



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Matière

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Spécialité : chimie pharmaceutique

Réf. :/

Présenté et soutenu par :

BENHAMZA Sara **BASSI Samra**

Identification de nouveaux inhibiteurs de protéine kinase B par criblage virtuel

Jury :

KENOUCHE Samir	MCA	Université Med Khider de Biskra	President
KHAMOULI Saida	MCB	Université Med Khider de Biskra	Rapporteur
BELAIDI Houmam	MAB	Université Med Khider de Biskra	Examineur



Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné la force et la foi et de m'avoir permis d'arriver à ce stade.

*Nous remercions notre encadreur, Mme **Khamouli Saïda**, pour sa présence tout au long de la préparation de ce mémoire, ainsi que pour les conseils, la confiance, la patience et le temps qui ont constitué une grande contribution de ce travail.*

*Nous adressons notre profonde gratitude à Mr. **Kenouche Samir** Docteur à Université de Biskra d'avoir accepté de présider le jury de ce travail.*

*Nous tenons également à remercier Mr. **Belaidi Houmam** Docteur à Université de Biskra d'avoir accepté de juger ce travail*

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Merci à tous





Dédicaces

*Merci ALLAH de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir,
la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve*

Je dédie ce travail :

*A mes chers parents, pour leur amour, leur soutien et tous leurs
sacrifices*

A toute ma famille, mes frères et mes sœurs.

A tous mes amis surtout Sara Saada et binôme Samra Bassi .

*A toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation
de ce mémoire.*

Sara Benhamza





Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

- *Ma mère, la perle rare, la flamme de ma vie pour sa tendresse infinie et ses sacrifices.*
- *Mon père, pour son amour, son soutien et ses encouragements dans les moments les plus difficiles.*
- *mon cher mari Fawaz et ma chère fille Ritaj*
- *Toutes mes sœurs et mes Frères, en particulier ma sœur bien-aimée, Sara et mon frère Saïd*
- *Mon cher oncle et sa chère famille*
- *A mon cher binôme Sara Benhamza*

Samra Bassi



Liste des Abréviations

3D :	Trois dimensions
ADMET :	Absorption Distribution Métabolisme Elimination – Toxicité
ADN:	Acide désoxyribonucléique
AMM :	Autorisation de Mise sur le Marché
Asp :	Acide Aspartique
ATP:	Adénosine Trisphosphate
BBB:	Blood-Brain Barrière.
CMC :	Chimie médicinale complète
CNS :	système nerveux central
Glu :	Acide Glutamique
GPCR :	Ligand du récepteur couplé aux protéines G
HERG:	Human Ether-à-go-go-Related Gene
HIA:	Human Intestinal Absorption.
HTS :	Criblage à haut débit (High-throughput screening)
Ile :	Isoleucine
LGA :	Algorithme génétique Lamarckien
MDDR :	Drug Data Report
MDL :	Molegro Virtual Docker
MM+ :	la mécanique moléculaire
MVD :	Molegro Virtual Docker
p70S6K :	Ribosomal protein S6 Kinase beta-1.
p90RSK :	p90 Ribosomal S6 Kinase.
PDB :	Protein Data Bank
PH :	Plekstrin Homology.
PI3K:	Phosphoinositide 3-Kinase
PIP2 :	Phosphatidylinositol-4,5- diphosphate
PIP3 :	Phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate
PKB/AKT :	Protéine kinase B
PMDCK	Perméabilité à cellules de Maden Darby Canine Kidney
PTEN:	Phosphatase and tensin homolog
QSAR :	Quantitative Structure-Activity Relationship: Relation quantitative structure-activité
R&D :	Recherche et de développement

Liste des Abréviations

RD-QSAR :	Receptor Dependent Quantitative Structure-Activity Relationship : Relation Relationship).
RMN :	Résonance magnétique nucléaire
RMSD:	root-mean-square derivation : Ecart quadratique moyen.
RO5	Règle de Lipinski de cinq
RSA :	Relation structure-activité
Ser :	Sérine
Thr :	Thréonine
Tyr :	Tyrosine
WDI :	Indice mondial des médicaments : World Drug Index
δ :	déplacement chimique d'un atome
ΔG :	Énergie d'activation

SOMMAIRE

Remerciements	I
Dédicaces	II
Liste des abréviations	IV
Sommaire	VI
Liste des figures	IX
Liste des tableaux	X
Introduction générale	1

CHAPITRE I: GENERALITE SUR LE CANCER

1. Introduction	3
2. Définition	3
3. Les caractéristiques	4
4. Les étapes de cancérisation	5
5. La classification des cancers	6
6. Les Symptômes	7
6.1. Anxiété et dépression	7
6.2. Insomnie	7
6.3. Fatigue	8
6.4. Douleur	8
7. Les facteurs de risqué	8
7.1. Les facteurs externes	8
7.2. Les facteurs internes	9
8. Les Traitements	9
8.1. La chirurgie	10
8.2. La radiothérapie	10
8.3. La chimiothérapie	11
9. PKB(AKT)	12
9.1. Définition	12
9.2. Structure et fonctions	12
9.3. Rôle de PKB	13

CHAPITRE II : ASPECTS THEORIQUE ET METHODOLOGIQUES

1. Drug discovery	15
1.1.Histoire de la découverte des médicaments	15
1.2.Les étapes de processus de recherche et de développement des médicaments	15
1.2.1. Choix d'une cible thérapeutique	15
1.2.2. Identification de « hits »	16
1.2.3. Génération et optimisation des leads	16
1.2.4. Test pré-cliniques et cliniques	16
2. Méthodes de criblage virtuel in silico	17
2.1.Criblage virtuel « ligand-based »	18
2.2.Criblage virtuel « structure-based »	18
3. Docking moléculaire	19
3.1.Définition	19
3.2.Principe du docking	19
3.3. Algorithme de docking	21
3.4. Fonctions de score	22
3.5. Les logiciels de docking	24
4. Interaction protéine-ligand	25
4.1. Interaction ionique	25
4.2 Interaction hydrogène.	26
4.3. L'interaction de Van der Waals	27
4.4. Les interactions hydrophobes	27
5. Filtrage par ADME –TOX	29

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Introduction	30
2. Docking moléculaires	31
3. Méthodologie des calculs	32
3.1. Préparation de l'enzyme	32
3.2. Préparation des ligands	32
3.3. Détection des cavités	37
3.4. Énergie d'interaction	38

4. ADME /TOX	46
4.1. Drug-likeness Prédiction	46
4.2. ADME Prédiction (absorption, distribution, métabolisme, l'excrétion, et de toxicité)	49
4.3. Bio activité score	52
Conclusion Générale	53
Références	54

Liste des figures

Figure I.1.	Les caractéristiques d'une cellule cancéreuse.	5
Figure I.2.	les étapes de cancérogénese .	5
Figure I.3.	Représentation de la structure d'AKT .	13
Figure II.1.	Etapes du processus de recherche et de développement des médicaments .	15
Figure II.2.	Classification des méthodes de criblage virtuel « ligand-based » et « structure-based ».	18
Figure II.3.	Étapes typiques d'un docking.	20
Figure II.4.	Interaction entre deux molécules de charges différentes	24
Figure II.5.	Exemples d'une liaison hydrogène	26
Figure II.6.	Exemples d'une liaison hydrophobe	27
Figure II.7.	Représentation schématique de devenir d'un médicament dans l'organisme.	29
Figure. III.1.	Protocole de calcul.	31
Figure III.2.	Structure de l'enzyme PKB Code PDB (4EJN)	32
Figure III.3.	Structures chimique des ligands étudiés	33
Figure III.4.	Illustration de l'espace de recherche.	37
Figure III.5.	Flexibilité de ligand	38
Figure III.6.	Interactions hydrogène et stériques entre les ligands et les acide amines de la cavité 1.	41

Liste des tableaux

Tableau III.1.	Le volume et la surface des différentes cavités.	37
Tableau III.2.	Résultats de docking moléculaire des ligands avec la cavité 1	38
Tableau III.3.	Les interactions des complexes L ₁₉ , L ₂₄ , L ₂₅ ,L ₂₆ et L _{réf}	40
Tableau III.4	Distances des liaisons hydrogène et stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand L ₁₉ .	42
Tableau III.5.	Distances des liaisons hydrogène et stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand L ₂₄ .	43
Tableau III.6.	Distances des liaisons hydrogène et stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand L ₂₅ .	43
Tableau III.7.	Distances des liaisons hydrogène et stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand L ₂₆ .	44
Tableau. III.8	Distances des liaisons hydrogène et stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand L _{réf}	44
Tableau.III.9.	Propriétés physico-chimiques des ligands	46
Tableau III.10.	Les résultats Drug-likeness des ligands par PreADMET	48
Tableau III.11.	Résultats des propriétés d'absorption, distribution des ligands	49
Tableau III.12.	Résultats des propriétés métabolisme des ligands	51
Tableau III.13.	Résultats des propriétés de Toxicité des ligands.	51
Tableau III.14.	Résultats des paramètres de Bioactivité de score des ligands	52

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Le cancer correspond à la multiplication anarchique de cellules anormales qui échappent au mécanisme de contrôle cellulaire. Ces cellules prolifèrent pour former une masse tissulaire appelée tumeur qui envahit les tissus normaux avoisinant ; d'où la malinilité; l'accroissement de l'espérance de vie et l'augmentation de l'exposition à des éléments cancérigènes (tabac, aliments riches, polluants chimiques...), le cancer est devenu l'une des premières causes de mortalité [1]. La chimiothérapie occupe une place importante dans le traitement clinique des cancers.

La cause du cancer implique de multiples voies. Les protéines kinases, plus particulièrement, représentent une des plus grandes familles de protéines, ce sont des enzymes comptant plus de 500 membres dans le génome humain. Quatre de ces protéines kinases (PK) sont impliquées dans la plupart des voies de transduction du signal régulant le fonctionnement cellulaire sous tous ses aspects. La plupart des cancers sont associés au dérèglement de protéines kinases, tels que des mutations génétiques qui conduisent à une surexpression ou à une activation constitutive de ces protéines. Elles sont également impliquées dans autres pathologies.

Les kinases sont des enzymes de groupes des transférases, catalysant les réactions de phosphorylation par l'ajout d'un ion phosphate, provenant du nucleotide adénosine triphosphate (ATP), sur une molécule cible appelée substrat, qui peut être une protéine, un acide nucléique, un lipide, un sucre ou même une autre kinase [2].

Le monde de la recherche pharmaceutique optimise constamment toutes les étapes de son processus de découverte et de mise au point de médicaments. La chemoinformatique est un outil de choix pour diminuer le temps et le coût de développement d'un médicament.[3] La bioinformatique apporte elle aussi sa contribution à l'étude des interactions protéine-ligand par des méthodes comme « Dynamique moléculaire» [4] et « protéine-Ligand docking ». [5]

Le docking moléculaire est une méthode qui prédit la conformation (position et orientation relatives) la plus favorable de deux molécules en interaction et formant un complexe stable. La connaissance de cette conformation préférentielle permet par la suite l'estimation de la force d'association (affinité de liaison) entre ces deux molécules. [6]

au cours de la recherche et du développement des nouveaux médicaments, il faut tenir compte de tous les processus que le nouveau médicament (dans une formulation spécifique) subira après administration aux patients. La discipline qui étudie les processus d'ADME

INTRODUCTION GENERALE

est la Pharmacocinétique : elle s'occupe de décrire le devenir d'un médicament au cours du , à Tra- vers le suivi de sa concentration dans l'organisme, depuis son administration jusqu'à son élimination [7] .

Le principal objectif de ce travail est l'utilisation des méthodes de criblage virtuel telle que le docking moléculaire pour la conception des nouvelles molécules bioactives et l'étude de leurs interactions avec protéine kinase B et une série de inhibiteurs, suivi par une filtration en utilisant les propriétés ADMET.

Notre travail est divisé en trois chapitres.

Le premier chapitre présente un aperçu général sur le Cancer, et la protéine kinase B

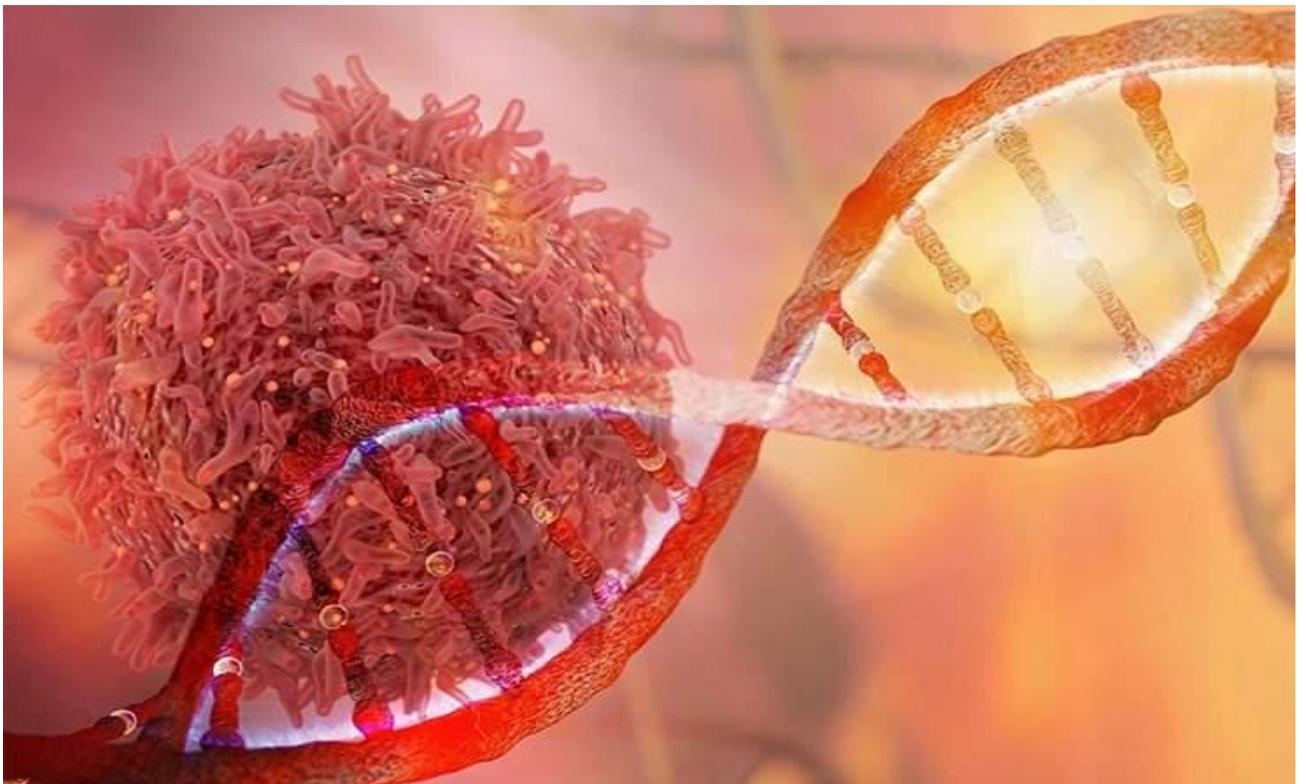
Le deuxième chapitre nous détaillons sur les différentes méthodes de criblage virtuel (Docking moléculaire, ADMET).

Le troisième chapitre est consacré à la méthodologie du travail réalisé dans cette mémoire, aux résultats obtenus et à leurs discussions

Enfin une conclusion générale résume l'ensemble du travail réalisé.

Chapitre I

GENERALITE SUR LE CANCER



1. Introduction

Le cancer représente un problème majeur de santé publique. Il constitue la première Cause de mortalité dans le monde entier. Plusieurs facteurs sont responsables de cette maladie, parmi lesquelles on trouve l'utilisation des produits chimiques dans plusieurs domaines. La majorité de ces produits chimiques ont des propriétés carcinogènes ou toxiques, donc était considéré comme une maladie aiguë [8].

Le nombre de décès en France provoqués par le cancer croît constamment (150000 en 2000, contre 125000 en 1980), parallèlement à l'accroissement de l'espérance de vie (les cancers touchant principalement, et avec une gravité accrue, les personnes les plus âgées). Cette augmentation est toutefois moins importante que celle du nombre de cas diagnostiqués (278000 contre 170000) [9], qui traduit aussi bien les progrès de la médecine anti-cancer que les efforts de santé publique principalement axés sur la prévention et le dépistage. Le cancer n'est pas seulement un axe crucial de santé publique, c'est également un problème social. [10, 11] Cela peut principalement s'expliquer du fait que la vision populaire du cancer se décline et se déforme bien en dehors de la réalité médicale.

2. Définition

L'organisation Mondiale de Santé attribue au cancer la définition suivante :
« Cancer est un terme général appliqué à un groupe de plus d'une centaine des maladies qui peuvent toucher n'importe quelle partie de l'organisme. L'une des caractéristiques du cancer est la prolifération rapide des cellules anormales qui, au-delà de leur délimitation normale, peuvent envahir des parties du corps adjacentes et semer dans d'autres organes formant ce qu'on appelle des métastases. » [12]

Le cancer correspond à la prolifération non contrôlée de cellules dites malignes, en raison de certains caractères anormaux. La prolifération peut rester localisée (tumeur) ou se propager dans d'autres sites, soit par voie lymphatique (envahissement ganglionnaire), soit par voie sanguine (métastases). Le cancer est une maladie de l'ADN. Certains gènes présentent des anomalies existant déjà dans l'œuf initial pour les rares cancers héréditaires et apparaissant sur certaines cellules au cours de la vie pour les nombreux cancers acquis. Ceci signifie que des gènes de structure

normale au départ se sont modifiés. Le cancer est dû à des anomalies génétiques touchant une cellule. Au moins deux modifications et souvent davantage, en général quatre, sont nécessaires pour que la cellule devienne maligne[13].

3. Les caractéristiques

La cellule cancéreuse va au cours de son développement acquérir une série de capacités que ne possèdent pas les cellules normales. En 2000, R. Weinberg et D. Hanahan ont suggéré que l'apparition de cellules cancéreuses passe par l'acquisition d'au moins six propriétés [14]:

- Indépendance vis-à-vis des signaux stimulant la prolifération : Normalement, les cellules ne se divisent que lorsqu'elles reçoivent un stimulus particulier mais dans les tumeurs, les cellules n'ont plus besoin de ce signal à cause de l'expression accrue et continue des gènes de la prolifération cellulaire.
- Insensibilité aux signaux inhibiteurs de la prolifération cellulaire.
- Abolition de l'apoptose ou mort cellulaire programmée. En cas de stress ou d'anomalie ne pouvant pas être éliminée, une cellule normale se suicide en utilisant l'apoptose. Les cellules tumorales ont inactivé tous ces mécanismes pour mieux survivre.
- Capacité proliférative illimitée : le nombre usuel de divisions cellulaires pour une cellule humaine est de 50 à 60, après quoi elle cesse de pouvoir se diviser. Les cellules tumorales continuent de se diviser sans limite visible grâce à l'activité de la télomérase qui est fortement active dans toutes les cellules cancéreuses. Les cellules deviennent immortelles.
- Capacité de susciter l'angiogenèse. Les cellules tumorales (et la tumeur) ont un besoin important en oxygène et en nutriments pour survivre. Elles vont donc stimuler la formation de nouveaux vaisseaux sanguins afin d'alimenter la tumeur.
- Acquisition d'un pouvoir invasif. Les cellules tumorales sont capables de passer à l'intérieur d'un vaisseau sanguin afin d'être transportées dans un autre organe où elles vont générer une seconde tumeur

La variabilité des mutations retrouvée dans les cellules cancéreuses fait que l'on retrouve une grande hétérogénéité de tumeurs d'un individu à l'autre, même au sein

d'un même type histologique, mais aussi une diversité des sites de développement [15], ce qui rend les traitements du cancer difficiles. Cependant, il existe des propriétés communes que l'on peut généraliser aux cellules cancéreuses. Hanahan et Weinberg [16] ont proposé un modèle avec 10 caractéristiques fondamentales attribués aux cellules cancéreuses.

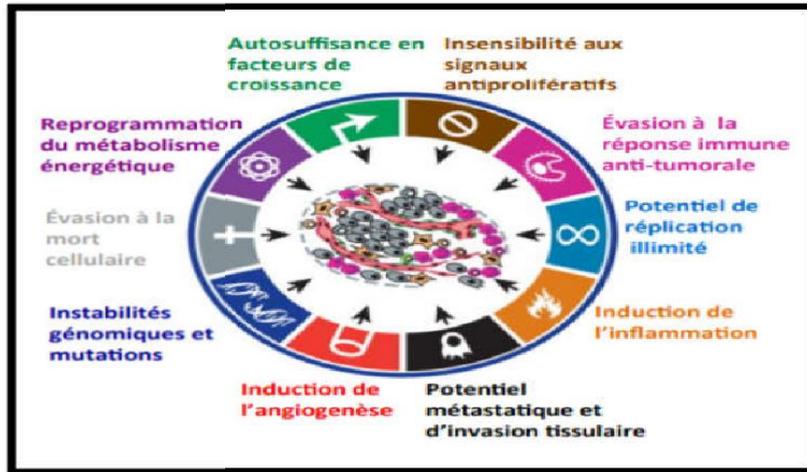


Figure I.1 : Les caractéristiques d'une cellule cancéreuse [16].

4. Les étapes de cancérisation

Différentes étapes ont été identifiées dans le développement d'un cancer : l'initiation, la promotion et la progression. Dans un premier temps, il se produit une lésion majeure au niveau de l'ADN d'une cellule ; il en résulte une transformation de cette cellule. Dans un second temps, la cellule transformée se développe et prolifère en formant un groupe de cellules transformées identiques. Enfin, dans un troisième temps, la cellule acquiert les caractéristiques d'une cellule cancéreuse : elle se multiplie de façon anarchique, en perdant en partie son caractère différencié (son identité liée au tissu auquel elle appartenait). L'évolution se fait d'abord localement, puis peut s'étendre via le sang et la lymphe à d'autres endroits du corps où se forment les métastases[17].

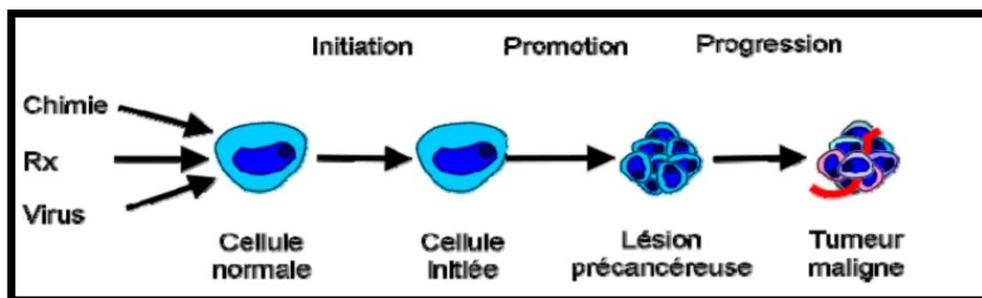


Figure I.2. les étapes de cancérogénèse

5. La classification des cancers

Les cancers sont classés en fonction de leur origine. Ainsi on définit trois principaux types de cancers :

- Les carcinomes qui sont des tumeurs de l'épithélium ou de la peau. Ils peuvent être classés en deux principales catégories : les adénocarcinomes qui se développent dans un organe ou une glande et les carcinomes à cellules squameuses dont l'origine est l'épithélium squameux. Ce sont les formes de cancer les plus fréquentes qui représentent 90% des cancers.
- Les sarcomes : ces tumeurs prennent leur origine dans l'os, le cartilage, les tissus adipeux, les muscles, les vaisseaux sanguins ou dans d'autres tissus conjonctifs. Ils représentent moins de 1 % des nouveaux cancers. Ils sont plus souvent observés chez les enfants et les jeunes adultes. On distingue deux types de sarcomes, selon qu'ils se développent dans les tissus conjonctifs communs (fibrosarcome, liposarcome, léiomyosarcome, rhabdomyosarcome, angiosarcome, glomangiosarcome, sarcome synovial, tumeurs stromales gastro-intestinales) ou dans les tissus spécialisés tels que l'os (ostéosarcomes, chondrosarcomes, sarcome d'Ewing).
- Les cancers hématopoïétiques comprennent les cancers des cellules sanguines (les leucémies) et les tumeurs du système lymphatique (les lymphomes hodgkiniens ou non- hodgkiniens) [18].

La classification des cancers selon l'organe touché est la plus connue. Les plus fréquents sont

- Le cancer du poumon
- Le cancer du sein
- Le cancer du colon
- Le cancer du foie
- Le cancer du pancréas
- Le cancer du sang ou leucémie
- Le cancer de la moelle osseuse ou myélome multiple
- Le cancer des vaisseaux sanguins ou sarcome de Kaposi
- Lymphomes maladie de Hodgkin et lymphomes non-hodgkinien . [19]

6. Les Symptômes

6.1 Anxiété et dépression

Il est bien reconnu que la détresse psychologique est une conséquence fréquente du cancer. De multiples études ont été réalisées dans le but d'évaluer la prévalence des symptômes dépressifs et anxieux chez les patients atteints de cancer. Une humeur dépressive, une perte d'intérêt envers les activités plaisantes, un sentiment de culpabilité ainsi que des difficultés de concentration font partie des symptômes retrouvés chez les patients souffrant d'un trouble dépressif. Les troubles anxieux, quant à eux, réfèrent notamment à des inquiétudes, de l'agitation, de l'irritabilité, ainsi que de la tension musculaire. Pour ces deux types de difficultés psychologiques, il est possible de présenter quelques symptômes de façon ponctuelle et d'intensité variable. Or, lorsqu'un individu rapporte plusieurs de ces symptômes de façon persistante, et une altération du fonctionnement ou une souffrance marquée concomitante, un trouble tel que défini dans le DSM-IV est probablement présent [20]

6.2 Insomnie

L'insomnie compte également parmi les problèmes les plus fréquemment rapportés par les personnes atteintes de cancer [21]. L'insomnie peut référer à des difficultés à s'endormir lors du coucher, à rester endormi pendant la nuit ou à se réveiller trop tôt le matin sans retrouver sommeil. Elle peut également se manifester sous forme de plaintes d'un sommeil non réparateur et peut être accompagnée d'une altération du fonctionnement (ex., fatigue, perturbations de l'humeur, performance diminuée) ou d'une détresse marquée. Bien que l'insomnie puisse survenir de façon indépendante (insomnie primaire), elle peut également se développer au cours d'un autre trouble du sommeil (ex., apnée) ou d'un trouble psychopathologique (ex., dépression, anxiété) ou être liée aux effets physiques d'une substance (ex., caféine) ou d'une affection médicale (ex., cancer). Ces situations réfèrent alors à de l'insomnie comorbide.

6.3 Fatigue

Parmi les différentes difficultés associées au cancer, plusieurs auteurs affirment que la fatigue est le symptôme le plus fréquemment rapporté ([22]. ; [23]). Ce symptôme se définit comme étant subjectif et multidimensionnel, avec des manifestations physiques (ex., manque d'énergie), cognitives (ex., difficultés de concentration) et affectives (ex., diminution de la motivation; [24]; [25][26]). La fatigue peut également affecter le processus thérapeutique, dans l'optique où elle peut diminuer l'adhérence des patients aux traitements oncologiques [25]. Plusieurs études ont montré que la fatigue liée au cancer s'avère plus prévalente que celle retrouvée dans la population en général ([27]; [28]).

6.4 Douleur

La douleur est un phénomène multidimensionnel impliquant, entre autres, des facteurs physiques (ex., localisation, fréquence, sévérité), psychologiques (ex., symptômes dépressifs ou anxieux liés à la douleur), cognitifs (ex., signification de la douleur, croyances par rapport à la gestion de celle-ci) et sociaux [29]. La recension des écrits de Breitbart, Park et Katz (2010) souligne que la douleur associée au cancer est souvent sous-diagnostiquée et que des symptômes douloureux mal gérés sont un facteur de risque majeur pour les idées suicidaires et les passages à l'acte chez les patients atteints de cancer.

7. Les facteurs de risque

Un cancer n'est jamais le résultat d'une cause unique. Il faut un ensemble de facteurs, qui plus est, susceptibles d'interagir entre eux, pour que la maladie se développe. Un certain nombre de ces facteurs, externes et internes, ont été identifiés.

7.1 Les facteurs externes

Ils sont liés à l'environnement (rayonnements, virus, produits industriels...) ou au mode de vie (tabac, alcool, alimentation...). On a ainsi des preuves que les agressions répétées de l'ADN des cellules par certains produits chimiques, comme le tabac, ou par des rayonnements (d'origine nucléaire ou solaire) favorisent l'apparition de cellules cancéreuses. Des virus et des bactéries peuvent aussi être à l'origine de certains cancers comme celui du col de l'utérus relié au papillomavirus humain, celui du foie relié au virus de l'hépatite B ou encore celui de l'estomac relié à la bactérie *Helicobacter pylori*. En agissant sur ces facteurs externes (en ne fumant pas, en limitant sa consommation d'alcool, en évitant de s'exposer trop au soleil, en ayant une

alimentation saine et, lorsqu'il existe un vaccin adapté, en se faisant vacciner contre les virus à risque), on estime que 40% des cancers pourraient être évités .

7.2 Les facteurs internes

On peut citer parmi eux l'âge et l'hérédité :

1. Le vieillissement joue en effet un rôle fondamental. Même si les cancers peuvent apparaître à tout âge, ils sont beaucoup plus fréquents à partir de 60 ans. Cela est dû au cumul des agressions externes subies par les cellules et, probablement, à la moindre efficacité des mécanismes de réparation de l'ADN chez les personnes âgées. L'hérédité peut également jouer un rôle. Certaines personnes ont plus de risques de développer un cancer que les autres parce que, à leur naissance, elles portent déjà des mutations dans un ou plusieurs de leurs gènes, des mutations héritées de leurs parents et présentes dans toutes leurs cellules.
2. Tout se passe alors, comme si les cellules de ces personnes avaient déjà franchies plusieurs étapes pouvant conduire au processus de cancérisation. De fait, un nombre moins important de mutations acquises ultérieurement, lors du développement ou de la vie adulte, est alors nécessaires pour générer ce processus.

8. Les Traitements

Un système de stadification basé sur la taille de la tumeur, l'étendue de l'envahissement ganglionnaire et la présence de métastases à distance permet de classer la plupart des cancers. Les options thérapeutiques sont d'ailleurs en partie basées sur le stade. En ce sens, un traitement dit local est généralement envisagé pour les cancers débutants (c.-à-d., in situ, stade I), un traitement dit locorégional pour les cancers plus avancés (c.-à-d., stades II et III) et un traitement de type palliatif (c.-à-d., prolongeant la durée de survie en traitant les symptômes liés au cancer mais sans visée curative) pour les cancers avec métastases ou avancés (c.-à-d., stade IV). Outre le stade, le type de cancer, certains marqueurs biochimiques ainsi que l'âge et l'état de santé général du patient sont évidemment à considérer lors de la décision quant au(x) traitement(s) oncologique(s) choisi(s) [30] . La chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie .

8.1 La chirurgie

La chirurgie, qui permet d'enlever une tumeur localisée mais également de poser ou de confirmer un diagnostic, d'activité minimale ont été, par ailleurs, fixés pour la chirurgie des cancers du sein, des cancers digestifs, urologiques, thoraciques, gynécologiques, ORL et maxillo-faciales. Ce dispositif vise à assurer à toutes les personnes malades une prise en charge de qualité sur l'ensemble du territoire. La chirurgie a pour objectif de retirer la tumeur et d'évaluer sa gravité et son étendue. Les ganglions proches de la tumeur sont immédiatement analysés. Les techniques chirurgicales étant de moins en moins invasives, l'intervention préserve de plus en plus la partie atteinte en n'enlevant que la tumeur. Toutefois, cette pratique n'est possible que dans certaines localisations spécifiques et parfois ne permet pas de retirer toutes les cellules malades. Pour des petites tumeurs bien localisées, la coelioscopie par exemple permet d'effectuer de petites ouvertures et d'entraîner moins de complications post opératoires. Une simple ablation peut suffire pour certains cancers, comme celui de la peau évoluant lentement. Une intervention chirurgicale est le plus souvent suivie d'autres traitements comme la chimiothérapie ou la radiothérapie afin de prévenir les récurrences et l'apparition ou le développement des métastases.

8.2 La radiothérapie

Permet de détruire les cellules cancéreuses en les irradiant et en modifiant le patrimoine génétique des cellules, les empêchant ainsi de se développer. Elle peut être utilisée seule ou associée à la chirurgie et à la chimiothérapie.

La dose délivrée doit pouvoir provoquer des lésions suffisamment importantes de l'ADN des cellules cancéreuses pour qu'elles ne puissent pas les réparer. Comme la chirurgie, la radiothérapie a un inconvénient majeur qui provient de la difficulté à traiter des tumeurs localisées à des endroits difficiles d'accès sans endommager les organes qui les entourent. Elle ne se conçoit, pour être performante et sûre, que dans un environnement technique très important. Cet équipement comprend :

- Un scanner, pour bien repérer le volume tumoral et les organes critiques,
- Un conformateur, qui permet le tracé des contours cutanés dans des plans transverses ou sagittaux,

- Un simulateur, appareil de radiodiagnostic qui permet le centrage des faisceaux; il simule l'appareil de traitement en permettant de voir ce qui sera irradié par chaque faisceau,
- Un système informatique, pour faire la dosimétrie, c'est à dire visualiser la distribution spatiale de la dose et calculer les temps de traitement[31].

8.3 La chimiothérapie

La chimiothérapie consiste en une multitude de médicaments qui arrêtent la croissance des cellules cancéreuses ou les détruisent. Puisque ces médicaments sont injectés par voie orale ou intraveineuse et se diffusent dans pratiquement tout le corps, l'effet de la chimiothérapie est systémique (c.-à-d., général), comparativement à la radiothérapie et à la chirurgie, qui ont un effet local. Toutefois, à l'instar de la radiothérapie, la chimiothérapie peut être offerte comme traitement adjuvant à la chirurgie afin de supprimer un résidu de cellules cancéreuses ou de diminuer le taux de récurrence. Ce traitement anticancéreux est administré à des intervalles de trois ou quatre semaines (qu'on appelle « cycles ») sur une période approximative de six mois[32]. L'hormonothérapie est envisagée lorsque le cancer est dit hormonodépendant, ce qui signifie que les cellules cancéreuses dépendent des hormones pour proliférer, comme dans le cas de la majorité des cancers du sein et de la prostate. Pour empêcher la production d'hormones, il est possible de procéder à une résection des organes reproducteurs (ex., testicules ou ovaires) ou d'offrir une hormonothérapie pharmacologique ([33]; [34]).

9. PKB(AKT)

9.1 Définition

Les protéines kinases sont des enzymes qui catalysent la phosphorylation de substrats à partir d'adénosine triphosphate (ATP). L'ajout d'un groupement phosphate aux protéines constitue une modification importante puisqu'elle induit souvent l'activation ou l'inactivation du substrat, influençant ainsi de multiples mécanismes cellulaires [35]. Il existe plus de 500 kinases chez l'humain et elles jouent un rôle critique dans la régulation des signaux de transduction cellulaires. Ainsi, des mutations modifiant l'expression ou la fonction des protéines kinases causent une altération dans l'activation des voies de signalisations intracellulaires, et ceci constitue un mécanisme critique dans le développement de pathologies chez l'humain[36].

9.2 Structure et fonctions

La protéine AKT, appelée aussi protéine PKB (Protein Kinase B), est une sérine/thréonine kinase constituée d'un domaine PH amino terminal, d'un domaine catalytique central et d'un petit domaine régulateur contenant un motif hydrophobe en extrémité carboxyterminale. Chez les mammifères, il existe trois isoformes d'AKT (AKT1, AKT2 et AKT3) hautement conservées (plus de 80 % d'homologie de séquence), codées par trois chromosomes différents, le chromosome 14q32 pour AKT1, le 19q13 pour AKT2 et le 1q44 pour AKT3 [37].

AKT1 est l'isoforme présente dans la majorité des tissus tandis que AKT2 sera l'isoforme préférentiellement exprimée dans les tissus sensibles à l'insuline (tissus gras, muscle squelettique) et AKT3, dans le cerveau et les testicules[38].

Les trois isoformes partagent un site catalytique similaire avec plus de 80 kinases qui elles-mêmes sont régulées par des seconds messagers comme le calcium ou les phosphoinositides et qui sont aussi impliquées dans des voies de signalisation de la croissance cellulaire.

Le domaine PH d'AKT joue un rôle essentiel dans la translocation de la protéine vers la membrane plasmique puisqu'il a pour fonction d'interagir avec les produits de la membrane lipidique comme le PIP3 produit par la PI3K. Des études biochimiques ont révélé que ce domaine PH peut se fixer, avec la même affinité, sur le PIP2 et le PIP3 [39].

Le domaine kinase possède une haute similarité avec d'autres kinases comme la PKA et PKC (Protein Kinase A et C), les « Ribosomal protein S6 Kinase » p70S6K et p90RSK [40]. Ce domaine possède également un résidu thréonine en position 308, hautement conservé chez les mammifères, dont la phosphorylation est nécessaire pour l'activation de la protéine AKT. La région hydrophobique possède aussi un résidu conservé, une sérine en position 473, dont la phosphorylation est nécessaire pour l'activation complète d'AKT [41].

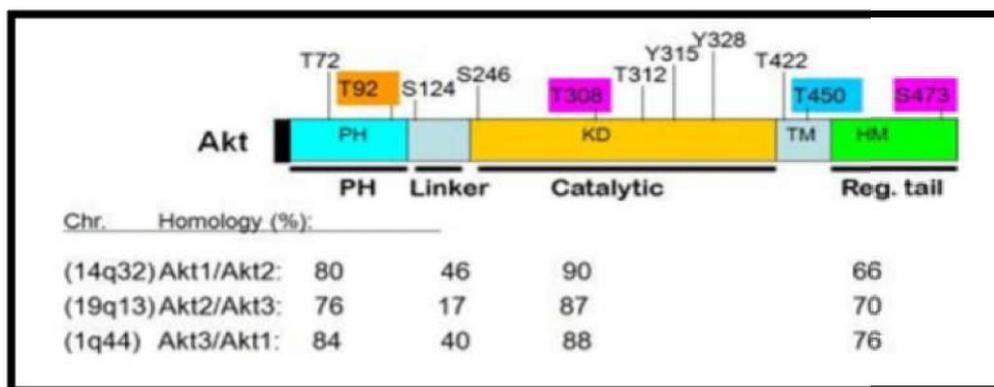


Figure I.3 : Représentation de la structure d'AKT [42]

9.3 Rôle de PKB

Les protéine-kinases sont des composants majeurs des voies de signalisation qui permettent aux cellules de répondre de manière adaptée à leur environnement. La phosphorylation des protéines représente un mécanisme de régulation contrôlant pratiquement tous les aspects de la vie cellulaire [43]. Cette réaction covalente est assurée par les protéines kinases, qui participent, au sein des réseaux, à l'intégration de signaux essentiels pour le contrôle de la division, de la différenciation et de la mort des cellules [44]. Les protéines kinases régulent l'activité transcriptionnelle, l'apoptose, la progression dans le cycle cellulaire et la prolifération, les réarrangements du cytosquelette, la différenciation, la mobilité cellulaire, etc [45].

Les kinases catalysent la réaction suivante :



Selon la nature du groupement phosphorylé sur la protéine (R-OH), ces enzymes sont classées en protéines sérine/thréonine kinases et en protéines tyrosine kinases. L'étude du génome humain a conduit à l'identification de 518 gènes de protéine kinase qui correspondent à environ 2% du génome humain. La famille des protéines kinases, incluant 385 sérine/thréonine kinases, 90 tyrosine kinases et 43 protéines proches des tyrosines kinases. Elle est, en taille, la seconde famille d'enzyme après celle des protéases .

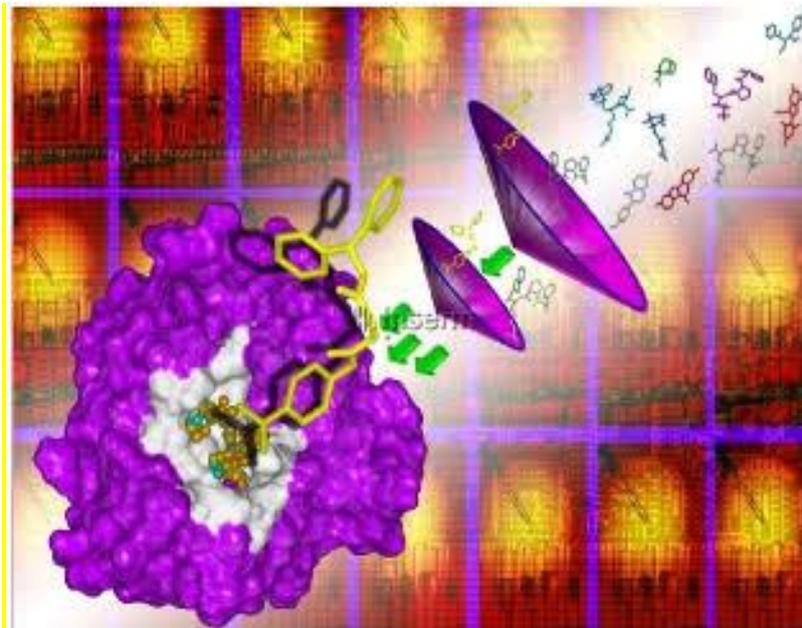
En raison de leur grande diversité d'actions, les protéines kinases doivent être rigoureusement régulées : l'activité aberrante de ces enzymes génère des maladies comme le cancer ou le diabète, mais aussi à des dysfonctionnements nerveux, cardiovasculaire, inflammatoires ou auto-immunitaires [46].

Il a été prouvé que la surexpression d'Akt1 joue un rôle anti-apoptotique dans de nombreuses cellules types [47]. Trois isoformes, à savoir Akt1, Akt2 et Akt3.

La famille des kinases Akt et chacune d'elles montre des schémas d'expression des tissus normaux et tumoraux [48]. Comme une isoforme de la famille Akt, On observe que Akt1 est indûment exprimé dans un large éventail de cancers humains, y compris les cancers du sein et des ovaires [49]. De plus, un régulateur négatif critique d'Akt1, appelé Phosphatase et homologue de tensine (PTEN), est avait tendance à être perdus ou mutés dans ces cancers [50]. Par conséquent, l'inhibition d'Akt1 a été reconnue comme une stratégie convaincante pour le traitement du cancer avec de plus en plus d'attentions y sont focalisées [51].

Chapitre II

ASPECTS THEORIQUES ET METHODOLOGIQUES



1. Drug –discovery

1. 1. Histoire de la découverte du médicament

La transmission des savoirs ancestraux médicaux, est depuis toujours un facteur déterminant de la découverte et de l'utilisation des médicaments. La publication rapide et mondiale des résultats scientifiques ont largement contribué aux nombreux succès de la recherche moderne de médicaments [52], pendant longtemps, principalement d'origine végétale aussi minérale et animale, étaient utilisées. Ces substances étaient sélectionnées par l'observation empirique de leurs effets sur le cours des maladies. De même, certaines substances naturelles traditionnelles sont toujours utilisées pour leurs vertus thérapeutiques [53].

Le processus de R&D de découverte de nouveaux médicaments, ou « drug -discovery », est extrêmement long et coûteux et regroupe l'ensemble des étapes aboutissant à la mise sur le marché du nouveau médicament. Ainsi, le temps s'écoulant entre la première étape, correspondant au choix d'une cible thérapeutique adéquate et pertinente, et la dernière étape qu'est la mise sur le marché d'un médicament [54].

A chaque étape, les procédés utilisés doivent donc être optimisés pour tenter de réduire le coût et la longueur des étapes, mais aussi en vue d'obtenir les molécules les plus actives possibles et les plus susceptibles d'aboutir à un médicament.

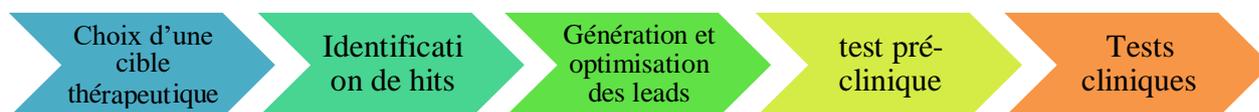


Figure II.1: Etapes du processus de recherche et de développement des médicaments.

1.2. Les étapes de processus de recherche

1.2.1 Choix d'une cible thérapeutique

Un médicament est défini par ses « propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies ». Le processus de découverte d'un nouveau médicament doit donc débuter par :

- ❖ la définition d'une maladie pour efficace.
- ❖ l'identification d'une cible biologique potentielle et la validation de sa pertinence.

Critères sont à prendre en compte pour définir le potentiel d'une entité biologique à devenir une bonne cible pour un médicament : son efficacité, sa sécurité [55].

1.2.2. Identification de hits

Une fois la cible identifiée et validée, l'étape suivante est logiquement de tenter de moduler ses effets pour le processus pathologique, et ceci par interaction avec des molécules. Des composés capables de tels effets sont appelés des touches ou « hits ». La recherche de hits se fait par criblage (ou « screening ») de larges banques de composés aussi appelées « chimiothèques », soit *in vitro*, le plus souvent grâce aux techniques d'HTS, soit *in silico* par criblage virtuel sur ordinateur.

1.2.3. Génération et optimisation des leads

Cette étape nécessite l'intervention des chimistes médicaux qui vont tenter à partir des hits précédemment identifiés, d'obtenir de nouvelles molécules que l'on qualifiera de têtes de séries ou « leads ».

Les leads : sont des composés qui sont plus actifs et plus sélectifs que les hits dont ils sont issus, tout en présentant des propriétés pharmacocinétiques optimales [56].

Pour obtenir ces leads, de vastes études de relation structure-activité (RSA) sont menées en faisant varier les structures chimiques des hits en gardant leurs squelettes de bases. Lors de ces études, les informations (activité, sélectivité, propriétés physico-chimiques,...) des composés nouvellement synthétisés sont comparés à celles des hits et permettent de guider la sélection de nouveaux leads [57]. Les approches bioinformatiques ont été développées pour assister ces études, les meilleurs leads seront ensuite optimisés en prenant garde de conserver les propriétés favorables d'activité et « drug-like » tout en tentant d'améliorer l'affinité, la sélectivité ainsi que la perméabilité.

1.2.4. Tests pré-cliniques et cliniques

Le rôle d'un chimiste au cours du processus R&D se limite dans les étapes précédemment décrites à identifier des médicaments candidats susceptibles de devenir un jour un médicament commercialisé [58]. Une fois les candidats identifiés, place aux tests précliniques et cliniques qui représentent les étapes les plus longues et les plus coûteuses, afin d'évaluer l'efficacité, la sélectivité et la sûreté de ces candidats. Les tests précliniques s'effectuent sur les animaux, *in vivo*, pour assurer une analyse du métabolisme, de l'absorption et de la distribution du médicament et permettre également d'obtenir plus d'informations toxicologiques dans le but de prédire ces effets secondaires et déterminer les dosages adéquats pour les essais cliniques. De nos jours, pour épargner des vies animales, ces tests sont réalisés *in vitro* en remplaçant les modèles animaux par des cellules humaines dérivant de différents tissus et organes [59]. Cette étape est très importante

puisque la poursuite ou non du développement des composés et leur entrée en phase clinique sont décidées à cette étape. Cette décision représente pour l'équipe de R&D une double prise de risque aux vues du grand coût financier de telles études mais aussi et surtout de la grande responsabilité incombée puisque les candidats médicaments vont être testés à l'échelle humaine. Les tests à échelle humaine appelés «tests cliniques», constituent l'étape la plus critique et la plus longue de tout processus de R&D. Cette étape se passe en plusieurs phases en évaluant l'efficacité du candidat médicament chez l'homme, ainsi que sa pharmacocinétique et sa sécurité d'emploi pour une éventuelle mise du médicament sur le marché. Dans une première phase, les tests sont effectués sur un faible nombre de volontaires sains pour s'assurer de la sécurité du médicament candidat en recherchant les effets secondaires qui apparaissent lors de l'administration croissante du candidat médicament et pour déterminer la dose minimale active et la dose maximale tolérable. Cette phase n'est pas autorisée quand il s'agit de molécules anticancéreuses et antibiotiques. Dans ces cas, les chercheurs passent directement à la phase II. Réalisée sur un groupe de patients malades pour évaluer l'efficacité (la biodisponibilité) du candidat, cette phase permet de déterminer la posologie du traitement et d'ajuster les dosages à prescrire en fonction des réponses obtenues des patients. Les premiers effets secondaires du médicament peuvent être également déterminés lors de cette phase, et si les effets secondaires sont trop importants le processus R&D est suspendu définitivement à cette phase. Par conséquent, seul un tiers des essais cliniques accèdent à la phase III. Celle-ci s'effectue sur une large population de malades et consiste à évaluer le potentiel thérapeutique réel du candidat médicament et établir le rapport bénéfices/risques. Les résultats sont ensuite comparés avec ceux d'un traitement de référence pour valider et confirmer l'efficacité du médicament [60]. A la fin de ces trois phases, toutes les informations et les résultats obtenus sont rassemblées dans un dossier déposé pour obtenir une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM), et seul un candidat médicament sur dix enteront en phase clinique obtient une AMM et est commercialisé. Une fois le médicament commercialisé, une dernière phase IV débute et des tests de surveillance ou de pharmacovigilance sont mis en œuvre. Le médicament administré à une large population pour révéler les effets secondaires (indésirables ou non) apparaissant plus tard dans la prise du médicament et inexplorés lors des phases précédentes pour garantir aux patients une plus grande sécurité d'utilisation [59].

2. Méthodes de criblages in silico

Le criblage virtuel, analogue in silico de l'HTS, peut schématiquement être assimilé à un entonnoir dans lequel on verse un grand nombre de composés, constituant la chimiothèques à cribler, pour obtenir, à l'aide d'un algorithme de criblage, un plus faible nombre de composés qui

seront ensuite testés expérimentalement. Le rôle des méthodes de criblage est donc d'éliminer les composés supposés inactifs ou les molécules indésirables tout en priorisant les composés les plus susceptibles d'être actifs [61].

Les méthodes basées sur la structure (ou « structure-based »), évaluent la capacité des ligands à établir des interactions avec le site de liaison étudié pour sélectionner les molécules capables de se lier à la cible. Les méthodes basées sur les ligands (ou « ligand-based ») peuvent pour leur part être mises en œuvre lorsque les valeurs d'activité pour la cible étudiée d'un ensemble de ligands sont disponibles. [62]

Les relations structure-activité de ces molécules sont alors analysées pour découvrir de nouveaux composés susceptibles d'être actifs [63]. Lorsque ces deux types de données sont disponibles simultanément, les méthodes « ligand-based » et « structure-based » peuvent toutes deux être utilisées l'une à la suite de l'autre. (**Figure II. 2**)

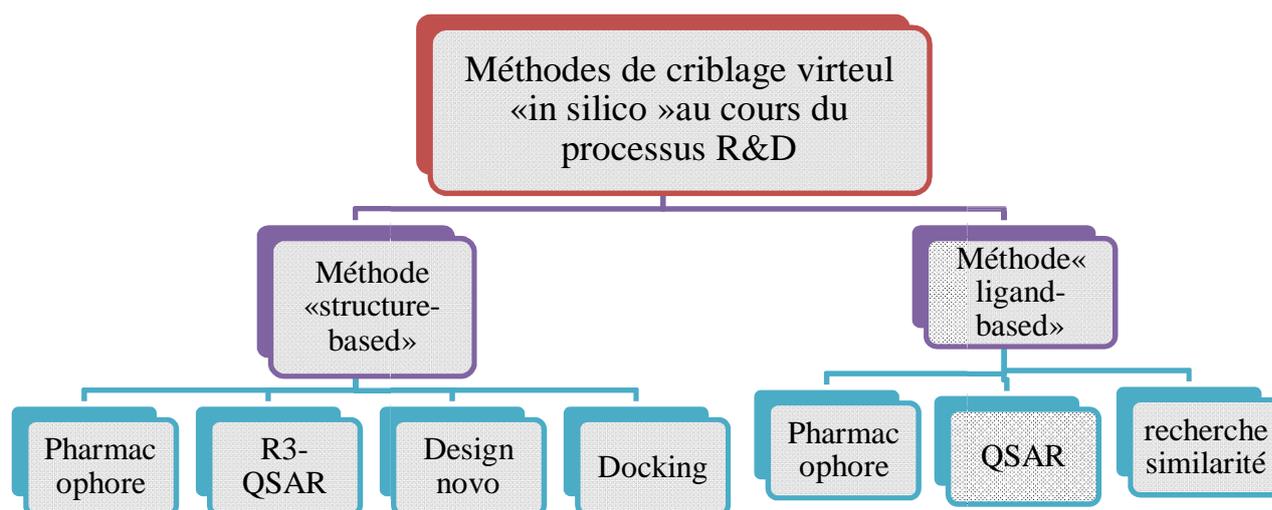


Figure II 2: Classification des méthodes de criblage virtuel « ligand-based » et « structure-based »

2.1. Criblage virtuel « ligand-based »

Un criblage virtuel « ligand-based » peut être réalisable, si au moins un ligand de la cible étudiée est déjà connu. L'hypothèse que les molécules similaires vont avoir tendance à présenter des profils d'activités très proches à similaires, est le principe de base de toute les méthodes « ligand-based ». Ce type de criblage très populaire est employé au cours de la phase d'identification de nouveaux hits et les phases d'optimisation des hits et des leads. Qui permet de rationaliser les processus de découverte de nouveaux composés, lorsque des données sont disponibles sur un ou plusieurs ligands actifs de référence.

2.2. Criblage virtuel « structure-based »

Le criblage virtuel « structure-based » est basé sur la structure de la cible en évaluant la capacité des ligands à établir des interactions avec le site de liaison étudié et ainsi sélectionner les molécules capables de se lier à cette cible [64].

Lorsque la structure 3D de la cible biologique d'intérêt est disponible, des méthodes dites basées sur la structure peuvent être employées. Il existe deux types de méthodes expérimentales pour obtenir la structure 3D d'une cible : la cristallographie aux rayons X et la résonance magnétique nucléaire (RMN). Comme leur nom l'indique, ces méthodes utilisent la structure de la cible pour découvrir de nouveaux composés actifs. Pour cela, différentes approches peuvent être employées : la construction de modèles pharmacophoriques basés sur la structure, l'établissement de modèles RD-QSAR, la conception *de novo* (ou *de novo* design) et les méthodes de docking qui sont les plus populaires. Toutes ces techniques nécessitent l'identification préalable du site de liaison.

3. Docking moléculaire

3.1. Définition

Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en oeuvre, moins cher et plus rapide. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée.

Le docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur [65].

3.2. Principe du docking

Le processus de docking moléculaire consiste à faire interagir un ligand avec le récepteur (généralement de nature protéique). La technique de docking comprend quatre étapes principales.

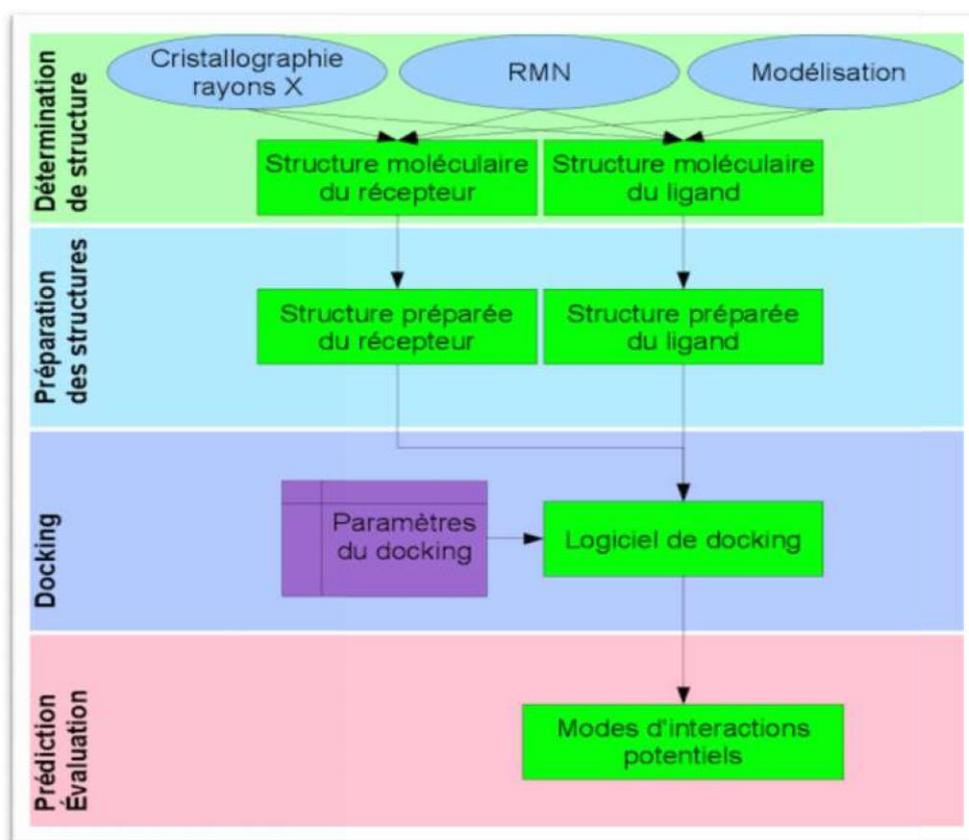


Figure II.3: Étapes typiques d'un docking.

3.2.1. Détermination des structures

Cette étape préliminaire du docking moléculaire est réalisée pour déterminer les structures moléculaires mises en jeu (le récepteur et le ligand). Ces structures sont obtenues en faisant appel à trois méthodes d'analyse (la résonance magnétique nucléaire (RMN), la microscopie électronique et la cristallographie par rayons X). Ces méthodes expérimentales permettent aujourd'hui de déterminer la structure des protéines [66].

3.2.2. Préparation des structures

La préparation du récepteur en vue du docking ne peut être réalisée qu'une fois les structures mises en jeu sont identifiées [67]. Il est indispensable de suivre les étapes ci-dessous pendant la préparation du récepteur qui sera utilisé pour le traitement du docking.

3.2.3. Docking moléculaire

Dans le domaine de la modélisation moléculaire, le docking est une méthode qui calcule l'orientation préférée d'une molécule vers une seconde lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable [68].

C'est-à-dire l'Echantillonnage de l'espace des configurations du complexe ligand-récepteur. La complexité de ce problème est fonction de plusieurs paramètres tels que : le nombre de degrés de liberté obtenus pour la translation et la rotation vis-à-vis des conformations de départ possibles du ligand. Dans notre cas nous avons choisi le « Molegro Virtual Docker (MDL) » comme logiciel pour la modélisation. Ce dernier il présente une plate-forme intégrée pour prédire - protéine ligand interactions qui permet de gérer tous les aspects du processus d'accueil la préparation des molécules, la détermination des potentiels sites des liaisons de la protéine cible, et la prévision des modes de liaison des ligands [69], On peut distinguer deux niveaux de docking :

- Le docking rigide est bien sûr le plus simple et demeure encore souvent employé pour l'amarrage protéine-protéine.
- Le docking flexible, traite la flexibilité des deux molécules, mais la flexibilité permise est limitée, simplifiée par des modèles. Afin d'éviter des calculs, que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants [67].

3.2.4. Prédiction et évaluation

Une fois les paramètres du docking moléculaire sont établis, le programme passe à l'étape de prédiction et d'évaluation. Celle-ci permet la mise au point des modes d'interactions potentiels. Cette étape est réalisée comme suit:

3.3. Algorithme de docking

En principe, un algorithme de docking doit être capable de générer les modes de liaison attendus pour des ligands. Pour cela, il est nécessaire que l'algorithme d'une recherche conformationnelle puisse explorer l'espace conformationnelle possible, de façon efficace et exhaustive. L'aptitude d'un algorithme à trouver l'emplacement correct du ligand par rapport à son récepteur est habituellement déterminée au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (Root-Mean-Square Deviation) du modèle conçu par le logiciel avec les coordonnées cartésiennes (x_{pose} , y_{pose} , z_{pose}) et ceci vis-à-vis les coordonnées cartésiennes de la structure du cristal ($x_{cristal}$, $y_{cristal}$, $z_{cristal}$). L'écart RMSD est donné par l'équation suivante:

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_{cristal} - x_{pose})^2 + (y_{cristal} - y_{pose})^2 + (z_{cristal} - z_{pose})^2} \quad \text{Eq. 1}$$

La valeur admise est une différence maximale de deux angströms au-delà de laquelle la prédiction est considérée comme non adéquate [70]. En général, les erreurs de Docking sont dues à un échantillonnage insuffisant ou à une fonction de score inadéquate.

3.4. Fonctions de score

La fonction de score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique est le suivant (Eq. 2) [71].

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protiene}} \quad \text{Eq. 2}$$

L'établissement d'une bonne fonction de score est un important problème du docking. Il arrive souvent que la solution évaluée comme étant la plus probable ne soit pas la forme native attendue. Ceci peut être dû au fait que le complexe natif n'est pas forcément celui qui présente la plus grande surface d'accès, ou encore le plus grand nombre de liaisons hydrogène disponibles. Pour cela il existe différents types de fonctions de score selon les critères sur lesquels celles-ci sont basées. L'affinité chimique peut être calculée par l'énergie libre de Gibbs ΔG pour une température T [72] .(Eq .3)

$$\Delta G = -RT \ln K_{eq} \quad \text{Eq.3}$$

Avec : R est la constante des gaz parfaits et K_{eq} est la constante d'équilibre. Ces fonctions de score sont généralement classées en quatre familles:

- les fonctions de score basées sur un champ de force.
- les fonctions de score empiriques.
- Les fonctions de score type knowledge-based
- les fonctions de score consensus.

3.4.1. Fonctions de score basées sur un champ de force

Les fonctions de score basées sur un champ de force calculent, par mécanique moléculaire, l'énergie d'interaction du complexe et l'énergie interne du ligand. fait appel au champ de force de

Triplos, et Auto Dock [73] à celui d'AMBER. Les interactions entre récepteur et ligand comprennent souvent des termes de Vander Waals et électrostatiques [74].

3.4.2. Fonctions de score empiriques

Les fonctions de score empiriques sont utilisées pour interpréter l'énergie d'interaction d'un complexe récepteur-ligand à partir d'une équation de sommation d'interactions chimiques localisées [75]. Ce type de fonction est basé sur la régression multiple pour ajuster les coefficients de fonctions selon la physique du système. Ajustement à partir d'un jeu de données de complexes récepteurs-ligands avec des affinités mesurées [76]. Les fonctions de score empiriques contiennent usuellement des termes décrivant les interactions ioniques, interactions hydrophobiques, les ponts ou liaisons hydrogène et les interactions engendrées par le changement d'entropie. La plupart des logiciels de docking utilise ce type de fonction à cause de son efficacité de point de vue rapidité et précision. Cependant, leur principal inconvénient est leur forte dépendance aux données de paramètre calibration [77].

3.4.3. Les fonctions de score type knowledge-based

Ces fonctions proviennent de l'analyse des structures tridimensionnelles de complexes ligand-protéine déterminés expérimentalement. Des règles définissant la géométrie préférentielle des interactions sont déduites de ces structures grâce à des moyens statistiques [78]. Ces fonctions statistiques, dépendent de leurs groupes d'apprentissage, elles ne peuvent modéliser que les interactions qui existent dans leurs bases de données expérimentales. Par conséquent, avec ce type de fonctions, il est difficile de modéliser les interactions qui ne dévient pas trop de leur modèle. L'un des potentiels les plus simples est le PLP (Piecewise Linear Potential). Il est basé sur quatre types d'atomes et prend en compte les interactions stériques et les ponts hydrogènes. Les distances interatomiques sont prises en compte en dessous de 5 Å [79]. Les fonctions de score type knowledge-based ont été utilisées avec succès dans des études d'amarrage de différentes cibles protéiques et ont montré une certaine amélioration dans la prédiction des modes de liaison corrects et le classement des complexes protéine-ligand par rapport aux fonctions de notation empiriques et celles basées sur le champ de force [80].

3.4.4. Fonctions de score consensus

L'idée principale de ces fonctions est combiner les informations obtenues à partir des différents scores obtenus et qui sont insuffisants des autres. Plusieurs études ont montré que les énergies libres des complexes sont performées par ces fonctions, ainsi les interactions protéine-ligand

mieux que les fonctions individuelles. Un exemple de fonction de score consensus est X-CSCORE qui combine un PMF, et ChemScore. Le tableau suivant récapitule les avantages et les désavantages des différentes fonctions de score [81].

3.5. Les logiciels de docking

Les logiciels les plus fréquemment cités dans la littérature sont : AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK. Un logiciel de docking moléculaire est bon si et seulement si sa fonction de score est bonne.

3.5.1. Auto Dock

Auto Dock emploie les méthodes Monte-Carlo, le Recuit Simulé et l'algorithme génétique Lamarckien (LGA) pour créer un ensemble de conformations possibles. Les orientations possibles sont évaluées par le modèle AMBRE de champ de force en conjonction avec les fonctions de score d'énergie libre et un grand ensemble de complexes de protéine-ligand avec des constantes connues [73].

3.5.2. DOCK

Le DOCK est l'un des logiciels de docking ligand-protéine les plus anciens et les plus connus. La version initiale utilise des ligands rigides, la flexibilité a été incorporée plus tard par l'intermédiaire de la construction par incrémentation du ligand dans la poche de liaison. Le DOCK est une méthode basée sur des fragments qui utilise les méthodes de complémentarité chimique et de forme pour créer des orientations possibles pour le ligand. Ces orientations peuvent être scorées en utilisant trois fonctions de score différentes [82].

3.5.3. FlexX

FlexX est une autre méthode basée sur des fragments en utilisant des ligands flexibles et des protéines rigides. Il utilise la base de données d'angle de torsion de MIMUMBA pour la création des conformations. Le MIMUMBA est une base de données géométrique d'interaction employée pour décrire exactement les formes d'interaction intermoléculaires [83].

3.5.4. GOLD

GOLD a gagné une grande popularité chez les utilisateurs pendant ces dernières années en raison de ses bons résultats dans l'essai impartial, cependant il trouve des difficultés dans le traitement

des poches des liaisons hydrophobes. GOLD utilise l'algorithme génétique pour fournir un docking du ligand flexible et une protéine avec des groupes d'hydroxyle flexibles [84].

4. Interaction protéine-ligand

Le fonctionnement des systèmes biologiques est basé sur de remarquables mécanismes d'assemblage et de reconnaissance impliquant des interactions moléculaires non-covalentes de faible énergie. Les messages biologiques qui sont intégrés dans leur structure ne peuvent s'exprimer que par l'intermédiaire d'interactions spécifiques qui s'établissent, de façon souvent réversible, avec d'autres partenaires de choix. Le problème qui se pose pendant l'ancrage du ligand au sein de la protéine (docking) est la prédiction de la conformation et l'orientation du ligand relative au site actif de la protéine cible. À chaque protéine cible de structure connue le docking se révèle être la clé dans le design de nouveaux médicaments [85].

De nombreux type d'interaction non covalente, ont été mis en évidence dans les complexes protéine- ligand. Parmi les interactions qui peuvent exister entre le ligand, qui est considéré comme une petite molécule organique, et la protéine on cite celles de type polaire (liaisons hydrogène, liaisons ioniques) et celles de type hydrophobe qui résultent d'un contact entre des groupements hydrophobe.

4.1. Interaction ionique

Les interactions entre molécules portant des charges électriques sont régies par la loi de Coulomb. L'énergie potentielle d'interaction de deux charges électriques Q_1 et Q_2 séparées par une distance d est obtenue en calculant le travail nécessaire à la séparation de ces deux charges à une distance infinie .L'énergie potentielle (V) de deux molécules de charges différentes est exprimée par (Eq.4)

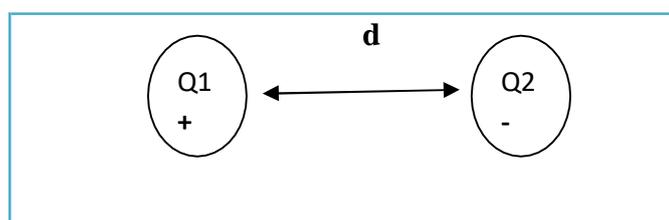


Figure II.4 : Interaction entre deux molécules de charges différentes.

$$V = \frac{Q_1 Q_2}{4\pi\epsilon_0 d} \quad \text{Eq 4}$$

Avec :

ϵ_0 : permittivité du vide.

ϵ : permittivité du milieu dans lequel évoluent les charges.

d : distance entre les deux charge.

En milieu aqueux, les acides aminés chargés sont majoritairement exposés à la surface de la protéine et sont donc très solvatés, ce qui réduit considérablement l'interaction entre les charges.

4.2. Interaction hydrogène

La liaison hydrogène est une liaison chimique non covalente de type dipôle-dipôle entre deux molécules ou entre deux groupements d'une molécule. Elle consiste essentiellement dans l'interaction entre deux molécules dont l'une possède un atome donneur d'électrons (O) et l'autre possède un atome H accepteur d'électrons. Ce type de liaison résulte d'un transfert partiel d'un électron célibataire sur le groupement H. Les liaisons hydrogène peuvent être intramoléculaires ou intermoléculaires [86].

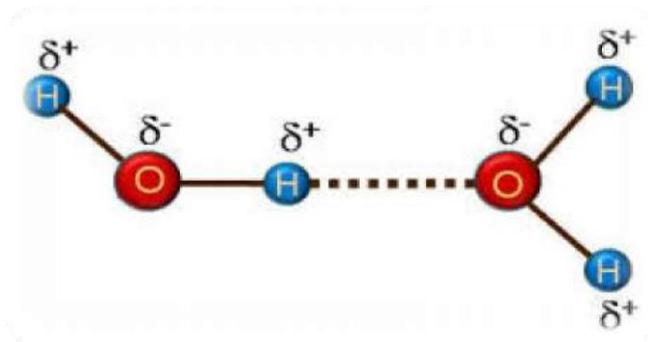


Figure II.5. Exemples d'une liaison hydrogène

Les liaisons hydrogène jouent un rôle très important en chimie et en biochimie. Ce sont des liaisons qui donnent à l'eau ses propriétés particulières, comme la capacité des molécules H₂O à s'associer en grandes structures. En outre, elles jouent le rôle de stabilisateur de la structure secondaire des macromolécules biologiques. Les liaisons hydrogènes sont plus fortes que les liaisons de Van der Waals ; leurs énergies sont estimées entre 3 et 9 kcal/mol.

4.3. L'interaction de Van der Waals :

Ce sont des interactions entre atomes, molécules, ou entre une molécule et un cristal. Ces interactions Van Der Waals s'appliquent à très courte distance et ne concernent donc que les atomes de surface .Elles sont nombreuses et contribuent essentiellement dans la recherche de la concordance stérique entre le ligand et la protéine réceptrice. [87]

4.4. Les interactions hydrophobes

Sont des chaînes organiques saturées ou aromatiques non polaires ayant très peu d'affinité pour l'eau. Ils ont tendance à se positionner de manière à présenter la plus faible surface de contact avec l'environnement aqueux.[88]

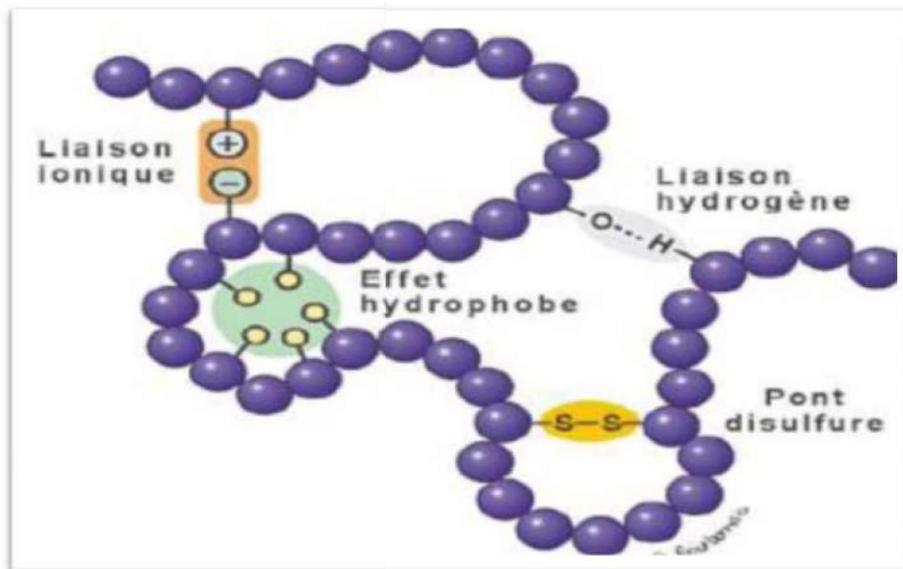


Figure II.6. Exemples d'une liaison hydrophobes

5. Filtrage ADME-Tox

Les échecs dans le développement de médicaments étaient principalement la conséquence de mauvaises performances pharmacocinétiques. Ce problème a été en grande partie résolu grâce à l'utilisation d'un filtrage précédant l'utilisation des chimiothèques, réduisant les taux d'échec dans les phases de développement [89].

Les filtres par ADME-Tox (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination et Toxicité) sont rapidement devenus populaires. Ils reposent sur plusieurs critères déterminant les propriétés pharmacocinétiques potentielles des molécules et sont désormais largement utilisés pour réduire le nombre de composés d'une chimiothèque en sélectionnant les plus aptes à devenir des candidats médicaments, avant tout processus de criblage. L'utilisation de ces filtres a donné de très bons résultats.

Absorption

L'absorption est le processus par lequel le médicament inchangé passe de son site d'administration à la circulation générale. La voie d'administration du médicament influence cette première phase : la voie intra-veineuse est la voie de référence puisque par définition, à la différence des autres voies (orale par exemple) toute la dose administrée atteint la circulation générale.

La distribution

La distribution est fonction de la capacité du médicament à franchir les barrières qui séparent les différents compartiments de l'organisme et à s'y accumuler ou à en être exclu. Ceci implique le passage de barrières membranaires qui peuvent être franchies par diffusion passive ou par l'action de transporteurs.

Métabolisme

Le terme de métabolisme fait référence à la transformation, par une réaction enzymatique d'un médicament en un ou plusieurs autres composés actifs ou inactifs au plan pharmacologique. De nombreux tissus peuvent réaliser cette transformation (peau, poumon, rein, intestin...). Néanmoins le principal site de biotransformation est situé au niveau hépatique, dans les enzymes des microsomes.

Elimination

Elimination se définit comme le volume de plasma contenant la quantité de médicament éliminée par unité de temps. Si, stricto sensu, la clairance d'un médicament peut être le résultat de n'importe quelle voie d'élimination, les éliminations hépatique et rénale sont, habituellement, les deux principales à prendre en compte dans l'étude des médicaments.

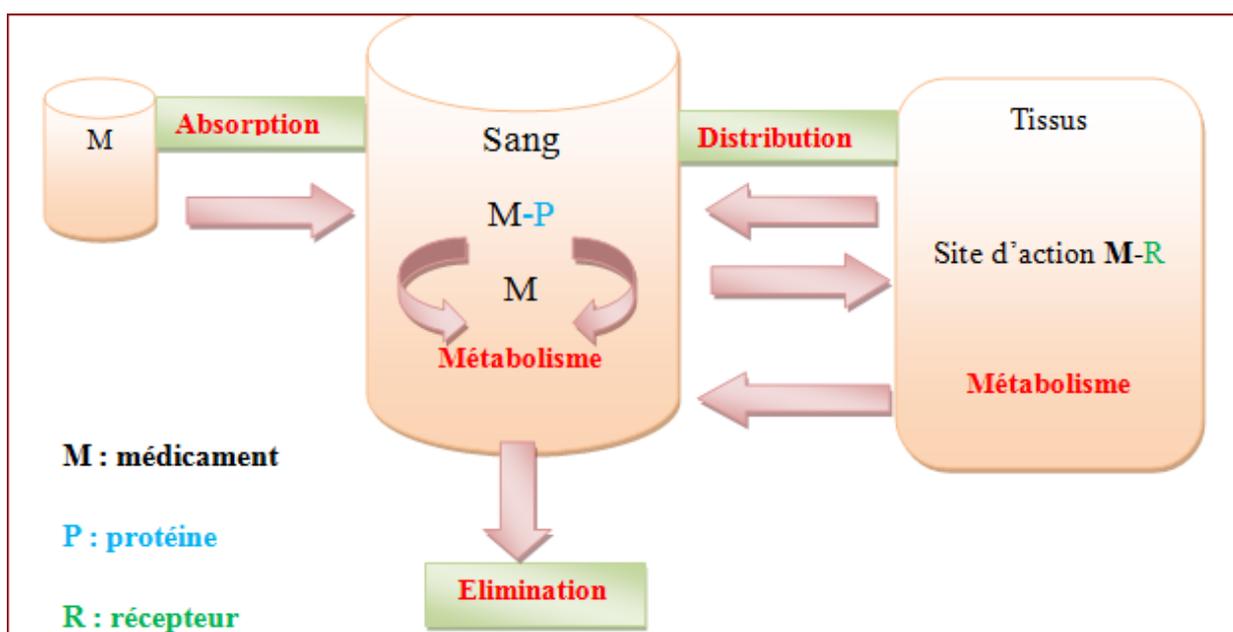


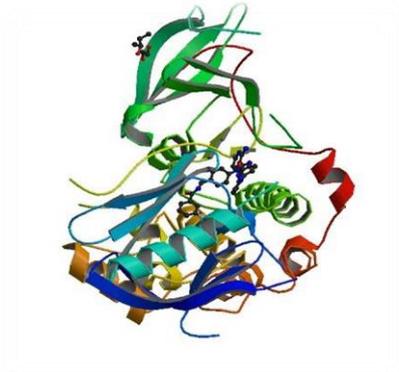
Figure II.7: Représentation schématique de devenir d'un médicament dans l'organisme.

Toxicologie

La toxicité d'un candidat-médicament est l'un des paramètres les plus redoutés par les développeurs, surtout lorsqu'il entre en phases cliniques. En effet, un candidat-médicament présentant des effets secondaires graves lors des phases cliniques est immédiatement abandonné, et ce généralement de manière définitive. Il est donc très important de tenter de prédire la toxicité d'un composé à partir de sa structure lors des phases précoces de développement R&D. La toxicité peut être classifiée selon l'organe affecté ou selon le mécanisme de toxicité [90]

Chapitre III

RESULTATS ET DISCUSSIONS



1. Introduction

La modélisation moléculaire est le terme générique regroupant les méthodes qui permettent de simuler le comportement d'un système de particules, elle exploite des lois de la chimie, de la physique et de la biologie dans des programmes informatiques spécifiques afin de calculer structures et propriétés d'entités chimiques et biochimiques (protéines, acides nucléiques, complexes moléculaires, solides, cristaux etc.) [91].

L'action d'une molécule dans une protéine est gouvernée par des principes de reconnaissance mutuelle entre la molécule et sa cible. C'est dans ce contexte que s'inscrit le docking moléculaire [92]. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire le plus souvent une protéine (cible) et d'une petite molécule (ligand).

Le développement de nouveaux médicaments : le mécanisme d'action de nombreux médicaments consiste à agir comme inhibiteur (ligand) d'une enzyme (récepteur) impliquée dans le développement de la maladie, que ce soit une protéine d'un microorganisme pathogène ou d'un organisme humain. L'élucidation de la structure tridimensionnelle de protéines impliquées dans plusieurs pathologies a permis, via des simulations informatiques, la découverte d'inhibiteurs puissants pour ces protéines, en réduisant considérablement le nombre d'essais de screening nécessaires pour aboutir à un nouveau médicament [93].

Le profil ADME-tox d'une molécule est l'ensemble des paramètres caractérisant sa biodisponibilité dans l'organisme, c'est à dire, son absorption, sa distribution, son métabolisme, son excrétion et sa toxicité. La démocratisation du criblage *in silico* a entraîné la nécessité de modèles ADME-tox pour éliminer rapidement les composés ayant les propriétés physicochimiques les moins similaires avec les médicaments disponibles sur le marché (qui ne sont pas « drug like ») [94].

Le but du Docking moléculaire est de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou de plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur [95].

Dans ce chapitre on a expliqué les interactions entre les inhibiteurs et l'enzyme (PKB) par les méthodes du docking moléculaire. En outre, quatre composés ont été filtrés selon l'énergie MolDock Score, ensuite, on a étudié l'évaluation des paramètres ADMET.

2. Docking moléculaires

Les outils de modélisation moléculaire sont particulièrement performants pour l'étude au niveau atomique d'interactions entre deux entités moléculaires (l'enzyme et l'inhibiteur pour former un complexe stable) et ce type d'étude fait appel le plus souvent aux techniques de « Docking Moléculaire » [96].

Notre étude portera sur l'interaction entre le site actif de l'enzyme (PKB) et les inhibiteurs pour former un complexe stable. Les interactions est réalisée à l'aide du logiciel "Molegro Virtual Docker (MVD)" [97] voir le protocole (**Figure III.1**).

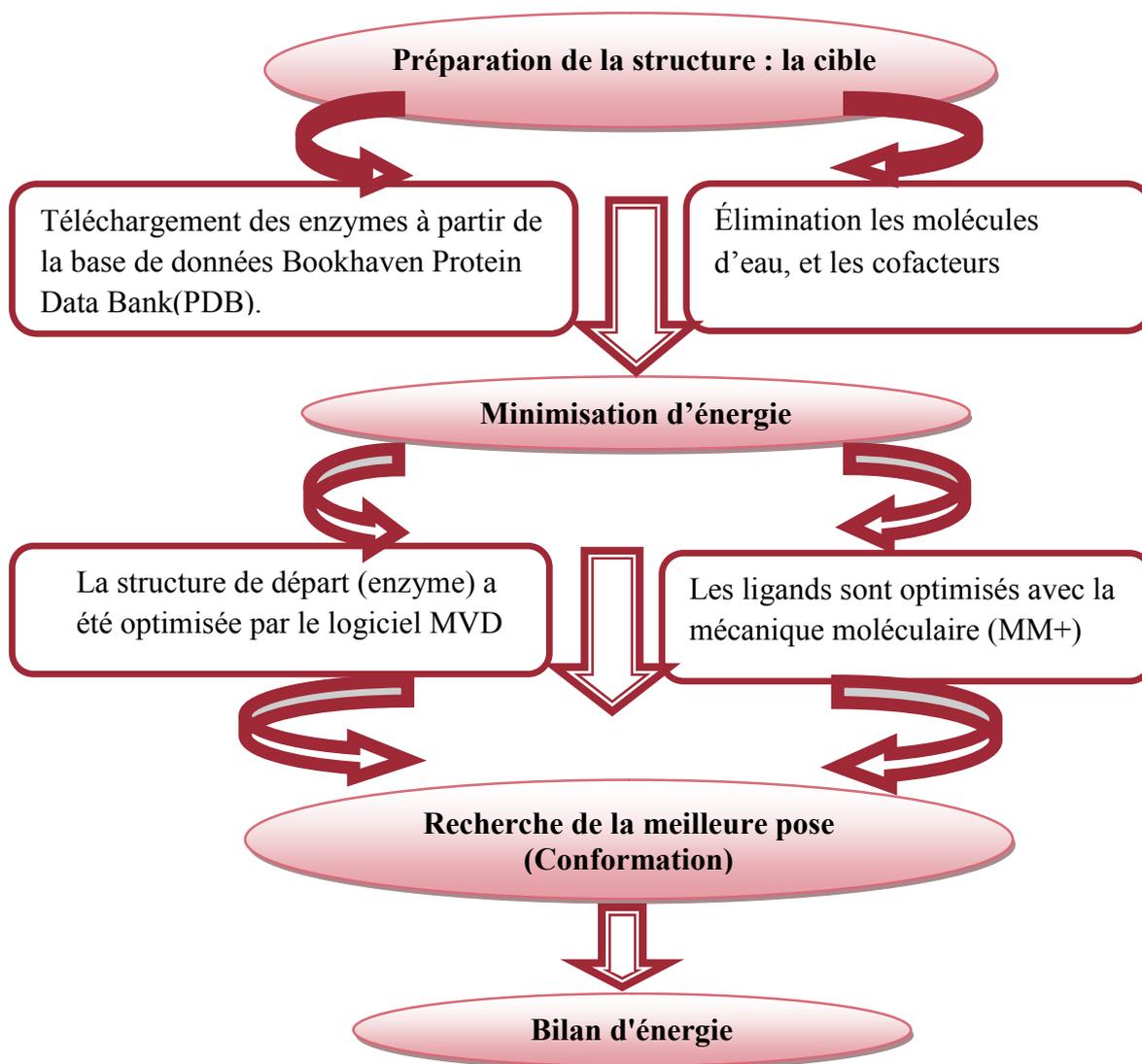


Figure III.1: Protocole de calcul.

3. Méthodologie des calculs

3.1. Préparation de l'enzyme

L'enzyme utilisée dans cette partie est la protéine kinase B, cette dernière a été téléchargée à partir d'une base de données RCSB Protein Data Bank [98] avec le code d'accès 4EJN voir (**Figure III.2**).

La structure tridimensionnelle de la protéine kinase B (PKB) a été obtenue par diffraction aux rayons X à haute résolution (2.19Å°). Structure cristalline de la forme auto-inhibée de l'AKT1 dans un complexe avec N-(4-(5-(3-acétamidophényl)-2-(2-aminopyridin-3-yl)-3H-imidazo [4,5-b] pyridin-3-yl) benzyl)-3-fluorobenzamide. On a éliminé les molécules d'eau et les cofacteurs pour obtenir un modèle simple de l'enzyme.

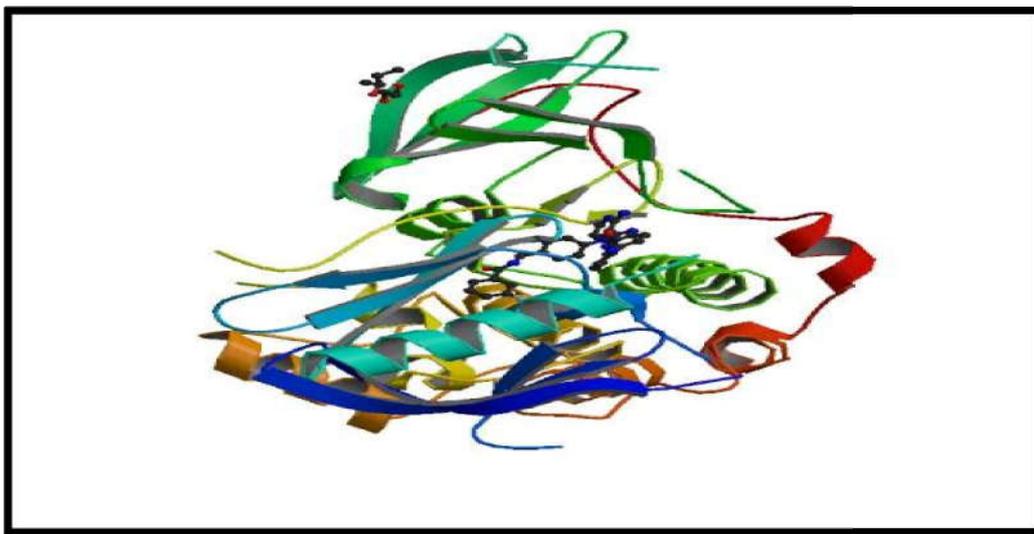
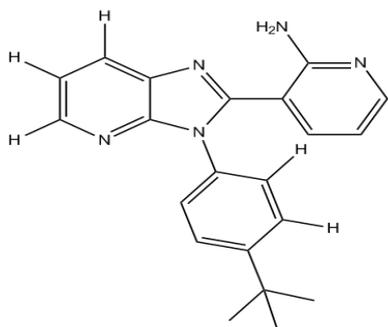


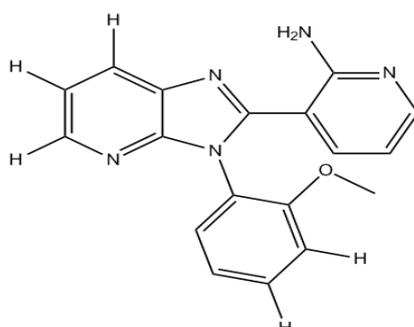
Figure III.2 : Structure de l'enzyme PKB Code PDB (4EJN)

3.2. Préparation des ligands:

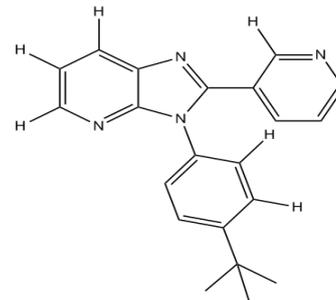
Les inhibiteurs utilisés pour notre travail sont des dérivés imidazopyridine (44 molécules) [99]. Les ligands (inhibiteurs) sont dessinés en utilisant le logiciel chemDraw ultra (12.0). L'optimisation de la géométrie des ligands a été effectuée à l'aide du champ de forces (MM+) implanté dans le logiciel Hyperchem8.0 [100] version professionnelle pour déterminer la conformation la plus stable.



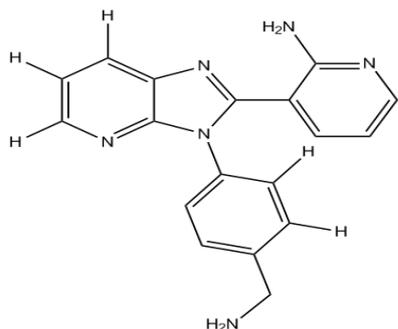
1



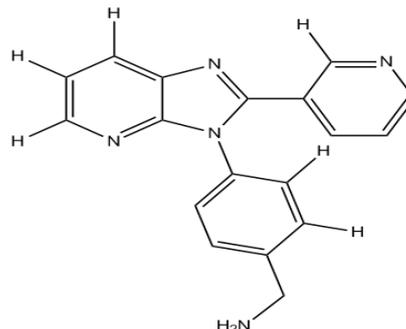
2



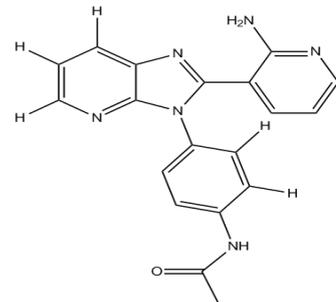
3



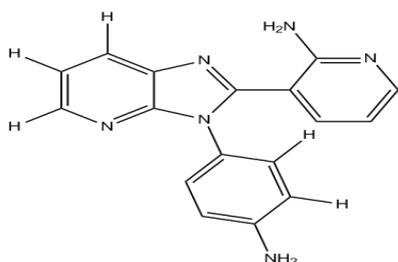
4



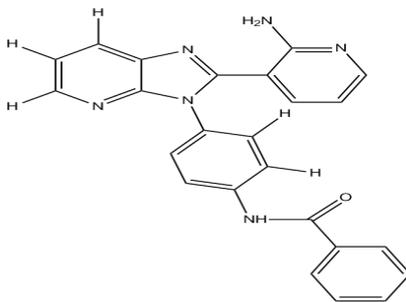
5



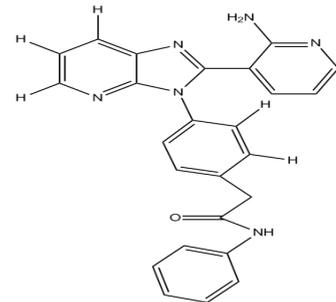
6



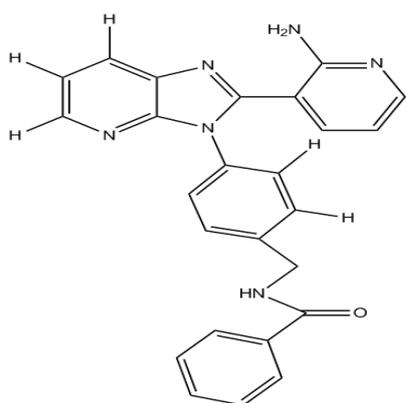
7



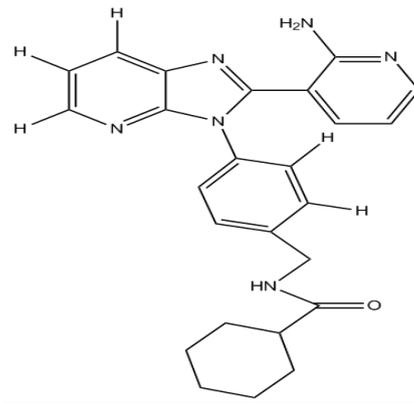
8



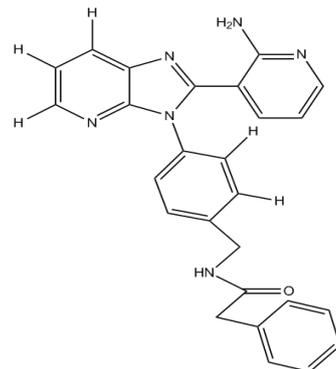
9



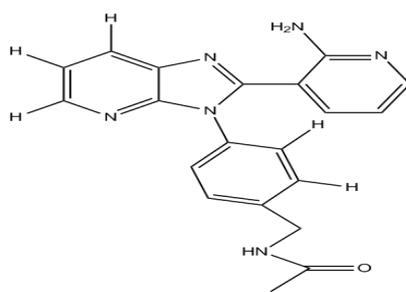
10



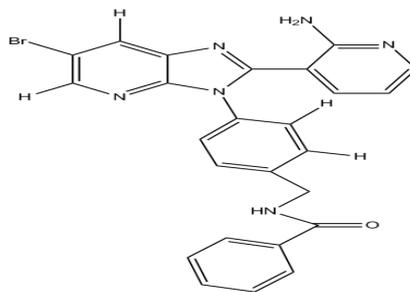
11



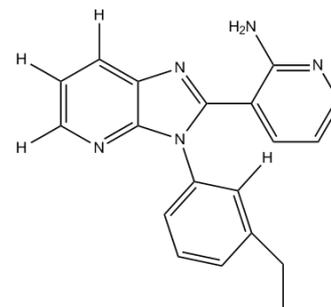
12



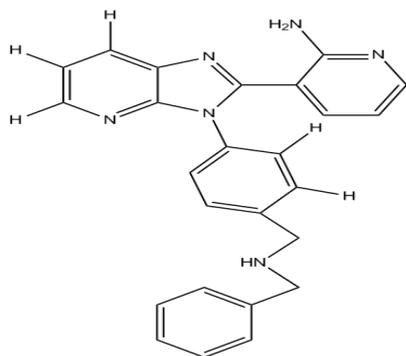
13



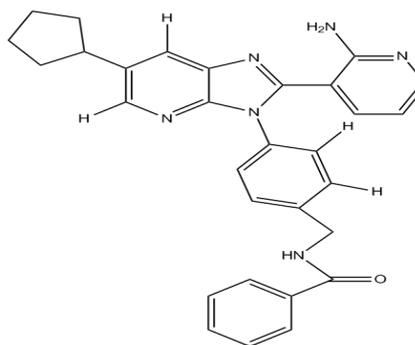
14



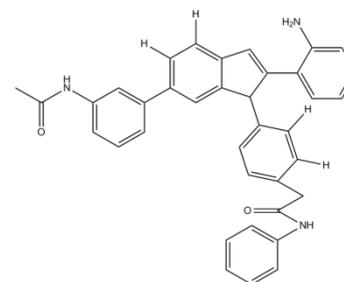
15



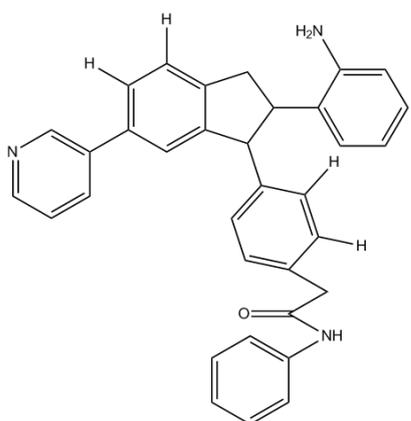
16



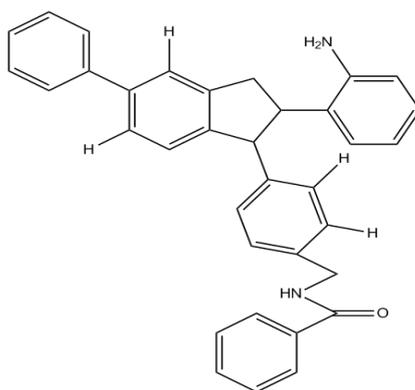
17



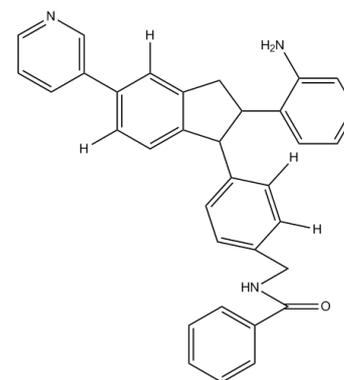
18



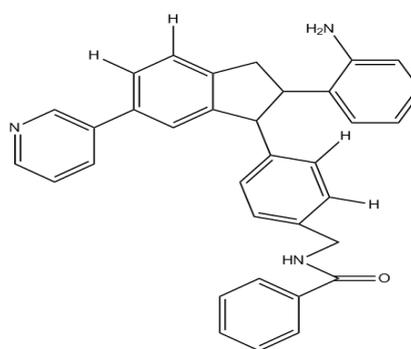
19



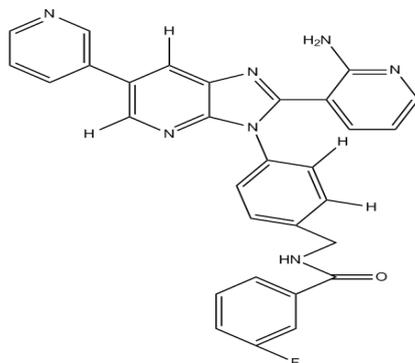
20



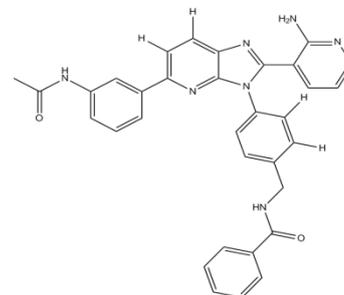
21



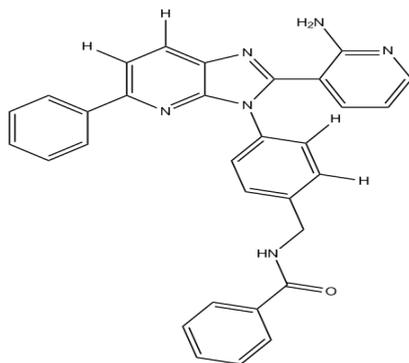
22



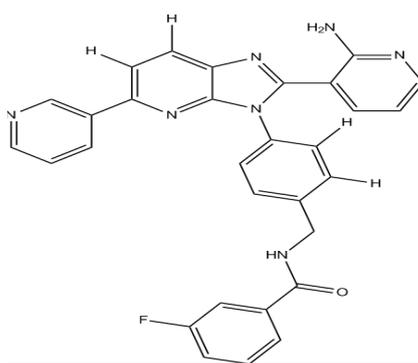
23



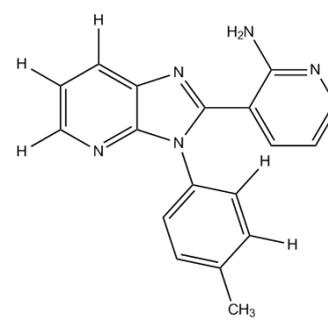
24



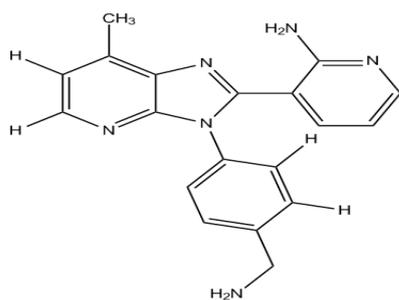
25



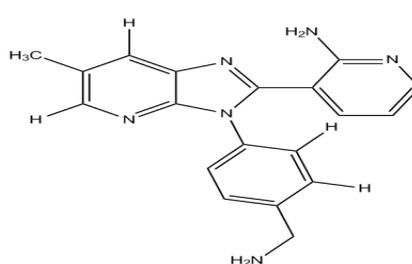
26



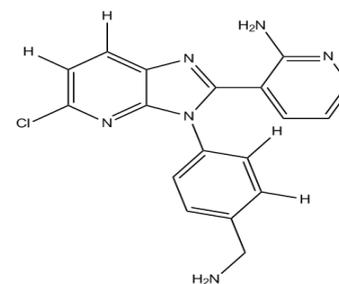
27



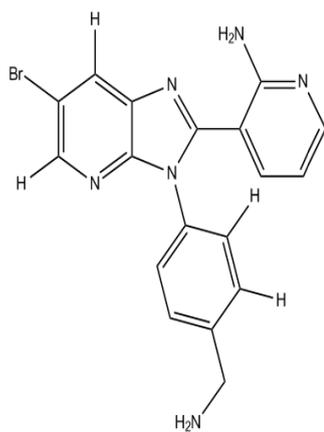
28



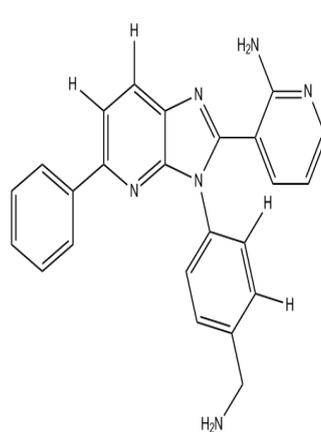
29



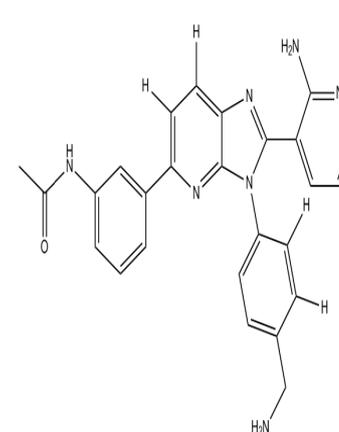
30



31



32



33

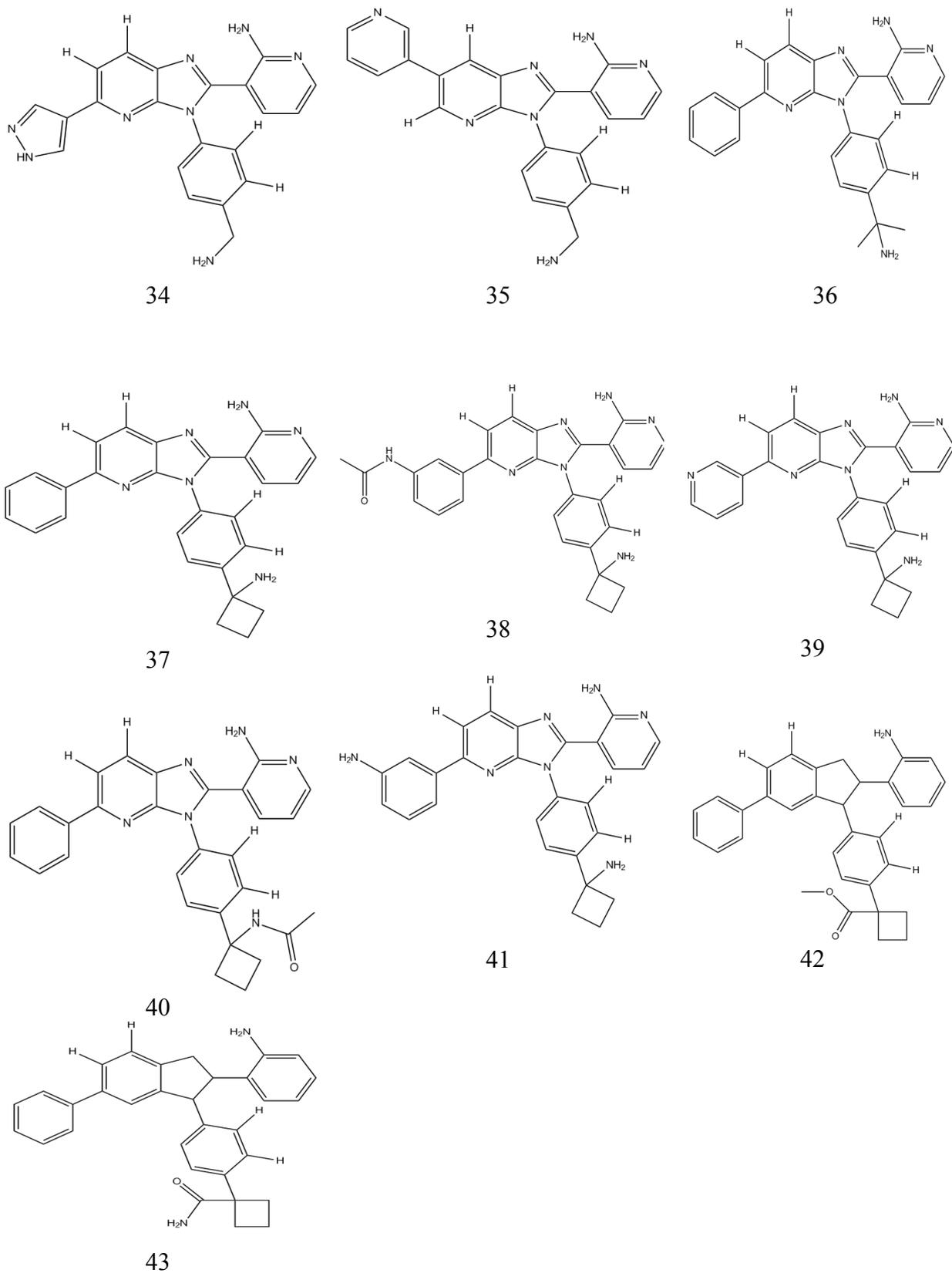


Figure III.3 : Structures chimique des ligands étudiés.

3.3.Détection des cavités :

Les cinq cavités ont été détectées dans l'enzyme PKB par logiciel MVD (voir la **Figure III.3**).Le volume et la surface des cavités sont représentés dans le tableau **III.1**

Tableau III.1 : Le volume et la surface des différentes cavités.

Cavités	Volume (Å ³)	Surface (Å ²)
Cavité 1	443.392	1172.48
Cavité 2	83.968	302.08
Cavité 3	83.456	299.52
Cavité 4	74.24	234.24
Cavité 5	51.2	194.56

Nous avons choisi la cavité 1 (**Figure III.4**), les coordonnées de sphère $x=28.84$, $Y=43.96$, $Z=20.42$ et la taille:13, dans laquelle on réalise le docking moléculaire. Cette cavité couvre le ligand de référence (Co-cristallisé) et aussi possède un volume important par rapport aux autres cavités.

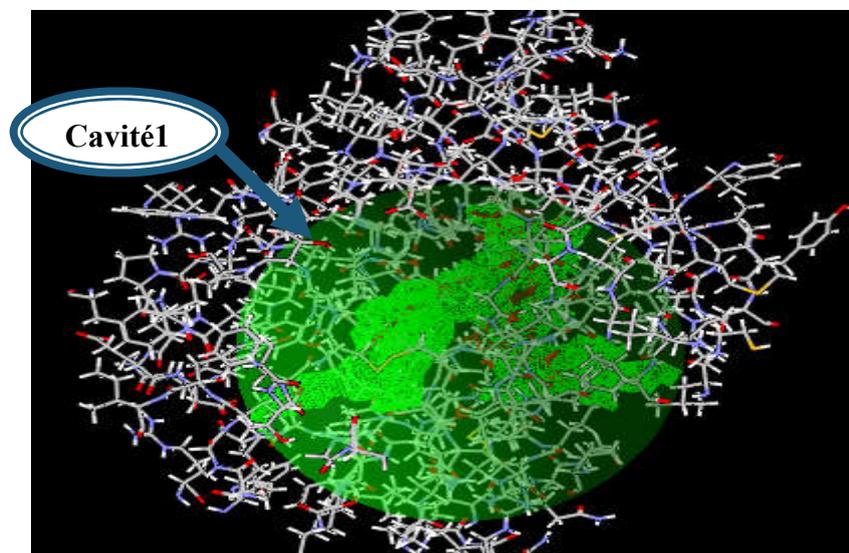
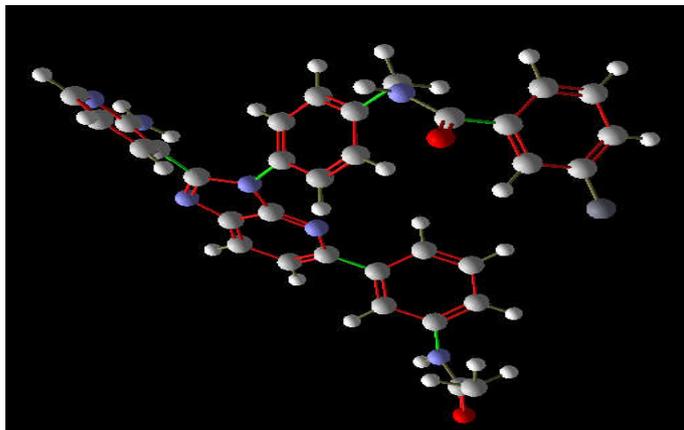


Figure III.4 : Illustration de l'espace de recherche.

Dans notre étude l'interaction entre le PKB et les ligands (c'est-à-dire formation du complexe) s'effectue dans le cas d'un ligand flexible (souvent) (figure III.5) et une protéine cible rigide (rarement), ceci explique que lorsqu'on a un ligand a trop de degré de

liberté (plusieurs angle de dièdres) signifie qu'il y a plusieurs possibilité de fixation du ligand sur le site actif.



— : Liaisons rigides au cours de docking moléculaire

— : Liaisons flexibles au cours de docking moléculaire

Figure III.5 : Flexibilité de ligand

3.4 Énergie d'interaction

Les énergies d'interactions entre l'enzyme(PKB) et les ligands sont calculées au cours de Docking moléculaire. Elles sont regroupées dans **le Tableau III.2** marqué par l'énergie totale, l'énergie d'interaction totale et l'énergie de liaison hydrogène de chaque ligand.

Tableau III.2 : Résultats de docking moléculaire des ligands avec la cavité 1

Cavite 1				
Ligands	E Totale	E inter totale	E inter stérique	H Bond
L1	-137.552	-158.68	21.0899	-3.68181
L2	-122.128	-138.867	16.7396	-3.4454
L3	-124.207	-151.445	26.1767	-2.36177
L4	-122.212	-135.885	13.6446	-2.38664
L5	-124.386	-136.776	15.6768	-5.89038
L6	-139.006	-156.609	17.603	-3.99167
L7	-127.574	-149.26	21.6859	-6.39515

L8	-157.63	-181.887	24.2575	-3.57816
L9	-160.506	-167.761	5.75017	-3.90618
L10	-165.016	-187.95	21.5462	-1.20319
L11	-165.757	-191.173	23.4077	-1.87366
L12	-165.608	-196.491	29.8967	-2.7155
L13	-174.046	-191.155	14.6391	-0.831176
L14	-165.121	-190.483	26.4646	-4.51216
L15	-177.607	-191.849	13.6301	-4.7823
L16	-165.665	-190.63	15.9601	-3.83989
L17	-161.343	-187.811	25.727	-1.80675
L18	-190.527	-218.976	24.4935	-2.15336
L19	-210.356	-200.904	-10.3368	-4.01811
L20	-185.481	-203.693	16.3346	-2.97452
L21	-181.667	-197.34	13.4685	-7.123
L22	-191.539	-203.514	8.25248	-2.33124
L23	1873.56	-200.6	71.9065	-4.98559
L24	-222.742	-229.884	6.95808	-2.70484
L25	-204.116	-213.801	9.2998	-2.74451
L26	-208.793	-219.405	9.93965	-2.5
L27	-138.464	-138.828	0.364062	-3.66443
L28	-142.877	-142.788	-0.0948924	-5.63822
L29	4880.43	-147.585	27.9981	-6.09865
L30	-148.17	-148	-0.183069	-6.24446
L31	-149.289	-148.741	-0.551642	-5.25926
L32	1896.77	-164.114	59.3938	-4.50307
L33	-187.027	-192.984	5.95534	-6.98351
L34	-167.919	-161.584	-6.39238	64.9331
L35	-152.766	-166.375	13.5621	-6.36416
L36	-147.333	-173.495	25.9946	-3.87484
L37	-158.552	-191.785	31.8198	-4.16432
L38	-185.604	-212.716	28.5857	-5.07476
L39	-169.426	-198.45	27.5265	-2.5

L40	-166.952	-199.871	28.603	-3.9132
L41	-160.658	-191.678	30.2965	-3.91119
L42	-157.292	-195.285	35.9003	-8.28342
L43	-151.798	-195.819	40.0804	-4.10948
Lref	-202.514	-232.455	-3.85038	19.4414

H Bond : Liaison d'hydrogène.

MolDock Score : Énergie de la somme d'interaction externe et interne de ligand (interaction protéine-ligand)

E inter totale : Énergie d'interaction protéine-ligand total

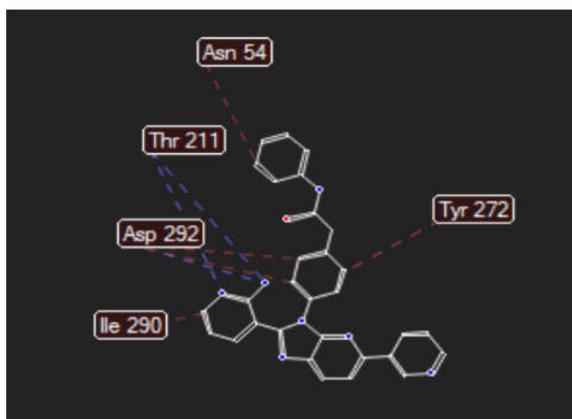
E inter stérique : Énergie d'interaction protéine-ligand stérique

D'après les résultats obtenus, les ligands **L20**, **L24**, **L25**, **L26**, possèdent des énergies (MolDock Score) le plus faible par rapport aux autres ligands.

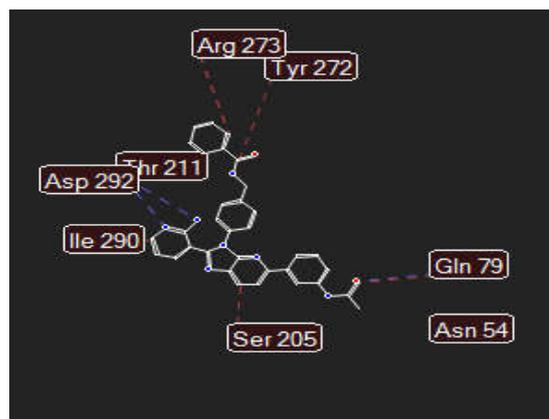
Tableau III.3 : Les interactions des complexes L19, L24, L25, L25 et LRéf

Ligands	MolDock Score	E inter totale	E inter stérique	H Bond
L19	-210.356	-200.904	-10.3368	-4.01811
L24	-222.742	-229.884	6.95808	-2.70484
L25	-204.116	-213.801	9.2998	-2.74451
L26	-208.793	-219.405	9.93965	-2.5
Lréf	-202.514	-232.455	-3.85038	19.4414

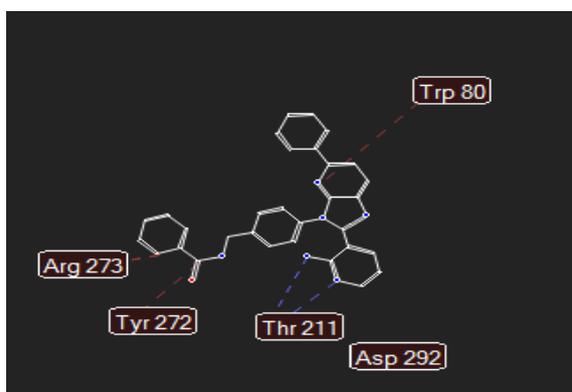
Le complexe ligand-récepteur est formé, celui-ci va adopter la conformation la plus stable, c'est à dire avec le niveau énergétique le plus faible.



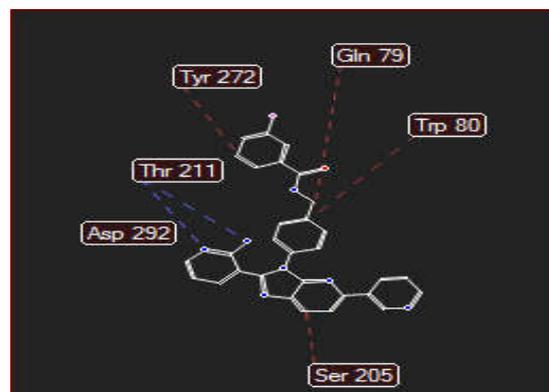
L19



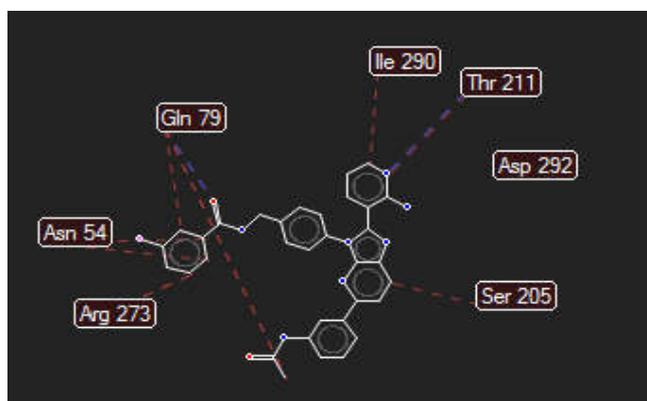
L24



L25



L26



L réf

-----: Interactions stériques

-----: Interactions des liaisons hydrogène

Figure III.6 : Interactions hydrogène et stériques entre les ligands et les acide amines de la cavité 1.

Les distances mesurées entre les résidus de site actif et les quatre ligands sont regroupés dans les tableaux suivants :

Tableau III.4: Distances des liaisons hydrogène et stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand **L19**.

L19	Les Résidus d'acides aminés	Distance Å°	Force
Interaction hydrogène	Thr211-----N	3.06	-2.50
	Thr211-----N	3.06	-2.50
	Asp292-----N	2.94	2.19
Interaction Stérique	Asp292-----C	3.00	1.83
	Asp292-----C	2.87	2.63
	Ile290-----C	2.84	2.82
	Trp272-----C	2.99/2.92	1.87/2.29
	Asn54-----C	2.72	3.54

Tableau III.5: Distances des liaisons hydrogène et stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand L24.

L24	Les Résidus d'acides aminés	Distance A°	Force
Interaction hydrogène	Thr211----N	2.61	-2.50
	Thr211----N	3.18	-2.80
	Gln79----O	3.10	-2.50
Interaction Stérique	Tyr272----C	2.98	1.95
	Arg273----C	2.94	2.20
	Ser205----C	3.18	0.75
	Glu79----C	3.00	1.83

Tableau III.6 : Distances des liaisons hydrogène et stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand L25.

L25	Les Résidus d'acides aminés	Distance A°	Force
Interaction hydrogène	Thr211----C	3.00	-2.50
	Thr211----C	3.37	-1.13
Interaction Stérique	Arg273----C	2.94	2.18
	Tyr272----C	2.89	2.51
	trp80----C	3.08	1.31

Tableau III.7: Distances des liaisons hydrogène et stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand **L26**.

L26	Les Résidus d'acides aminés	Distance A°	Force
Interaction hydrogène	Thr211-----N	2.79	-2.50
	Thr211-----N	3.45	-0.75
Interaction Stérique	Trp80-----C	3.18	0.74
	Gln79-----C	2.42	5.34
	Tyr272-----C	3.11	1.17
	Ser205-----C	3.18	0.71

Tableau III.8: Distances des liaisons hydrogène et stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand **Lref**

Lref	Les Résidus d'acides aminés	Distance A°	Force
Interaction hydrogène	Thr211-----N	3.14	-2.29
	Gln79-----O	2.60	-1.86
Interaction Stérique	Ile290-----C	2.80	3.03
	Gln29-----C	2.73	3.47
	Gln29-----C	3.09/3.17	1.27/0.76
	Asn54-----C	2.99	1.91
	Asn54-----C	2.27	1.98
	Asn54-----C	3.07/3.11	1.37/1.12
	Ser205-----C	3.05	1.53

D'après les résultats obtenus (les tableaux III.4 .5.6.7.8) , on basé sur les liaisons d'hydrogènes, nous remarquons que le ligand L19 établit 3 liaisons d'hydrogène avec les résidus d'acides aminés Thr211, Thr211 , ASP292 aux distances respectives 3.06, 3.06, 2.94 Å, ensuite le ligand L24 forme 3 liaisons hydrogène avec Thr211, Thr211 et Gln79 aux distances respectives de 2.61, 3.8 et 3.10 Å.

Le ligand L25 a montré 2 liaisons d'hydrogènes avec le résidu d'acide aminé Thr211 aux distances de 3.00 et 3.37 Å. Le ligand L26 forme 2 interactions de liaisons hydrogène avec le résidu d'acide aminé Thr211 par les distances 2.79 et 3.45 Å.

Le ligand LRéf a montré 2 liaisons d'hydrogènes avec le résidu Thr211 et Gln79 aux distances de 3.14 et 2.60 Å.

Les ligands L19 et L24 contiennent des liaisons hydrogène plus élevées par rapport au ligand de référence.

D'après Anne Imberty et col, les intervalles des valeurs des interactions ayant des distances de la liaison d'hydrogène sont comme suite [101] :

-[2.5 Å-3.1 Å] sont considérés comme fortes complexes.

-[3.1 Å -3.55 Å] sont supposées comme moyennes complexes.

-supérieures à 3.55 Å sont considérées comme faibles complexes

Les distances entre les résidus du site actif et les L19 varient entre 2.72 Å et 3.06 Å est considérés comme fortes complexes et les distances entre les résidus du site actif et les L24, L25, L26 varient entre 2.61 et 3.37 Å expliquent l'existence de la formation des complexes stables, et par la suite, une meilleure fixation de ces ligands au niveau du site actif.

4. ADME-tox.

4.1. Drug likeness prédiction :

Drug likeness est un concept qualitatif utilisé dans la conception de médicaments pour déterminer le degré de "drug like" d'une substance par rapport à des facteurs tels que la biodisponibilité. Il est estimé à partir de la structure moléculaire avant même que la substance ne soit synthétisée et testée [102]. Les caractéristiques déterminent la pharmacocinétique du médicament par étude propriétés de l'ADME (absorption, distribution, métabolisme et excrétion). Les propriétés physico-chimiques des ligands liées au caractère médicamenteux ont été calculées par Molinspiration [103], et sont présentées dans le Tableau III.9.

Tableau III.9 : Propriétés physico-chimiques des ligands

Ligands	Log p	Mw	noN	noHNH	nviolati on	Tpsa	n rotatable
L19	4.33	497.56	8	3	0	111.62	6
L24	4.20	553.63	9	4	1	127.83	7
L25	5.01	496.57	7	3	1	98.73	6
L26	4.08	515.55	8	3	1	111.62	6
Lréf	4.34	571.62	9	4	1	127.83	7

logP(ou logP) : Coefficient de partition calculé.

Mw : Poids moléculaire.

noHNH : Nombre de donneurs de liaisons H.

no N : Nombre d'accepteurs de liaisons H.

TPSA : La surface polaire.

n rotatable : Nombre de liaisons rotatives.

On peut avoir à travers le Tableau III.9 que tous les ligands ont des valeurs de logP inférieurs à 5 donc ils ont une bonne solubilité dans l'eau, une élimination efficace par les reins et une bonne perméabilité à travers la membrane cellulaire, sauf L25 est supérieur à 5.

Le poids moléculaire des ligands L19, L25 ayant des valeurs inférieures à 500 Da, donc ils traversent facilement les membranes cellulaires, mais les ligands L24, L26, Lréf sont des poids moléculaires supérieurs à 500 Da.

Nous pouvons également voir dans le (tableau III.9) que tous ces composés ont des nombre accepteurs d'hydrogène inférieurs à 10, et nombre donneurs d'hydrogène inférieurs à 5.

Les résultats suggérant que ces composés théoriquement n'auraient pas de problèmes avec la biodisponibilité orale.

Tous les ligands ont des valeurs de TPSA inférieures à 140 \AA^2 ce qui montre la bonne prédiction de la biodisponibilité orale et le transport à travers les membranes.

Les valeurs de nombre de liaisons rotatives des ligands sont inférieures à 10, donc tous les ligands sont capables de présenter une activité biologique sans avoir des problèmes d'absorption par voie orale.

La drug likeness est une méthode traditionnelle pour évaluer la drug, c'est étude la plus connue consiste à vérifier la conformité de dans ce domaine la règle de Lipinski et règle de Veber, et autre règles tel que:

❖ L'indice mondial des médicaments (WDI):

Cette mesure est basée sur des composés qui ont des propriétés moléculaires dans la limite supérieure de 90% trouvée dans le WDI (World Drug Index).

❖ Drug Data Report (MDDR):

MDDR est la base de données des médicaments a supprimé les groupes fonctionnels réactifs. Les règles de type MDDR sont: nombre de bagues ≥ 3 , liaisons rigides ≥ 18 , liaisons rotatives ≥ 6 .

❖ Chimie médicinale complète (CMC) :

La règle de type CMC est similaire à la règle de cinq. Il est défini le caractère drug like pour la base de données CMC, qui est supprimé de plusieurs classes de composés tels que les agents d'imagerie diagnostique, les solvants et les aides pharmaceutiques. Dans cette

étude, la plage de qualification du log P calculée est comprise entre 1.3 et 4.1, le poids moléculaire (230-390), la réfractivité molaire (70-110), le nombre total d'atomes (30-55).

❖ Règle de type plomb (leads like rule):

Règle de type plomb est l'identification et l'optimisation des composés du plomb en tant que points de départ chimiques sont très importantes en chimie combinatoire. La règle de type plomb est défini pour envisager la conception de bibliothèques avec des propriétés physico-chimiques drug like.

❖ La règle de Lipinski :

La règle de Lipinski de cinq (RO5) est utilisée pour évaluer la vraisemblance médicamenteuse d'un composé chimique. L'activité orale d'un composé médicamenteux est prédite en calculant certains paramètres suivants : $\text{Log P} \leq 5$, masse moléculaire ≤ 500 Da, accepteurs de liaisons $H \leq 5$ et donneurs de liaisons $H \leq 5$

❖ Les règles Veber :

Les règles Veber suggèrent que le nombre de liaisons rotatives doit être inférieur à 10 et la surface polaire (TPSA) du composé doit être inférieure à 140 \AA^2 . La réduction de la flexibilité moléculaire et la faible surface polaire sont des prédicateurs importants de la bonne biodisponibilité orale [104].

Les résultats de drug-likeness [105] dans le tableau III.10 suivant :

Tableau III-10: Les résultats Drug-likeness des ligands par PreADMET

Drug likeness					
Ligands	La règle CMC-like-	La règle Lead-like-	La règle MDDR-like-	La règle de Lipinski	La règle WDI-like
L19	Not qualified	Violated	Mid-structure	Suitable	Out of 90% cutoff
L24	Not qualified	Violated	Drug-like	Suitable	Out of 90% cutoff
L25	Not qualified	Violated	Drug-like	Suitable	Out of 90% cutoff
L26	Not qualified	Violated	Drug-like	Suitable	Out of 90% cutoff
L _{réf}	Not qualified	Violated	Drug-like	Suitable	Out of 90% cutoff

D'après les résultats de tableau2, les ligands sont qualifiés à la règle de Lipinski (Rule of five), et la règle CMC -like-rule. Tandis que tous les ligands sont montrés similaires à la drogue (Drug-like) à la règle comme MDDR. Sauf L19 est une structure intermédiaire (Mid-structure). Cependant, tous les ligands sont qualifiés à la règle de WDI pendant qu'ils étaient hors de la gamme de coupure (90%).

4.2 ADME Prédiction (absorption, distribution, métabolisme, l'excrétion, et de toxicité):

Le filtre par ADME-tox d'une molécule est l'ensemble des paramètres caractérisant sa biodisponibilité dans l'organisme, c'est à dire, son absorption, sa distribution, son métabolisme, son excrétion et sa toxicité. Lorsque la voie d'administration orale est choisie, l'absorption du médicament se fera par la muqueuse intestinale, soit par diffusion passive, soit par transport actif. Une fois dans l'organisme, la molécule va être dégradée en métabolites. Ce processus est déterminant sur plusieurs points [106] comme : Pgp inhibition, perméabilité de la peau, MDCK, Caco-2 cell (nm sec-1), HIA (%) et PPB(%). Les études pharmacocinétiques ADMET des ligands L19, L24, L25, L26 et Lréf ont été effectuées en utilisant le serveur en ligne PreADMET. Les paramètres de l'absorption, distribution, métabolisme et toxicité sont présentés dans les tableaux III.11, tableau III.12 et tableau III.13 respectivement.

Tableau III.11 : Résultats des propriétés d'absorption et de distribution des ligands

Ligands	Absorption				Distribution		
	HIA (%)	Caco-2cell(nm sec-1)	MDCK	skin perméabilité	Pgp inhibition	BBB (%)	PPB (%)
L19	96.538	23.535	0.058	-2.393	Inhibiteur	0.017	100
L24	95.959	22.238	0.045	-2.808	Inhibiteur	0.016	95.649
L25	96.980	26.785	0.051	-2.096	Inhibiteur	0.024	97.054
L26	96.532	24.005	0.061	-2.713	Inhibiteur	0.041	92.8357
Lréf	94.6686	21.789	0.044	-3.0726	Inhibiteur	0.256	89.7176

HIA: Human Intestinal Absorption.

Caco-2 cell(nm sec-1) : la perméabilité des cellules.

MDCK (ouPMDCK) : perméabilité à cellules de Maden Darby Canine Kidney.

BBB: Blood-Brain Barrie.

PPB : Plasma Protein Binding

L'absorption peut être conçue en termes simples comme le processus de déplacement d'un médicament d'un site d'administration extravasculaire dans la circulation systémique. Ce processus est en effet très complexe et dépend des nombreux paramètres dont d'absorption intestinale humaine (HIA) peut prévoir les pour cent d'absorption l'intestin humain (% de HIA) et le paramètre des cellules Caco-2 employé pour déterminer la perméabilité du composé, des paramètres des cellules, caco-2 ont été étendus 4-70 nm/sec comprenant perméabilité moyenne, l'absorption et l'attache de protéine de plasma (%PPB) est employé pour déterminer la valeur d'une drogue est disponible lié pour la diffusion ou le transport à travers les cellules de membrane et % de valeur de PPB moins de 90% y compris le produit chimique faiblement lié.

Notre valeur de prédiction de HIA a montré des résultats similaires, tous les ligands sont bien absorbés. Une plus grande valeur de HIA indique le composé pourrait être mieux absorbé de la région intestinale sur l'administration par voie orale .Ensuite les valeurs de caco-2 obtenus entre 4 et 70 nm/sec, donc tous les ligands a montré une moyenne perméabilité.

Les valeurs de PSkin sont négatives, donc tous les ligands sont imperméables à la peau. Aussi les valeurs de PPB étaient de 89.71% à 100,00%, donc les ligands sont très fortement liés, et le Blood-Brain Barrie.BBB (CBrain/CBlood) qui est des valeurs plus grandes que 1 (CBrain/CBlood> 1) sont considérés active dans le CNS peut causer des effets collatéraux et des composés ayant des valeurs moins de 1 (CBrain/CBlood<1) sont classifié comme ligand inactif dans le CNS. Alors tous les ligands ayant des valeurs moins de 1 (CBrain/CBlood<1) étant considéré inactif dans le CNS.

Tableau III.12 : Résultats des propriétés métabolisme des ligands

Métabolisme						
Ligands	Cyp-2C19- inhibition	Cyp-2C9- inhibition	Cyp-2D6- inhibition	Cyp- 2D6- substrate	Cyp-3A4- inhibition	Cyp3A4- substrate
L19	Non	Inhibiteur	Non	Non	inhibiteur	Substrate
L24	Non	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Weakly
L25	Non	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Weakly
L26	Non	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Substrate
Lréf	Non	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Substrate

Les résultats de (tableau III.12) suggèrent que les ligands L19, L24, L25, L26, Lréf non inhibiteur avec Cyp-2C19 et inhibiteur Cyp-2C9 pourraient être bien métabolisés par Cyp-2C9 et facilement éliminés du corps et causant ainsi peu de toxicité, et tous les composés n'étaient pas des inhibiteurs du CYP 2D6 et non substrat pour tous les paramètres cinétiques.

Cependant, il a également été noté que tous les ligands inhibaient l'enzyme CYP 3A4. Une analyse plus poussée a montré que les ligands L19, L26 et Lréf étaient prédits être substrat au CYP 3A4. Cela s'explique la complexité des interactions modulatrices avec le cytochrome P450 3A4 qui est fonctionner comme des combinaisons de substrat et inhibiteur

Tableau III.13: Résultats des propriétés de Toxicité des ligands.

Toxicité				
Ligands	Mutagénicité(Ames test)	Cancérogénicité		HERG inhibition
		Souris	Rat	
L19	Mutagène	Négative	Négative	Risque élevé
L24	Non-Mutagène	Négative	Négative	Ambigu
L25	Non-Mutagène	Négative	Négative	Ambigu
L26	Non-Mutagène	Négative	Négative	Risque moyen
Lréf	Non-Mutagène	Négative	Négative	Risque élevé

Les résultats de (tableau III.13) montrent que les paramètres de risque de toxicité tels que la mutagénicité et la cancérogénicité des ligands n'ont aucune probabilité de risque (Non-Mutagène et négative cancérogénicité), sauf L19 est mutagène qui signifie que le ligand est une bactérie. Aussi, l'inhibition du HERG pour les ligands L19 et Lréf présentent un risque élevé, et L26 est risque moyen.

4.2.Bioactivity score :

L'activité pharmacologique décrit les effets bénéfiques des médicaments sur les êtres vivants, le médicament est censé se lier à une cible biologique. Les cibles biologiques sont les protéines les plus courantes telles que les enzymes, les canaux ioniques et les récepteurs. La cible biologique est également appelée cible médicamenteuse. Les scores de bioactivité des complexes synthétisés ont été calculés pour différents paramètres tels que la liaison au ligand du récepteur couplé aux protéines G (GPCR) et au ligand du récepteur nucléaire, la modulation des canaux ioniques, l'inhibition de la kinase, l'inhibition de la protéase et l'inhibition de l'activité enzymatique [107]. Tous les paramètres ont été calculés à l'aide d'un logiciel en ligne Molinspiration, qui prédit une activité biologique modérée pour les ligands synthétisés si :

- le score de bioactivité est supérieur à 0,0, alors le ligand est actif.
- le score de bioactivité est compris entre -0.5 et 0.0 donc le ligand est modérément actif.
- le score de bioactivité est inférieur à -0.5 alors il est inactif.

Tableau III.14: Résultats des paramètres de Bioactivité de score des ligands

Bioactivity score						
Ligands	GPCR ligand	Ion channel modulator	Kinase inhibitor	Nuclear receptor ligand	Protease inhibitor	Enzyme inhibitor
L19	-0.23	-0.02	0.41	-0.53	-0.09	0.10
L24	0.10	-0.36	0.17	-0.73	-0.11	-0.12
L25	0.22	0.00	0.36	-0.51	-0.07	0.10
L26	0.25	-0.03	0.42	-0.50	-0.05	0.11
Lréf	0.07	-0.47	0.11	-0.77	- 0.12	- 0.19

D'après le (tableau III.14) la bioactivité score des ligands a été calculé pour le ligand GPCR, le canal ionique modulateur, inhibiteur de kinase, ligand récepteur nucléaire, protéase inhibiteur et inhibiteur d'enzyme. Les résultats du score de bioactivité ont révélé que le ligand L26 à un score de bioactivité entre -0,50 et 0,00, ce qui signifie que ce ligand est modérément actif selon le score de bioactivité.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Notre présent travail se place dans le contexte d'une recherche des molécules anticancéreuse sur une série bioactive imidazopyridine.

Afin d'atteindre cet objectif nous sommes passés par deux étapes :

Dans une premier étape, nous avons utilisés la technique de docking moléculaire sur une série qui contient 43 dérivatives d'imidazopyridine afin d'étudier leurs mode d'interaction vis-à-vis de notre cible PKB et ces molécules .L'outil informatique utilisé pour le docking est Molegro Virtual Docker (MVD). Ce programme a été développé pour aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique.

L'étude par docking a révélé que les ligands L19, L24, L25, L26 sont des meilleurs complexes, et cela justifie par la présence de différents types d'interactions, en plus que ces ligands ont des niveaux d'énergie les plus faibles par rapport aux autres complexes qui sont - 210,356; -22242; -204,116; -208793 respectivement.

Dans une deuxième étape, nous avons appliqué une étude sur les de Drug-likeness et ADMET (d'absorption, de digestion, de métabolisme, excrétion et Toxicité).

L'analyse des résultats obtenus montre que ces ligands utilisés dans cette étude répondent aux règles de drug likeness.

Les résultats ADME montrent que Le composé L26 a une meilleure absorption intestinale (HIA) et a une bonne probabilité de pénétration à travers la barrière hémato- encéphalique (BBB). En plus possède moins toxicité, non-mutagène , négative de cancérogénicité et risque moyen.

En plus, les résultats obtenus montrent que le ligand L26 possèdent des valeurs de paramètres pharmacocinétiques dans la gamme acceptable et modérément actif selon le score de bio activité.

En conclusion, le résultat prometteur pour le ligand L26 pourrait être évalué pour générer de meilleurs candidats médicaments pour le traitement anticancéreux.

Références

- [1] L. Gaelle, Thèse de doctorat, Mécanisme d'action de nouveaux agents alkylants ciblant l'ADN ou les protéines, Université de Lille, 2015.
- [2] Lawrence, H.R. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (2009) 19, 3756-3759.
- [3] W. L. Jorgensen, The many roles of computation in drug discovery. *Science.*, 303,1813-1818 (2004).
- [4] Amisaki, T., Toyoda, S., Miyagawa, H. and Kitamura, K. *Journal of Computational Chemistry* (2003) 24, 582-592.
- [5] Lawrence, H.R. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (2009) 19, 3756-3759.
- [6] H BOUCHERIT. -Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de mycobacteriumtuberculosis par diverses molécules. Thèse de doct. Université mentouri Constantine, 2012.
- [7] E FONTANA. Les inhibiteurs "suicides" des Cytochromes P450 : Etablissement d'une banque de données, mise au point d'un test de screening et études structures-activité concernant des substrats furaniques du CYP 3A4. 2005.
- [8] Laadjal Khaoula, thèse de master en Biochimie et Biologie Moléculaire .Une contribution à l'étude épidémiologique du cancer du sein dans la région de Biskra. Université Mohamed Khider Biskra, 2013.
- [9] Cancer - Pronostics à long terme. Expertise collective Inserm. (2005) Les éditions Inserm.
- [10] Pinell P. How do cancer patients express their points of view? *Sociology of Health & Illness* 9, issue 1 (1987) 25-44.
- [11] Moulin P. Imaginaire social et cancer. *Revue Francophone de Psycho-Oncologie* 4, issue 4 (2005) 261-267.
- [12] Biyi A., Benrais N., Albouzidi A et al. Mécanisme de la carcinogenèse à la lumière des données de la biologie moléculaire, *Médecine du Maghreb*.1998 ; n° 69.
- [13] CAVENEE W & WHITE R. (1995). Anomalies génétiques et cancers. *Pour la Science*. 211: 60-68.
- [14] Lopez-Lazaro M., Willmore E. A., Austin C. The dietary flavonoids myricetin and fisetin act as dual inhibitors of DNA topoisomerases I and II in cells. *Mutation Research*. 2010; 696: 41-47.
- [15] Lengauer, C., K.W. Kinzler, and B. Vogelstein, Genetic instabilities in human cancers. *Nature*, 1998. 396(6712): p. 643-9.
- [16] Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 2012. 490(7418): p. 61-70.
- [17] www.e-cancer.fr
- [18] Cécile Grange, Étude de l'expression de la molécule d'adhérence CD146 dans les lymphocytes T, Université de Montréal, 2014.
- [19] Stéphane PUYO, thèse de doctorat. Recherche d'alternatives thérapeutiques aux taxanes dans les cancers de la prostate de hauts grades : Identification d'une signature prédictive de la réponse à l'oxaliplatine. Université Victor Segalen Bordeaux 2, (2011).

Références

- [20] Portenoy, R. K., Thaler, H. T., Kornblith, A. B., Lepore, J. M., Friedlander-Klar, H., Kiyasu, E., et al. (1994). The Memorial Symptom Assessment Scale: An instrument for the evaluation of symptom prevalence, characteristics and distress. *European Journal of Cancer*, 30A(9), 1326-1336.
- [21] Savard, J., Ivers, H., Villa, J., Caplette-Gingras, A., & Morin, C. M. (2011). Natural course of insomnia comorbid with cancer: An 18-month longitudinal study. *Journal of Clinical Oncology*, 29(26), 3580-3586.
- [22] Fillion, L., Gélinas, C., Simard, S., Savard, J., & Gagnon, P. (2003). Validation evidence for the French Canadian adaptation of the Multidimensional Fatigue Inventory as a measure of cancer-related fatigue. *Cancer Nursing*, 26(2), 143-154.
- [23] Hofman, M., Ryan, J. L., Figueroa-Moseley, C. D., Jean-Pierre, P., & Morrow, G. R. (2007). Cancer-related fatigue: The scale of the problem. *Oncologist*, 12 Suppl 1, 4-10.
- [24] Berger, A. M., Sankaranarayanan, J., & Watanabe-Galloway, S. (2007). Current methodological approaches to the study of sleep disturbances and quality of life in adults with cancer: A systematic review. *Psycho-oncology*, 16(5), 401-420.
- [25] Servaes, P., Verhagen, C., & Bleijenberg, G. (2002). Fatigue in cancer patients during and after treatment: Prevalence, correlates and interventions. *European Journal of Cancer*, 38(1), 27-43.
- [26] Wagner, L. I., & Cella, D. (2004). Fatigue and cancer: Causes, prevalence and treatment approaches. *British Journal of Cancer*, 91(5), 822-828.
- [27] Kenefick, A. L. (2006). Patterns of symptom distress in older women after surgical treatment for breast cancer. *Oncology Nursing Forum*, 33(2), 327-335.
- [28] Zaza, C., & Baine, N. (2002). Cancer pain and psychosocial factors: A critical review of the literature. *Journal of Pain and Symptom Management*, 24(5), 526-542.
- [29] Evans, W. K., Connor Gorber, S. K., Spence, S. T., & Will, B. P. (2005). Health state descriptions for Canadians: Cancers. In S. Canada (Ed.), n0 82-619-MIE2005001. Ottawa: Statistics Canada.
- [30] Abdellah SADKI; Planification des chimiothérapies ambulatoires avec la prise en compte des 56 protocoles de soins et des incertitudes; 2012.
- [31] Roth, A. J., Kornblith, A. B., Batel-Copel, L., Peabody, E., Scher, H. I., & Holland, J. C. (1998). Rapid screening for psychologic distress in men with prostate carcinoma: A pilot study. *Cancer*, 82(10), 1904-1908.
- [32] Honea, N., Brant, J., & Beck, S. L. (2007). Treatment-related symptom clusters. *Seminars in Oncology Nursing*, 23(2), 142-151.
- [33] Manning, G., Whyte, D. B., Martinez, R., Hunter, T., & Sudarsanam, S. (2002). The protein kinase complement of the human genome. *Science*, 298(5600), 1912.
- [34] Zhihong Wang & Cole. *Methods in Enzymology*, Vol 548, P 21 (2014).
- [35] Chan, T.O., Rittenhouse, S.E., and Tschlis, P.N. (1999). AKT/PKB and other D3 phosphoinositide-regulated kinases: kinase activation by phosphoinositide-

Références

- dependent phosphorylation. *Annu. Rev. Biochem.* 68, 965–1014.
- [36] Hanada, M., Feng, J., and Hemmings, B.A. (2004). Structure, regulation and function of PKB/AKT—a major therapeutic target. *Biochim. Biophys. Acta* 1697, 3–16).
- [37] Frech, M., Andjelkovic, M., Ingley, E., Reddy, K.K., Falck, J.R., and Hemmings, B.A. (1997). High affinity binding of inositol phosphates and phosphoinositides to the pleckstrin homology domain of RAC/protein kinase B and their influence on kinase activity. *J. Biol. Chem.* 272, 8474–8481.
- [38] Peterson and Schreiber, 1999 Peterson, R.T., and Schreiber, S.L. (1999). Kinase phosphorylation: Keeping it all in the family. *Curr. Biol. CB* 9, R521-524.
- [39] Andjelković, M., Alessi, D.R., Meier, R., Fernandez, A., Lamb, N.J., Frech, M., Cron, P., Cohen, P., Lucocq, J.M., and Hemmings, B.A. (1997). Role of translocation in the activation and function of protein kinase B. *J. Biol. Chem.* 272, 31515–31524.
- [40] Liao, Y., and Hung, M.-C. (2010). Physiological regulation of Akt activity and stability. *Am. J. Transl. Res.* 2, 19–4.
- [41] Manning, B. D., and Cantley, L. C. (2007). AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell* 129, 1261-1274.
- [42] Osaki, M., Oshimura, M., and Ito, H. (2004). PI3K-Akt pathway: its functions and alterations in human cancer. *Apoptosis* 9, 667-676.
- [43] Altomare, D. A., Guo, K., Cheng, J. Q., Sonoda, G., Walsh, K., and Testa, J. R. (1995). Cloning, chromosomal localization and expression analysis of the mouse Akt2 oncogene. *Oncogene* 11, 1055-1060.
- [44] Cohen P. The origins of the protein phosphorylation. *Nature Cell Biol* (2002) 4,127-130.
- [45] Hunter T & Karin M. The regulation of transcription by phosphorylation. *Cell*, (1992) 70, 375-387.
- [46] Manning G, Whyte DB, Martinez R, Hunter T, Sudarsanam S. The protein kinase complement of the human genome. *Science*, (2002) 298, 1912-1934.
- [47] Jetzt, A., Howe, J., T Horn, M., Maxwell, E., Yin, Z., Johnson, D., & Chandra Kumar, C. (2003). Adenoviral-Mediated Expression of a Kinase-Dead Mutant of Akt Induces Apoptosis Selectively in Tumor Cells and Suppresses Tumor Growth in Mice. *Cancer research*, 63,6697-6706.
- [48] Chu, N., Salguero, A. L., Liu, A. Z., Chen, Z., Dempsey, D. R., Ficarro, S. B. Cole, P. A. (2018). Akt Kinase Activation Mechanisms Revealed Using Protein Semisynthesis. *Cell*, 174(4), 897-907 e814. Doi: 10.1016/j.cell.2018.07.003.
- [49] Iu, H., Radisky, D. C., Nelson, C. M., Zhang, H., Fata, J. E., Roth, R. A., & Bissell, M. J. (2006). Mechanism of Akt1 inhibition of breast cancer cell invasion reveals a protumorigenic role for TSC2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(11), 4134-4139. Doi: 10.1073/pnas.0511342103.
- [50] Hsu, J.-h., Shi, Y., Hu, L., Fisher, M., Franke, T. F., & Lichtenstein, A. (2002b). Role of the AKT kinase in expansion of multiple myeloma clones: effects on cytokine-dependent proliferative and survival responses. *Oncogene*, 21(9), 1391-1400. doi: 10.1038/sj.onc.1205194.

Références

- [51] Craig, W. L. (2010). The Akt/PKB Family of Protein Kinases: A Review of Small Molecule Inhibitors and Progress Towards Target Validation: A 2009 Update. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 10(4), 458-477 . doi : <http://dx.doi.org/10.2174/1568026107909806>.
- [52] Sneader, W. *Drug Discovery, A History*, ed. J.W.S. Ltd. 2005. 472.
- [53] Nikiéma, J.B.; Djierro, K.; Simporé, J.; et al. *Stratégie d'utilisation des substances naturelles dans la prise en charge des personnes vivant avec le VIH: expérience du Burkina Faso*. *Ethnopharmacologia*, 2009. **43**: p. 47-51.
- [54] Paul, S.M.; Mytelka, D.S.; Dunwiddie, C.T.; et al. *How to improve R&D productivity: the pharmaceutical industry's grand challenge*. *Nat Rev Drug Discov*, 2010. **9**(3): p.203- 14.
- [55] Zanders, E.D.; Bailey, D.S.; Dean, P.M. *Probes for chemical genomics by design*. *Drug Discov Today*, 2002. **7**(13): p. 711-8.
- [56] Hughes, J.P.; Rees, S.; Kalindjian, S.B.; et al. *Principles of early drug discovery*. *Br J Pharmacol*, 2011. **162**(6): p. 1239-49.
- [57] Duffy, B.C.; Zhu, L.; Decornez, H.; et al. *Early phase drug discovery: cheminformatics and computational techniques in identifying lead series*. *Bioorg Med Chem*, 2012. **20**(18): p. 5324-42.
- [58] G. Vistoli, A. Pedretti and B. Testa, *Drug Discov. Today*, 2008, 13, 285-294.
- [59] J. P. Hughes, S. Rees and S. B. Kalindjian, *Br J Pharmacol*, 2011, 162, 1239-1249.
- [60] N. LAGARDE, ÉCOLE DOCTORALE Abbé Grégoire 2014.
- [61] Tanrikulu, Y.; Kruger, B.; Proschak, E. *The holistic integration of virtual screening in drug discovery*. *Drug Discov Today*, 2013. **18**(7-8): p. 358-64.
- [62] Oprea, T.I.; Matter, H. *Integrating virtual screening in lead discovery*. *Curr Opin Chem Biol*, 2004. **8**(4): p. 349-58.
- [63] Lavecchia, A.; Di Giovanni, C. *Virtual screening strategies in drug discovery: a critical review*. *Curr Med Chem*, 2013. **20**(23): p. 2839. 60.
- [64] Johnson, M.A.; Maggiora, G.M. *Concepts and Applications of Molecular Similarity*. Wiley ed. 1990.
- [65] C.R. Corbeil, P. Englebienne, N. Moitessier. Docking Ligands Into Flexible And Solvated Macromolecules-1. Development And Validation Of Fitted 1.0. *Journal Of Chemical Informatic Modelling*, 2007, 47, 435-449.
- [66] Howard GC, Brown WE. Modern protein chemistry. *CRC press*, 2001; 272.
- [67] Aurélien. G, Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de Doctorat, Université Joseph Fourier - Faculté de pharmacie de Grenoble 2007; 17.
- [68] Lengauer T, Rarey M (Jun). Computational methods for biomolecular docking. *Current Opinion in Structural Biology*, 1996; 6(3): 402-406.
- [69] Thomsen R, Christensen MH. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *Journal medicinal chemistry*, 2006; 49: 3315-332.
- [70] Vieth M, Hirst JD, Kolinski A, Brooks CL. Assessing energy functions for flexible docking. *Journal of Computational Chemistry*, 1998; 19: 1612-1622.
- [71] Kollman PA, Massova I, Reyes C, Kuhn B, Huo S, Chong L, Lee M, Lee T, Duan Y, Wang W, Domini O, Cieplak P, Srinivasan J, Case DA, Cheatham TE.

Références

- Calculating structures and free energies of complex molecules: combining molecular mechanics and continuum models. *Accounts of Chemical Research*, 2000; 33: 889-897.
- [72] BRUT M, Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques : Les Modes Statiques Université Toulouse III - Paul Sabatier, 2009.
- [73] Simonson T, Archontis G, Karplus M. Free energy simulations come of age: proteinligand recognition. *Accounts of Chemical Research* 2002; 35: 430-437.
- [74] Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart WE. Automated docking using a Lamarckian genetic emphasis on quantitative analysis of protein-ligand algorithm and an empirical free energy function. *Journal of Computational Chemistry*, 1998; 19: 1639-1662.
- [75] Verdonk ML, Cole JC, Hartshorn MJ, Murray CW. Taylor. Improved protein–ligand docking using GOLD. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2003; 52(4): 609– 623
- [76] Ignarro LJ, Fukuto JM , Griscavage JM , Rogers NE , Byrns RE. Oxidation of nitric oxide in aqueous solution to nitrite but not nitrate: Comparison with enzymatically formed nitric oxide from. L-arginine. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1993; 90: 8103-8107.
- [77] Lafond M , Docking et scoring. *Schrödinger*, 2015
- [78] Holloway MK, A priori Prediction of Activity for HIV-1 Protease Inhibitors Employing Energy Minimization in the Active Site. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1995; 38: 305-317.
- [79] Boehm H J, The development of a simple empirical scoring function to estimate the binding constant for a protein-ligand complex of known three dimensional structure. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 1994; 8: 243-256.
- [80] Perez C, Pastor M, Ortiz AR, Gago FJ. Comparative binding energy analysis of HIV-1 protease inhibitors: incorporation of solvent effects and validation as a powerful tool in receptorbased drug design. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1998; 41: 836-852.
- [81] Schneider G, Böhm HJ. Virtual screening and fast automated docking methods. *Combinatorial Chemistry*, 2002;7: 64-70.
- [82] EWING T. J., MAKINO S., SKILLMAN A. G., KUNTZ I. D., DOCK 4.0: *search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases.*, J. Comput. Aided. Mol. Des., 2001, **15** : 411-428
- [83] RAREY M., KRAMER B., LENGAUER T., KLEBE G., *A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm.*, J Mol Biol, 1996, **261** : 470-489.
- [84] JONES G., WILLETT P., GLEN R. C., LEACH A. R., TAYLOR R., *Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking.*, J. Mol. Biol., 1997, **267** : 727-48.
- [85] Bissantz C, Folkers G, Rognan D. Protein-based virtual screening of chemical databases. Evaluation of different docking scoring combinations. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2000; 43: 4759-4767.

Références

- [86] Leach AR, Kuntz ID. Conformational analysis of flexible ligands in macromolecular receptor sites. *Journal of Computational Chemistry*, 1992; 13: 730-748.
- [87] Teniou S, Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Magt : Technologie des Explorations Biochimiques : Université Mentouri Constantine, 2012.
- [88] A.V VESELOVSKY et al. "Protein-protein interactions : mechanisms and modification by drugs". In : *Pub.Med* (2002), p. 405–22.
- [89] Kola, I. & Landis, J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nat Rev Drug Discov* 3, 711–716 (2004).
- [90] Valerio, L.G., Jr. *In silico toxicology for the pharmaceutical sciences*. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009. **241**(3): p. 356-70.
- [91] A.R. Leach. *Molecular Modelling: Principles and Applications*, Prentice Hall, New Jersey, 2001.
- [92] Krid Y. Conception *in silico* de nouveaux flavonols inhibant potentiellement l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine pour le traitement de l'hypertension artérielle. Mémoire de Master en Biochimie Moléculaire et Santé, Université des Frères Mentouri, Constantine. Algérie. 2013. 51 p.
- [93] W.J. Geldenhuys, K.E. Gaasch, M. Watson, D.D. Allen, C.J. Van Der Schyf. Optimizing the use of open-source software applications in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 2006, 11, 127-132.
- [94] C.Y.Chen, TCM Database@Taiwan: the world's largest traditional Chinese medicine database for drug screening *in silico*. *PLoS One.*, 6,e15939(2011).
- [95] Mekelleche. S. Cours de post-graduation; option; chimie théorique, 2000-2001
- [96] Bower M. J., Cohen F. E., & Dunbrack Jr R. L. Prediction of protein side-chain rotamers from a backbone-dependent rotamer library: a new homology modeling tool. *Journal of molecular biology*, 1997, 267(5), 1268-1282.
- [97] <http://www.molegro.com/mvd-product.php>
- [98] Protein Data Bank (PDB). Biological Macromolecular Resource.
- [99] To cite this article: Xi Gu, Ying Wang, Mingxing Wang, Jian Wang & Ning Li (2019): Computational investigation of imidazopyridine analogs as Protein kinase B (Akt1) allosteric inhibitors by using 3D-QSAR, molecular docking and molecular dynamics simulations, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, DOI: 10.1080/07391102.2019.1705185
- [100] Hyperchem8.0Hypercube, Inc
- [101] Imberty A., Hardman K. D., Carver J. P., & Perez S. Molecular modelling of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavalin A. *Glycobiology*, 1991, 1(6), 631-642.
- [102] Dar AM, Khan MA, Mir S, Gattoo MA. DNA binding, cleavage activity, molecular docking, cytotoxicity and genotoxicity studies of newly synthesized copper based metal complexes. *Pharm Anal Acta*. 2016;7:464.
- [103] Molinspiration. <http://www.molinspiration.com/>

Références

- [104] Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001;46:3–26..
- [105] <https://preadmet.bmdrc.kr/>
- [106] LI, AP. Screening for human ADME/Tox drug properties in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 2001, 6, 357-366.
- [107] Essa Ajmi Alodeani, Mohammad Arshad, Mohammad Asrar Izhar. Anti- uropathogenic activity, drug likeness, physicochemical and molecular docking assessment of (E)-N0-(substituted-benzylidene)-2-(quinolin-8-yloxy) acetohydrazide *Asian Pac J Trop Biomed* 2015; 5(8): 676–683.

Résumé

L'enjeu des travaux effectués au cours de cette mémoire est l'extraction *in silico* de molécules potentiellement intéressantes dans le processus d'inhibition du récepteur protéine kinase B (PKB). Les protéines kinases, plus particulièrement, représentent une des plus grandes familles de protéines, La plupart des cancers sont associés au dérèglement de protéines kinases, tels que des mutations génétiques qui conduisent à une sur-expression ou à une activation constitutive de ces protéines.

Nous avons utilisé docking moléculaire sur un ensemble de quarante trois dérivés d'imidazopyridines comme technique de screening virtuel *in silico* très employée.

L'analyse des résultats de docking moléculaire nous a conduits à la sélection de composés intéressants possédant théoriquement une bonne affinité pour la kinase B. Ces molécules ont été soumises à la prédiction de propriétés ADME/Tox. Les résultats ADMET sont prometteurs pour le ligand L26 pourrait les meilleurs candidats de médicaments.

Mot-clé: protéine kinase B, Doking moléculaire, imidazopyridine ,ADME/Tox

Abstract

The challenge of this work is memory the *in silico* identification of potentially interesting molecules concerning the inhibitory process of protéine kinase B (PKB) receptor. The proteins kinase, represent one of more large families of proteins. Most cancers are associated with the proteins kinases disordered state, such as genetic mutations which lead to an onexpression or an activation constitutive of these proteins.

We used molecular docking on a set of forty-threeimidazopyridines derivatives as a widely used *in silico* screening virtual technique. Analysis of the molecular docking results has led us to the selection of several theoretically interesting molecules with good potential affinity for protein kinase B. These molecules were submitted to the prediction of ADME / Tox properties. The ADMET results are promising for the L26 ligand might be the best drug candidates.

Keywords: protein kinase B , Molecular docking , imidazopyridine , ADME/Tox