il a été rapporté qu'une exposition des érythrocytes à 300 μ M de H₂O₂ durant 30 minutes réduit considérablement le transport du sulfate (analogue de Cl⁻/HCO₃⁻) à travers la bande 3 (**Morabito et al., 2016**).

À l'inverse, la liaison de la vitamine C (-2,83) était plus faible avec la protéine bande 3. Plusieurs études ont démontré que la vitamine C peut paradoxalement exacerber le stress oxydatif dans un microenvironnement où les concentrations de H₂O₂ et de métaux catalytiques sont élevés (**Kaźmierczak-Barańska et al., 2020**).

Interaction avec la vitamine C

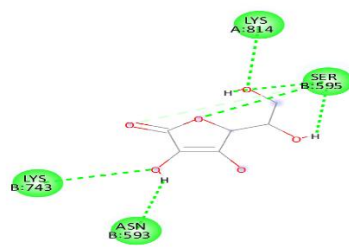


Figure 22 : schéma 2D montre l'interaction entre la vitamine c et la bande 3 en absence H₂O₂. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

Interaction avec l'acide gallique

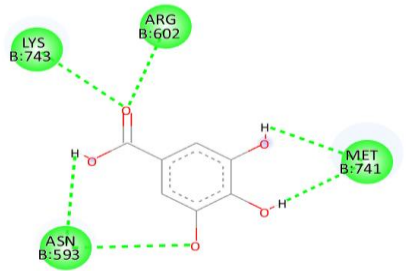


Figure 24: schéma 2D montre l'interaction entre l'acide gallique et la bande 3 en absence H₂O₂. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

Interaction avec la quercétine

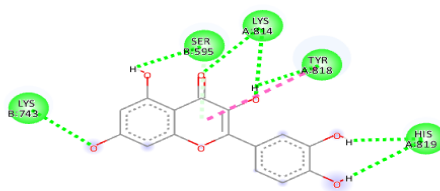


Figure 26 : schéma 2D montre l'interaction entre la quercitrine la bande 3 en absence H₂O₂. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

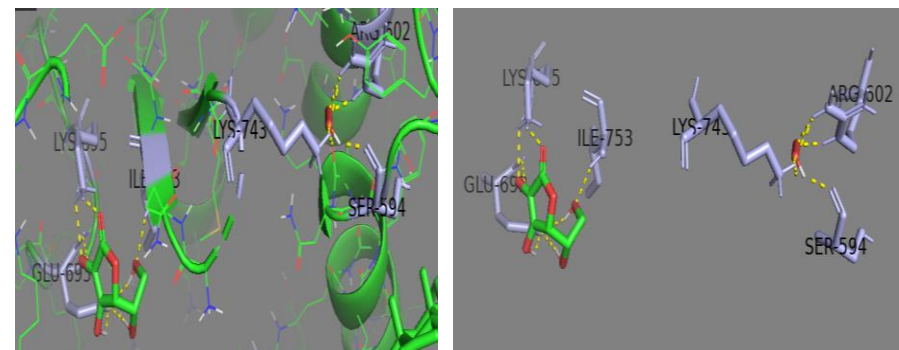


Figure 23: Représentation 3D de l'interaction entre la bande 3 et la vitamine c en la présence de H₂O₂. (Origine par PyMOL)

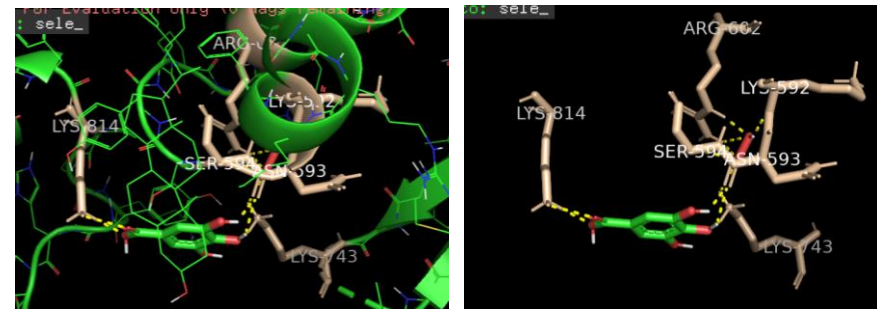


Figure 25: représentation 3D de l'interaction entre la bande 3 et l'acide gallique en présence H₂O₂. (Origine par PyMOL)

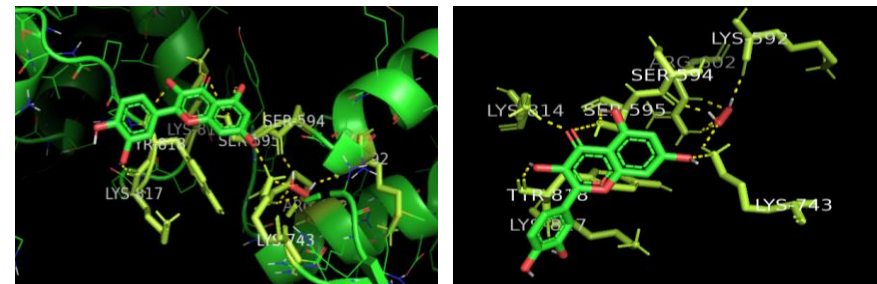


Figure 27: représentation 3D d'une interaction moléculaire entre la bande 3 et la quercetine en absence peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). (Origine par PyMOL)

Interaction avec le BHT

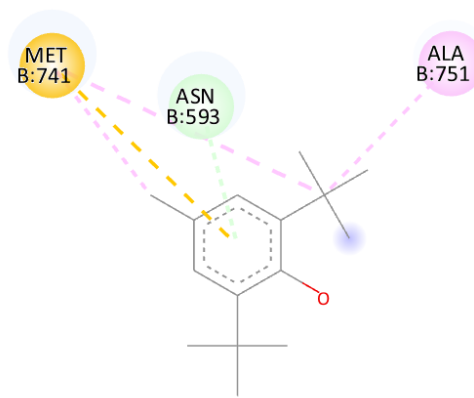


Figure 28: schéma 2D montre l'interaction entre le BHT et la bande 3 en absence H₂O₂. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

Interaction avec le BHA

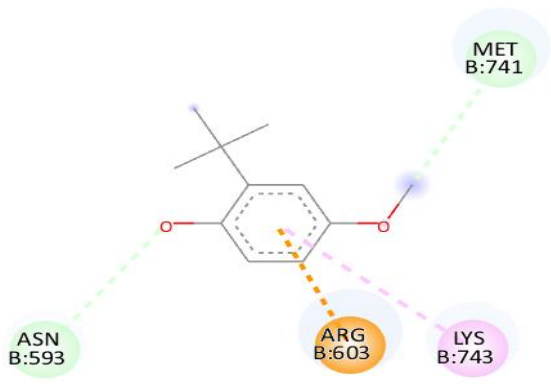


Figure 30: schéma 2D montre l'interaction entre le BHA et la bande 3 en absence H₂O₂. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

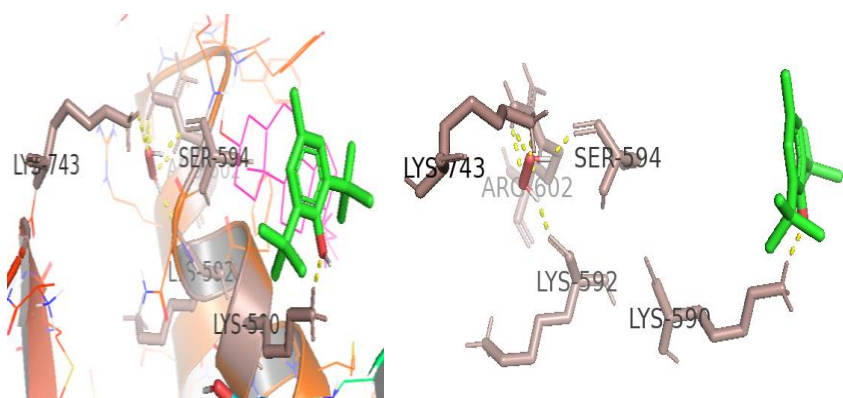


Figure 29 : Représentation tridimensionnelle de l'interaction entre le BHT et la bande 3 en présence de H₂O₂. (Origine par PyMOL)

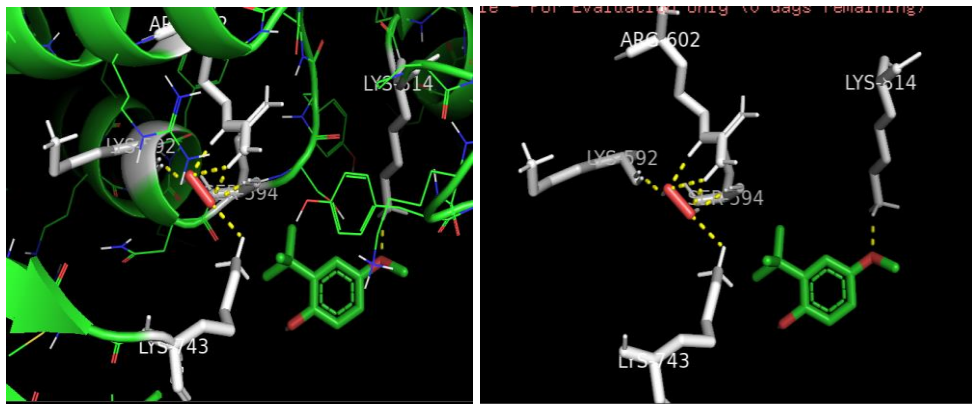


Figure 31 : représentation 3D de l'interaction entre la bande et le BHA en presence le H₂O₂. (Origine par PyMOL)

Interaction des antioxydants avec l'ankyrine

Les énergies de liaison obtenues à partir des interactions moléculaires entre l'ankyrine et les différents antioxydants, en absence et en présence du peroxyde d'hydrogène sont illustrées dans le tableau 4. Ces valeurs ont été calculées à partir de simulations d'amarrage moléculaire.

Tableau 4 : Énergies de liaison (kcal/mol) entre la protéine ankyrine et les différents antioxydants en absence et en présence du H₂O₂.

Complexe	Énergie de liaison (sans H ₂ O ₂) kcal/mol	Coordonnées du centre de la grille (sans H ₂ O ₂)	Énergie de liaison (avec H ₂ O ₂) kcal/mol	Coordonnées du centre de la grille (avec H ₂ O ₂)
Quercétine + l'ankyrine	-5.75	X= 16.112 y=79.420 z= 8.755	-6.05	X= 16.261 y= 79.415 z= 8.773
Acide gallique+ l'ankyrine	-4.89	X= 16.112 y=79.420 z= 8.755	-4.46	X= 20.884 y= 61.928 z= 23.192
BHT + l'ankyrine	-4.74	X= 16.112 y=79.420 z= 8.755	-4.93	X= 23.905 y= 73.935 z=26.484
BHA + l'ankyrine	-4.56	X= 16.112 y=79.420 z= 8.755	-4.77	X= 21.842 y= 73.420 z= 22.493
Vitamine C + l'ankyrine	-2.76	X= 16.112 y=79.420 z= 8.755	-3.76	X= 16.261 y= 79.415 z= 8.773
H ₂ O ₂ + l'ankyrine	-----	-----	-3.52	X= 16.112 y=79.420 z= 8.755

En absence du H₂O₂, l'analyse par docking moléculaire montre que la quercétine présente la meilleure affinité pour l'ankyrine (−5,75 kcal/mol), suivie de l'acide gallique (−4,89), le BHT (−4,74), le BHA (−4,56) et la vitamine C (−2,76). En revanche, en présence du H₂O₂, l'énergie de liaison augmente pour la plupart des antioxydants, à l'exception de celle de l'acide gallique.

L'ankyrine est une protéine adaptatrice clé du cytosquelette érythrocytaire, elle relie les filaments de spectrine à la membrane plasmique par l'intermédiaire de la protéine à domaine transmembranaire 3. En effet, la protéine bande 3 (échangeur anionique 1) et d'autres protéines membranaires (RhAG, protéine 4.1...) ont des domaines cytosoliques qui s'accrochent à l'ankyrine, laquelle se lie à son tour à la chaîne β-spectrine du réseau du cytosquelette (**Mohandas & Gallagher, 2008**).

En situation de stress oxydant, les globules rouges subissent des modifications structurales, le H_2O_2 favorise la formation de la méthémoglobine, qui se lie à la protéine bande 3 en concurrence avec l'ankyrine. La compétition empêchant l'ankyrine de s'attacher à la bande 3 fragilise la liaison membrane-cytosquelette et perturbe ainsi la forme et la fonctionnalité des globules rouges **(Besedina et al., 2022)**. L'augmentation d'affinité en présence du H_2O_2 peut être liée à des modifications locales du site de liaison de l'ankyrine. Une forte affinité signifie que l'antioxydant peut se lier à l'ankyrine et la protéger du stress oxydatif. Des études ont montré que l'ankyrine est oxydée en conditions pathologiques et que la supplémentation en vitamine C réduit son oxydation **(Ruskovska et al., 2015)**. De même, il a été rapporté que la quercétine prévient les altérations membranaires induites par le H_2O_2 , en préservant la distribution normale des protéines membranaires **(Remigante et al., 2022)**.

Interaction avec la vitamine C

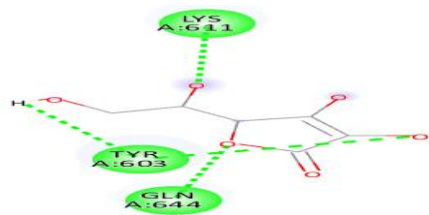


Figure 32: representation 2D de l'interaction entre la vitamine C et l'ankyrine en absence de H₂O₂. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

Interaction avec l'acide gallique

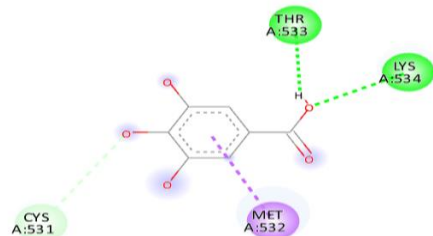


Figure 34: representation 2D de l'interaction entre la vitamine C et l'ankyrine en absence de H₂O₂. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

Interaction avec la quercétine

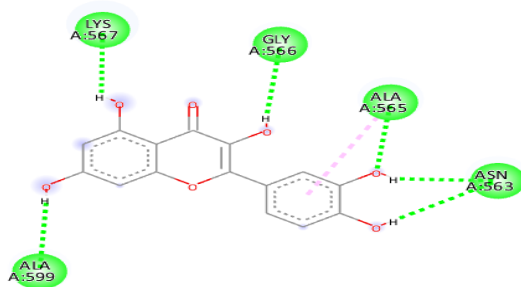


Figure 36 : représentation 2D de l'interaction entre la quercétine et l'ankyrine en absence le H₂O₂.(Origine par Discovery Studio 2024 Client)

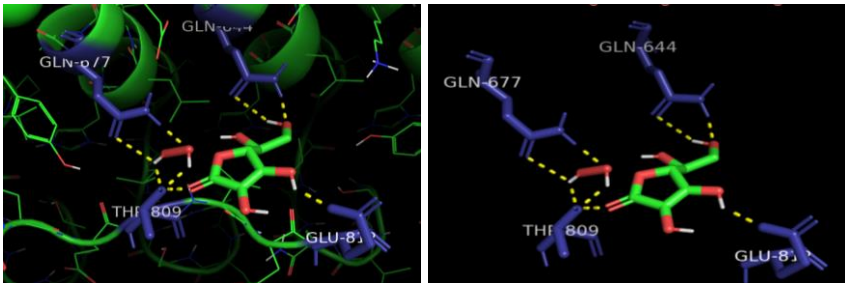


Figure 33 : Représentation de l'interaction entre la vitamine c et l'ankyrine en présence H₂O₂. (Origine par PyMOL)

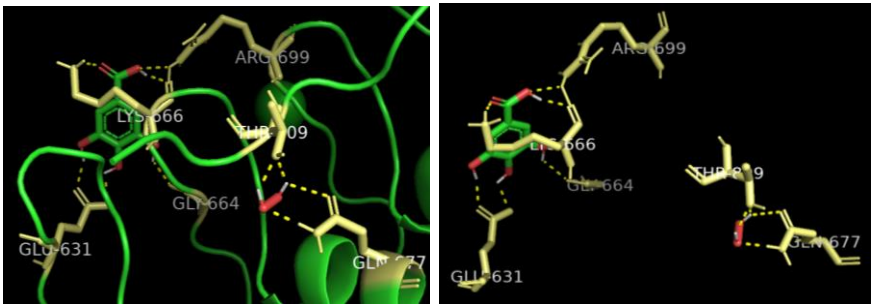


Figure 35 : Représentation tridimensionnelle de la réaction entre l'acide gallique et l'ankyrine. (Origine par PyMOL)

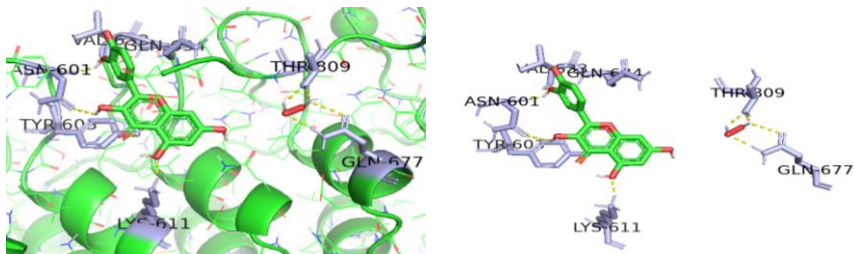


Figure 37: représentation de l'interaction entre la quercétine et l'ankyrine en présence le H₂O₂. (Origine par PyMOL)

Interaction avec le BHA

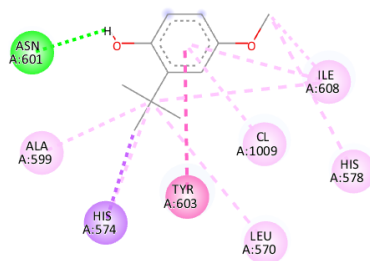


Figure 38 : Représentation bidimensionnelle montrant les acides aminés du site actif de l'ankyrine formant des liaisons avec le BHA sans H₂O₂. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

Interaction avec le BHT

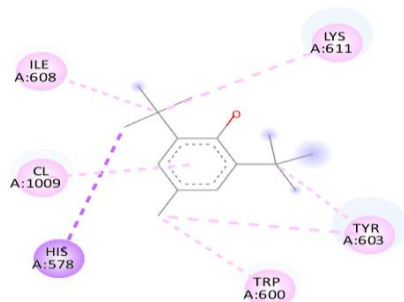


Figure 40 : Représentation bidimensionnelle montrant les acides aminés du site actif de l'ankyrine formant des liaisons avec le BHT sans H₂O₂. (Origine par Discovery Studio 2024 Client)

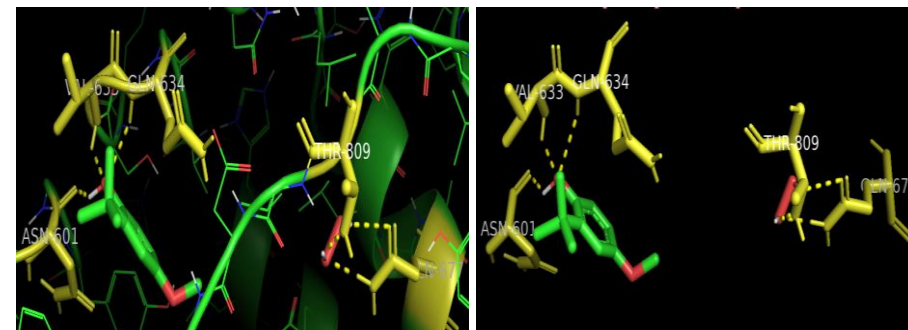


Figure 39 : Représentation tridimensionnelle montrant les acides aminés du site actif de l'ankyrine formant des liaisons avec le BHA en présence le H₂O₂. (Origine par PyMOL)

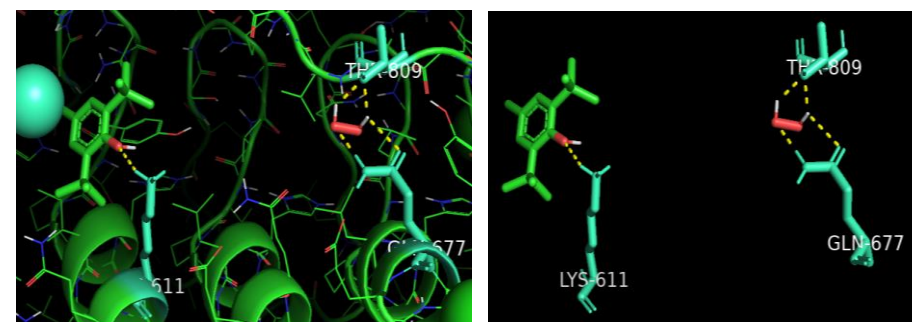


Figure 41 : Représentation tridimensionnelle montrant les acides aminés du site actif de l'ankyrine formant des liaisons avec le BHT en présence le H₂O₂. (Origine par PyMOL)

Conclusion

Ce travail a permis d'explorer, à l'aide d'une approche *in silico*, les interactions moléculaires entre cinq antioxydants de référence (Vitamine C, BHA, BHT, quercétine et acide gallique) et plusieurs protéines clés des globules rouges humains, en conditions normales et en présence d'agent oxydant le H_2O_2 . Les résultats des simulations de docking ont révélé des affinités variables selon les protéines et les conditions, mettant en lumière le potentiel variable de ces antioxydants à protéger les structures protéiques érythrocytaires.

La quercétine présente la meilleure affinité pour l'hémoglobine, avec des énergies de liaison les plus négatives dans les deux conditions (absence et présence du H_2O_2), indiquant une forte stabilité du complexe. À l'opposé, la vitamine C et l'acide gallique montrent des interactions plus faibles.

En ce qui concerne l'ankyrine, la quercétine présente également la meilleure affinité en absence du H_2O_2 ($-5,75$ kcal/mol), devant l'acide gallique et le BHT. En présence de H_2O_2 , une diminution générale des affinités est observée, sauf pour l'acide gallique qui conserve une bonne stabilité.

Pour la spectrine, le BHT, antioxydant hydrophobe, affiche la liaison la plus stable, suivi de l'acide gallique et du BHA, tandis que la vitamine C et la quercétine montre des liaisons plus faibles.

Ces observations s'inscrivent dans un contexte fonctionnel important ; les protéines membranaires comme l'ankyrine et la bande 3 jouent un rôle crucial dans la stabilité et l'intégrité du cytosquelette érythrocytaire. Le stress oxydant peut perturber ces interactions, notamment via la formation de méthémoglobine qui entre en compétition avec l'ankyrine pour la liaison à la bande 3, menaçant la cohésion de la membrane.

Ainsi, ces résultats suggèrent que La quercétine pourrait limiter les effets des oxydants en renforçant les interactions protéiques.

Cependant, cette approche présente certaines limites :

- Les fonctions de score utilisées sont basées sur des modèles énergétiques simplifiés, ne prenant pas en compte les effets entropiques, la dynamique des solvants ou la présence

d'ions, ce qui peut limiter la corrélation entre les scores et l'affinité réelle (**Z. Wang et al., 2016**).

✚ AutoDock est plus fiable pour les petits ligands (≤ 10 liaisons rotatives), mais sa précision diminue avec des molécules plus flexibles ou complexes (**Dhanik et al., 2013**).

✚ Enfin, l'exploration du paysage conformationnel reste partielle, ce qui peut conduire à ignorer certaines conformations de liaison pertinentes (**Dhanik et al., 2013**).

Ces limites doivent être prises en compte dans l'interprétation des résultats et soulignent l'importance d'une validation expérimentale *in vitro* ou *in vivo* pour confirmer les prédictions obtenues par modélisation.

Reference bibliographies

- Ajay, & Murcko, M. A. (1995). Computational methods to predict binding free energy in ligand-receptor complexes. *Journal of Medicinal Chemistry*, 38(26), 4953–4967. <https://doi.org/10.1021/JM00026A001>
- Bell, E. W., & Zhang, Y. (2019). DockRMSD: An open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. *Journal of Cheminformatics*, 11(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/S13321-019-0362-7/FIGURES/5>
- Besedina, N. A., Skverchinskaya, E. A., Shmakov, S. V., Ivanov, A. S., Mindukshev, I. V., & Bukatin, A. S. (2022). Persistent red blood cells retain their ability to move in microcapillaries under high levels of oxidative stress. *Communications Biology* 2022 5:1, 5(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03620-5>
- Bitencourt-Ferreira, G., Pinto, V. O., & de Azevedo, W. F. (2019). Docking with AutoDock4. *Methods in Molecular Biology*, 2053, 125–148. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7_9
- Cai, Z., & Yan, L.-J. (2013). Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health. *Journal of Biochemical and Pharmacological Research*, 1(1), 15. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3646577/>
- Charrier, J. G., & Anastasio, C. (2015). Rates of hydroxyl radical production from transition metals and quinones in a surrogate lung fluid. *Environmental Science & Technology*, 49(15), 9317. <https://doi.org/10.1021/ACS.EST.5B01606>
- Corbeil, C. R., Englebienne, P., & Moitessier, N. (2007). Docking ligands into flexible and solvated macromolecules. 1. Development and validation of FITTED 1.0. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 47(2), 435–449. <https://doi.org/10.1021/CI6002637>
- Dhanik, A., McMurray, J. S., & Kavraki, L. E. (2013). DINC: A new AutoDock-based protocol for docking large ligands. *BMC Structural Biology*, 13(SUPPL.1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/1472-6807-13-S1-S11/FIGURES/2>
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualite Chimique*, 11–12, 108–115.
- Howard, G. C., & Brown, W. E. (Eds.). (2001). *Modern Protein Chemistry: Practical Aspects*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420036527>
- Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Archives of Toxicology*, 97(10), 2499. <https://doi.org/10.1007/S00204-023-03562-9>
- Kaźmierczak-Barańska, J., Boguszevska, K., Adamus-Grabicka, A., & Karwowski, B. T. (2020). Two Faces of Vitamin C—Antioxidative and Pro-Oxidative Agent. *Nutrients*, 12(5), 1501. <https://doi.org/10.3390/NU12051501>
- Kim, D.-C. (2017). Identification of Quercetin as a Potential Band 3 Protein Antioxidant Using Ektacytometry and in Silico Molecular Docking Technology. *International Journal of Applied Engineering Research*, 12, 8812–8816. <http://www.ripublication.com>
- Kollman, P. A., Massova, I., Reyes, C., Kuhn, B., Huo, S., Chong, L., Lee, M., Lee, T., Duan, Y., Wang, W., Donini, O., Cieplak, P., Srinivasan, J., Case, D. A., & Cheatham, T. E. (2000). Calculating structures and free energies

- of complex molecules: combining molecular mechanics and continuum models. *Accounts of Chemical Research*, 33(12), 889–897. <https://doi.org/10.1021/AR000033J>
- Lengauer, T., & Rarey, M. (1996). Computational methods for biomolecular docking. *Current Opinion in Structural Biology*, 6(3), 402–406. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(96\)80061-3](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(96)80061-3)
- Melo, D., Coimbra, S., Rocha, S., & Santos-Silva, A. (2023). Inhibition of erythrocyte's catalase, glutathione peroxidase or peroxiredoxin 2 – Impact on cytosol and membrane. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 739. <https://doi.org/10.1016/J.ABB.2023.109569>,
- Mohandas, N., & Gallagher, P. G. (2008). Red cell membrane: past, present, and future. *Blood*, 112(10), 3939. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2008-07-161166>
- Möller, M. N., Orrico, F., Villar, S. F., López, A. C., Silva, N., Donzé, M., Thomson, L., & Denicola, A. (2022). Oxidants and Antioxidants in the Redox Biochemistry of Human Red Blood Cells. *ACS Omega*, 8(1), 147. <https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.2C06768>
- Morabito, R., Romano, O., La Spada, G., & Marino, A. (2016). H₂O₂-induced oxidative stress affects SO₄ = Transport in human erythrocytes. *PLoS ONE*, 11(1). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0146485>,
- Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K., & Olson, A. J. (1998). Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*, 19(14), 1639–1662. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(19981115\)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B)
- Morris, G. M., & Lim-Wilby, M. (2008a). Molecular docking. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 443, 365–382. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-177-2_19
- Morris, G. M., & Lim-Wilby, M. (2008b). Molecular docking. *Methods in Molecular Biology*, 443, 365–382. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-177-2_19
- Morris, G. M., Ruth, H., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009a). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/JCC.21256>
- Morris, G. M., Ruth, H., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009b). Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
- Ouznadji, A. (2020). Stress nitrosant et pathologies. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2020(522), 39–46. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30161-1](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30161-1)
- Remigante, A., Morabito, R., & Marino, A. (2019). Natural Antioxidants Beneficial Effects on Anion Exchange through Band 3 Protein in Human Erythrocytes. *Antioxidants 2020*, Vol. 9, Page 25, 9(1), 25. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX9010025>
- Remigante, A., Spinelli, S., Straface, E., Gambardella, L., Caruso, D., Falliti, G., Dossena, S., Marino, A., & Morabito, R. (2022). Antioxidant Activity of Quercetin in a H₂O₂-Induced Oxidative Stress Model in Red Blood Cells: Functional Role of Band 3 Protein. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19). <https://doi.org/10.3390/IJMS231910991>,
- Ren, J., Li, Z., Li, X., Yang, L., Bu, Z., Wu, Y., Li, Y., Zhang, S., & Meng, X. (2025). Exploring the Mechanisms of the Antioxidants BHA, BHT, and TBHQ in Hepatotoxicity, Nephrotoxicity, and Neurotoxicity from the Perspective of Network Toxicology. *Foods*, 14(7), 1095. <https://doi.org/10.3390/foods14071095>
- Ruskovska, T., Bennett, S. J., Brown, C. R., Dimitrov, S., Kamcev, N., & Griffiths, H. R. (2015). Ankyrin is the major oxidised protein in erythrocyte membranes from end-stage renal disease patients on chronic

- haemodialysis and oxidation is decreased by dialysis and vitamin C supplementation. *Free Radical Research*, 49(2), 175–185. <https://doi.org/10.3109/10715762.2014.991725>,
- Simonson, T., Archontis, G., & Karplus, M. (2002). Free energy simulations come of age: Protein-ligand recognition. *Accounts of Chemical Research*, 35(6), 430–437. <https://doi.org/10.1021/ar010030m>
- Taylor, R. D., Jewsbury, P. J., & Essex, J. W. (2002). A review of protein-small molecule docking methods. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 16(3), 151–166. <https://doi.org/10.1023/A:1020155510718>
- Teixeira, T. S. P., Caruso, Í. P., Lopes, B. R. P., Regasini, L. O., Toledo, K. A. de, Fossey, M. A., & Souza, F. P. de. (2017). Biophysical characterization of the interaction between M2-1 protein of hRSV and quercetin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.033>
- Valavanidis, A., Vlachogianni, T., & Fiotakis, C. (2009). 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *Journal of Environmental Science and Health - Part C Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*, 27(2), 120–139. <https://doi.org/10.1080/10590500902885684>,
- Vona, R., Pallotta, L., Cappelletti, M., Severi, C., & Matarrese, P. (2021). The Impact of Oxidative Stress in Human Pathology: Focus on Gastrointestinal Disorders. *Antioxidants*, 10(2), 201. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX10020201>
- Wang, Q., & Zennadi, R. (2021). The role of rbc oxidative stress in sickle cell disease: From the molecular basis to pathologic implications. In *Antioxidants* (Vol. 10, Issue 10, p. 1608). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox10101608>
- Wang, Z., Sun, H., Yao, X., Li, D., Xu, L., Li, Y., Tian, S., & Hou, T. (2016). Comprehensive evaluation of ten docking programs on a diverse set of protein-ligand complexes: The prediction accuracy of sampling power and scoring power. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(18), 12964–12975. <https://doi.org/10.1039/C6CP01555G>,
- Williams, G. M., Iatropoulos, M. J., & Whysner, J. (1999). Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food and Chemical Toxicology*, 37(9–10), 1027–1038. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(99\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(99)00085-X)
- Wu, H., Yin, J., Xiao, S., Zhang, J., & Richards, M. P. (2022). Quercetin as an inhibitor of hemoglobin-mediated lipid oxidation: Mechanisms of action and use of molecular docking. *Food Chemistry*, 384. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132473>
- Yin, V., Mian, S. H., & Konermann, L. (2019). Lysine carbonylation is a previously unrecognized contributor to peroxidase activation of cytochrome c by chloramine-T. *Chemical Science*, 10(8), 2349–2359. <https://doi.org/10.1039/C8SC03624A>
- Zhang, R., Zhang, C. Y., Zhao, Q., & Li, D. H. (2013). Spectrin: Structure, function and disease. *Science China Life Sciences*, 56(12), 1076–1085. <https://doi.org/10.1007/S11427-013-4575-0>,
- Dhanik, A., McMurray, J. S., & Kavraki, L. E. (2013). DINC: A new AutoDock-based protocol for docking large ligands. *BMC Structural Biology*, 13(Suppl 1), S11. <https://doi.org/10.1186/1472-6807-13-S1-S11>
- Wang, Z., Sun, H., Yao, X., Li, D., Xu, L., Li, Y., Tian, S., & Hou, T. (2016). Comprehensive evaluation of ten docking programs on a diverse set of protein-ligand complexes: the prediction accuracy of sampling power and scoring power. *Physical chemistry chemical physics: PCCP*, 18(18), 12964–12975. <https://doi.org/10.1039/c6cp01555g>

Annexes

Annexe 1 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la vitamine c et l'hémoglobine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-3.80	24	-3.08	18
2	-3.64	49	-2.98	10
3	-3.34	27	-2.92	3
4	-3.14	32	-2.54	12
5	-3.14	35	-3.14	1
6	-2.71	43	-2.67	2
7	-2.31	22	-2.31	1
8	-2.13	25	-2.13	1
9	-2.11	14	-2.11	1
10	-1.94	28	-1.94	1

Annexe 2 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la vitamine C et l'hémoglobine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-3.89	14	-3.11	15
2	-3.64	8	-2.97	11
3	-3.63	5	-2.90	6
4	-3.37	12	-3.01	9
5	-2.69	36	-2.51	5
6	-2.51	4	-2.51	1
7	-2.32	1	-2.32	1
8	-2.24	26	-2.24	1
9	-1.99	28	-1.99	1

Annexe 3 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la quercétine et l'hémoglobine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-6.74	6	-5.79	17
2	-4.98	43	-4.20	6
3	-4.97	41	-4.30	24
4	-4.06	7	-4.01	2
5	-3.66	20	-3.66	1

Annexe 4 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la quercétine et l'hémoglobine en présence du H₂O₂.

poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-6.89	15	-5.64	27
2	-5.20	37	-4.40	19
3	-4.68	13	-4.25	2
4	-3.71	38	-3.71	1
5	+37.25	23	+37.25	1

Annexe 5: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre l'acide gallique et l'hémoglobine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-4.25	34	-3.59	36
2	-2.72	36	-2.72	1
3	-2.62	8	-2.52	7
4	-2.61	20	-2.51	4
5	-2.48	29	-2.48	1
6	-2.38	32	-2.38	1

Annexe 6 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre l'acide gallique et l'hémoglobine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-3.24	11	-2.78	16
2	-3.06	8	-2.82	21
3	-2.87	27	-2.64	7
4	-2.61	26	-2.58	3
5	-2.56	7	-2.49	3

Annexe 7: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHA et l'hémoglobine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-5.45	36	-5.04	28
2	-4.69	6	-4.59	3
3	-4.58	11	-4.58	1
4	-4.41	17	-4.27	15
5	-4.32	19	-4.32	1

6	-4.06	9	-4.06	1
7	-3.75	33	-3.75	1

Annexe 8 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHA et l'hémoglobine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-4.89	34	-4.68	7
2	-4.88	24	-4.49	17
3	-4.75	46	-4.55	4
4	-4.60	26	-4.29	4
5	-4.49	4	-4.35	6
6	-4.41	28	-4.20	3
7	-4.21	25	-4.21	1
8	-4.16	36	-4.16	1
9	-4.11	5	-4.11	1
10	-4.01	10	-4.01	1
11	-3.81	22	-3.74	4
12	-3.71	12	-3.71	1

Annexe 9: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHT et l'hémoglobine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-6.47	44	-5.97	6
2	-5.83	29	-5.58	25
3	-5.61	32	-5.28	3
4	-5.28	22	-4.98	7
5	-5.27	10	-5.19	8
6	-4.48	43	-4.48	1

Annexe 10 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHT et l'hémoglobine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-5.87	15	-5.52	24
2	-5.22	29	-4.87	10
3	-5.17	42	-5.03	16

Annexe 11: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la vitamine c et la spectrine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-2.85	2	-2.54	8
2	-2.36	9	-2.36	1
3	-2.09	4	-2.09	1

Annexe 12: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la vitamine c et la spectrine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-2.66	34	-2.14	26
2	-2.59	30	-2.08	11
3	-2.32	32	-1.66	6
4	-2.24	26	-2.24	1
5	-1.57	19	-1.37	2
6	-1.29	5	-1.29	1
7	-1.26	4	-1.17	2
8	-1.23	46	-1.23	1

Annexe 13: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la quercétine et la spectrine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-2.70	33	-2.39	5
2	-2.65	17	-1.95	9
3	-2.53	28	-2.07	13
4	-2.47	3	-2.10	9
5	-2.38	1	-2.05	3
6	-2.31	11	-1.96	3
7	-1.78	10	-1.68	4
8	-1.72	16	-1.59	2
9	-1.57	20	-1.52	2

Annexe 14: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la quercétine et la spectrine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-2.67	33	-2.59	3

2	-2.56	32	-2.21	10
3	-2.55	12	-2.09	16
4	-2.43	45	-2.06	5
5	-2.40	13	-1.94	4
6	-2.17	37	-2.07	5
7	-2.02	28	-1.80	2
8	-1.76	22	-1.76	1
9	-1.63	17	-1.55	3
10	-1.57	16	-1.57	1

Annexe 15: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre l'acide gallique et la spectrine en absence du H₂O₂.

Cluster	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-3.38	4	-3.16	10

Annexe 16: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre l'acide gallique et la spectrine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie de liaison minimale (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-3.39	43	-2.98	49
2	-2.61	14	-2.61	1

Annexe 17: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHA et la spectrine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-3.13	35	-2.80	12
2	-3.05	33	-2.81	4
3	-3.01	28	-2.88	5
4	-2.98	45	-2.77	26
5	-2.89	21	-2.88	2
6	-2.60	23	-2.60	1

Annexe 18: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHA et la spectrine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-3.09	11	-2.78	9

2	-3.00	19	-2.88	4
3	-3.00	45	-2.78	7
4	-2.98	32	-2.68	20
5	-2.87	39	-2.83	3
6	-2.77	15	-2.68	3
7	-2.51	22	-2.51	2
8	-2.26	2	-2.26	1
9	-2.19	18	-2.19	1

Annexe 19: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHT et la spectrine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-3.52	16	-3.32	12
2	-3.42	36	-3.11	19
3	-3.32	29	-3.11	10
4	-3.24	50	-3.01	7
5	-3.14	9	-3.14	1
6	-2.91	14	-2.91	1

Annexe 20: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHT et la spectrine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-3.34	45	-3.21	8
2	-3.17	6	-2.91	24
3	-3.11	28	-2.88	17
4	-2.71	2	-2.71	1

Annexe 21: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la vitamine c et la bande 3 en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-3.44	12	-3.44	1
2	-3.00	19	-2.74	2
3	-2.93	14	-2.12	3
4	-2.86	39	-2.31	3
5	-2.76	23	-2.76	1
6	-2.71	44	-2.71	1
7	-2.60	50	-2.60	1
8	-2.48	13	-2.48	1

9	-2.39	48	-2.35	2
10	-2.07	45	-2.07	1

Annexe 22: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la vitamine c et la bande 3 en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-2.83	33	-2.83	1
2	-2.44	36	-2.35	2
3	-2.40	15	-2.40	1
4	-2.39	46	-2.12	3
5	-2.37	5	-2.37	1
6	-2.27	8	-2.13	2
7	-2.23	21	-1.83	2
8	-2.19	11	-2.19	1
9	-2.14	39	-1.67	2
10	-2.14	4	-2.14	1

Annexe 23 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la quercétine et la bande 3 en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-5.46	11	-4.48	4
2	-4.84	41	-4.84	1
3	-4.29	26	-4.29	1
4	-3.94	39	-3.94	1
5	-3.86	7	-3.86	1
6	-3.76	38	-3.76	1
7	-3.73	37	-3.73	1
8	-3.72	19	-3.69	2
9	-3.36	17	-3.19	2

Annexe 24: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la quercétine et la bande 3 en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-5.15	6	-4.23	5
2	-4.57	24	-4.57	1
3	-4.34	36	-3.89	2

4	-4.26	19	-3.99	3
5	-3.96	39	-3.89	2
6	-3.89	47	-3.53	3
7	-3.77	34	-3.29	2
8	-3.60	12	-3.60	1
9	-3.56	18	-3.56	1
10	-3.44	32	-3.36	2

Annexe 25 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre l'acide gallique et la bande 3 en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-6.33	23	-6.21	2
2	-5.63	17	-5.63	1
3	-4.61	14	-4.61	1
4	-4.34	22	-4.34	1
5	-4.32	37	-4.20	3
6	-4.10	20	-4.03	2
7	-3.94	13	-3.94	1
8	-3.83	46	-3.67	5
9	-3.75	44	-3.66	11
10	-3.75	30	-3.59	2

Annexe 26: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la quercétine et la bande 3 en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-4.86	15	-4.43	3
2	-4.76	43	-4.57	2
3	-4.47	2	-4.14	3
4	-4.43	25	-4.14	2
5	-4.27	50	-4.27	1
6	-4.10	17	-3.69	4
7	-3.88	20	-3.71	2
8	-3.87	38	-3.87	1
9	-3.84	10	-3.74	3
10	-3.81	33	-3.61	5

Annexe 27 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHA et la bande 3 en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-4.02	50	-4.02	1
2	-3.84	40	-3.47	2
3	-3.75	13	-3.75	1
4	-3.57	12	-3.56	2
5	-3.55	18	-3.33	6
6	-3.55	20	-3.46	2
7	-3.40	11	-3.34	2
8	-3.40	47	-3.32	2
9	-3.26	37	-3.26	1
10	-3.15	42	-3.15	1

Annexe 28: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre la quercétine et la bande 3 en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-3.74	8	-3.74	1
2	-3.62	19	-3.62	1
3	-3.51	4	-3.51	1
4	-3.44	50	-3.44	1
5	-3.43	26	-3.33	5
6	-3.40	41	-3.40	1
7	-3.33	1	-3.33	1
8	-3.32	23	-3.32	1
9	-3.29	16	-3.20	3
10	-3.29	11	-3.29	1

Annexe 29 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHT et la bande 3 en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-5.13	2	-5.13	1
2	-4.36	6	-4.32	7
3	-4.32	3	-4.30	2

Annexe 30: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHT et la bande 3 en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-4.27	18	-4.27	1
2	-4.02	39	-3.70	2
3	-4.01	12	-3.94	2
4	-3.98	17	-3.73	3
5	-3.88	33	-3.70	3
6	-3.81	7	-3.81	1
7	-3.80	25	-3.61	4
8	-3.67	2	-3.61	3
9	-3.63	10	-3.63	1
10	-3.60	9	-3.60	1

Annexe 31 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre La vitamine c et l'anhydrine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-2.76	7	-2.39	2
2	-2.35	30	-1.96	6
3	-2.34	38	-2.19	2
4	-2.24	47	-2.24	1
5	-2.18	29	-1.71	6
6	-2.16	26	-1.69	8
7	-1.87	39	-1.87	1
8	-1.79	17	-1.57	14
9	-1.78	12	-1.55	7
10	-1.41	21	-1.41	1
11	-1.04	40	-1.04	1
12	-1.02	23	-1.02	1

Annexe 31 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre La vitamine c et l'anhydrine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-3.76	18	-3.76	1
2	-3.10	41	-3.10	1
3	-3.05	25	-2.56	3
4	-3.02	16	-2.97	2

5	-2.99	34	-2.84	4
6	-2.62	36	-2.62	1
7	-2.54	45	-2.24	3
8	-2.51	7	-2.29	3
9	-2.34	15	-2.34	1
10	-2.29	37	-2.29	1

Annexe 33 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre La quercétine et l'anhydrine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-5.75	5	-4.75	9
2	-5.24	29	-4.96	4
3	-4.85	12	-4.85	1
4	-4.40	43	-4.40	1
5	-4.18	35	-4.09	2
6	-4.12	17	-3.82	3
7	-4.03	23	-4.03	1
8	-3.85	7	-3.41	6
9	-3.84	9	-3.55	10
10	-3.82	47	-3.36	2

Annexe 34: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre La quercétine et l'anhydrine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-6.05	15	-6.05	1
2	-5.37	48	-4.48	8
3	-4.50	39	-4.12	4
4	-4.48	1	-4.48	1
5	-4.45	5	-4.45	1
6	-4.12	24	-4.12	1
7	-4.04	19	-3.77	3
8	-4.01	49	-4.01	1
9	-3.59	9	-3.42	2
10	-3.44	11	-3.44	1

Annexe 35: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre l'acide gallique et l'anhydrine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-4.89	35	-4.50	9
2	-4.58	41	-4.18	8
3	-4.11	28	-4.11	1
4	-4.04	23	-4.04	1
5	-3.61	27	-3.39	7
6	-3.55	24	-3.32	2
7	-3.51	44	-3.04	6
8	-3.39	10	-3.35	2
9	-3.38	9	-3.38	1
10	-3.27	22	-3.27	2

Annexe 36: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre l'acide gallique et l'ankyrine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-4.46	34	-3.66	9
2	-3.26	48	-3.06	5
3	-3.20	25	-3.01	3
4	-3.19	2	-2.98	5
5	-3.04	6	-3.04	1
6	-2.98	50	-2.98	1
7	-2.86	32	-2.86	1
8	-2.76	24	-2.76	1
9	-2.59	20	-2.36	2
10	-2.58	47	-2.49	3

Annexe 37: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHA et l'ankyrine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-4.56	43	-4.56	1
2	-4.33	25	-4.33	1
3	-4.29	27	-4.29	1
4	-4.19	28	-3.80	3
5	-4.06	24	-3.89	10
6	-4.06	40	-4.06	1
7	-4.04	18	-4.04	1
8	-3.97	1	-3.97	1
9	-3.84	21	-3.84	1
10	-3.84	4	-3.84	1

Annexe 38: Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHA et l'anhydrine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-4.77	25	-4.65	2
2	-4.38	17	-3.99	21
3	-4.13	19	-4.01	2
4	-4.10	49	-3.93	3
5	-4.04	30	-3.89	12
6	-3.90	33	-3.90	1
7	-3.79	2	-3.79	1
8	-3.76	48	-3.76	1
9	-3.68	26	-3.59	3
10	-3.62	50	-3.62	1
11	-3.60	45	-3.60	1
12	-3.48	43	-3.48	1
13	-3.18	38	-3.18	1

Annexe 39 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHT et l'anhydrine en absence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-4.74	10	-4.71	2
2	-4.72	8	-4.70	2
3	-4.50	45	-4.50	1
4	-4.26	38	-4.04	17
5	-4.09	1	-3.78	4
6	-3.98	20	-3.57	2
7	-3.82	29	-3.65	6
8	-3.80	34	-3.62	8
9	-3.66	17	-3.66	1
10	-3.55	23	-3.54	2
11	-3.50	42	-3.50	1
12	-3.27	44	-3.27	1
13	-3.19	11	-3.19	2
14	-3.01	48	-3.01	1

Annexe 40 : Résultats de clustering des conformations issues du docking moléculaire entre le BHT et l'anhydrine en présence du H₂O₂.

Poses	Énergie la plus basse (kcal/mol)	Numéro de conformation du ligand	Énergie moyenne (kcal/mol)	Nombre de conformations
1	-4.93	30	-4.72	13
2	-4.82	28	-4.53	5
3	-4.70	47	-4.48	9

4	-4.66	18	-4.64	2
5	-4.34	31	-4.26	2
6	-4.23	1	-4.18	2
7	-4.11	33	-4.00	3
8	-4.00	16	-4.00	1
9	-3.86	44	-3.70	4
10	-3.86	23	-3.86	1
11	-3.78	9	-3.64	3
12	-3.31	4	-3.09	2
13	-3.30	41	-3.30	1
14	-3.04	37	-3.04	1
15	-2.81	5	-2.81	1

Résumé

Ce travail s'inscrit dans une démarche de modélisation *in silico* visant à explorer les interactions entre certains antioxydants de référence et les protéines fonctionnelles du globule rouge humain. L'objectif principal est d'évaluer l'affinité de liaison et la stabilité des complexes formés entre les antioxydants (quercétine, acide gallique, vitamine C, BHT, BHA) et les protéines intraérythrocytaires (hémoglobine, spectrine, ankyrine et protéine bande 3), en conditions normales et sous stress oxydatif (présence de H_2O_2) à l'aide du logiciel AutoDock. Les résultats indiquent que la quercétine présente la meilleure affinité pour l'hémoglobine, dans les deux conditions. La quercétine montre également une forte affinité pour l'ankyrine en absence de H_2O_2 , tandis que l'acide gallique conserve une stabilité remarquable en présence d'oxydant. Pour la spectrine, c'est le BHT qui présente la liaison la plus stable. Ces résultats soulignent l'importance des interactions antioxydants-protéine dans la protection de l'intégrité membranaire érythrocytaire. Ainsi, certains antioxydants, notamment la quercétine, pourraient limiter les effets du stress oxydatif en stabilisant les structures protéiques du globule rouge. L'approche *in silico* utilisée s'est révélée pertinente pour prédire ces interactions à l'échelle moléculaire et pourrait servir de base à des études expérimentales futures.

Mot clés : Modélisation, Docking, *in silico*, antioxydant, protéines intra-érythrocytaires.

ملخص

يَندرج هذا العمل ضمن إطار مقارنة النمذجة الجزيئية الحاسوبية (*in silico*) التي تهدف إلى استكشاف التفاعلات المحتملة بين بعض مضادات الأكسدة والبروتينات الوظيفية في كريات الدم الحمراء البشرية. ويتمثل الهدف الرئيسي في تقييم قوة الارتباط وثبات المعقدات المتكوّنة بين مضادات الأكسدة (كيرسيتين، حمض الغاليك، فيتامين ج، بوتيلاتيد هيدروكسي تولين، وبوتيلاتيد هيدروكسي أنيزول) وبعض البروتينات الخلوية الأساسية (الهيموغلوبين، السبيكترين، الأنكيرين، وبروتين الشريط 3)، وذلك تحت ظروف فسيولوجية طبيعية وأخرى تحت تأثير الإجهاد التأكسدي (في وجود بيروكسيد الهيدروجين) باستخدام برنامج AutoDock. أظهرت النتائج أن الكيرسيتين يمتلك أعلى قدرة ارتباط مع الهيموغلوبين في كلتا الحالتين. كما أظهر الأنكيرين تقاربًا ملحوظًا مع الكيرسيتين في غياب بيروكسيد الهيدروجين، بينما حافظ حمض الغاليك على استقرار واضح في وجود العامل المؤكسد. أما بالنسبة للسبيكترين، فقد شكّل بوتيلاتيد هيدروكسي تولين المعقد الأكثر استقرارًا. وتُبرز هذه النتائج أهمية التفاعلات بين مضادات الأكسدة والبروتينات في الحفاظ على سلامة الغشاء الخلوي لكريات الدم الحمراء. وعليه، يمكن القول أن بعض مضادات الأكسدة، لا سيما الكيرسيتين، قد تساهم في التخفيف من آثار الإجهاد التأكسدي من خلال تثبيت البنى البروتينية لكريات الدم الحمراء. وقد أثبتت الدراسة *in silico* فعاليتها في التنبؤ بهذه التفاعلات على المستوى الجزيئي، مما يفتح المجال أمام دراسات تجريبية مستقبلية.

الكلمات المفتاحية: النمذجة، الارساء، الجزيئية الحاسوبية، مضاد أكسدة، البروتينات، الكريات الدموية الحمراء.