



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des Sciences exactes, et 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

---

Présenté et soutenu par :

**Kahina Djeradi et Lamis Boubechiche**

Le :

**Conception des nouveaux dérivés de thiénopyrimidine  
à l'activité antibactérienne par les méthodes de  
modélisation moléculaire**

---

**Jury :**

Mme	Mellaoui Malika	MCB	Université de Biskra	Président
Mme	Ouassaf Mebarka	MCA	Université de Biskra	Rapporteur
M	Belaidi Houmam	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2021/ 2022

## *Remerciements*

*Nous tenons tout d'abord à remercier **ALLAH** pour nous avoir guidés vers le bon chemin de la lumière et du savoir et pour nous avoir donné du courage, de la volonté afin de pouvoir réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice **Mme. Mebarka Ouassaf** pour l'encadrement de ce mémoire son aide, sa patience et sa confiance qu'elle nous a accordée.*

*Nous tenons à remercier les membres de jury pour avoir accepté de juger notre travail. Mes sincères remerciements vont également à tous les enseignants, du département de sciences de la matière de l'université de Biskra et de l'université de Batna 1, qui ont participé à notre formation.*

*Enfin nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

# *Dédicace*

*C'est avec très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde*

*À mes chers parents pour leurs amour et bonté et que sans eux je n'aurai pu atteindre mon objectif, que Dieu me les gardes*

*À...*

- ♣ Mes soeurs **Ikram** et **Hanine***
- ♣ Ma binôme et compatriote du projet de fin d'étude **Boubechiche Lamis***
- ♣ Tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans l'accomplissement de ce travail.*

*Kahina Djeradi*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*À mes chers parents pour leurs amour et bonté et que sans eux je n'aurai pu atteindre mon objectif, que Dieu me les gardes*

*À...*

- ♣ Ma grande mère: Rebaía*
- ♣ Mon cher frère: Amar*
- ♣ Mes chères sœurs: Aya et Maram*
- ♣ Ma chère binôme: Djeradi Kahina*

*Pour leurs encouragements permanents et leur soutien moral.*

*Lamis Boubechiche*

# Table de matière

<b>Remerciements</b> .....	ii
<b>Liste des tableaux</b> .....	viii
<b>Liste des figures</b> .....	ix
<b>Liste des abréviations</b> .....	xi
<b>Introduction générale</b> .....	1

## **Chapitre I: Généralité sur les bactéries et les antibiotiques**

I.1. Introduction .....	6
I.2. Morphologie cellulaire des bactéries .....	6
I.3. Les constituants de la cellule bactérienne .....	7
I.3.1. Paroi cellulaire .....	8
I.3.2. Membrane cytoplasmique .....	9
I.3.3. Cytoplasme et appareil nucléaire .....	10
I.3.4. Plasmides .....	10
I.3.5. Capsule .....	10
I.3.6. Cils, flagelles et pili .....	11
I.3.7. Spores bactériennes .....	11
I.4. Classification des principales bactéries pathogènes .....	12
I.5. Traitement des infections bactériennes .....	14
I.5.1. Définition de l'antibiotique .....	14
I.5.2. Critères de classification des antibiotiques .....	14
I.5.3. Classes et cibles bactériennes des antibiotiques .....	15
I.5.3.1. Conditions d'activité des antibiotiques .....	15
I.5.3.2. Sites d'actions des antibiotiques .....	15

## Chapitre II: Docking moléculaire

II.1.	Introduction .....	21
II.2.	Le Docking Moléculaire .....	21
II.2.1.	Les outils du Docking moléculaire .....	23
II.2.1.1.	Le Récepteur.....	23
II.2.1.2.	Ligand .....	23
II.2.2.	Les interactions protéine-ligand .....	24
II.2.2.1.	Les liaisons hydrogènes .....	24
II.2.2.2.	Les interactions hydrophobes .....	25
II.2.2.3.	Les interactions de Van Der Walls .....	26
II.2.2.4.	Les interactions électrostatiques .....	26
II.2.3.	Protocole générale de Docking.....	27
II.2.4.	Les programmes du Docking moléculaires.....	28
II.2.5.	Type de Docking moléculaires .....	29
II.2.5.1.	Docking rigide .....	29
II.2.5.2.	Docking flexible .....	29
II.2.5.3.	Docking semi-flexible.....	29
II.2.6.	Algorithmes de Docking .....	30
II.2.7.	Fonction de score.....	31
II.3.	Paramètres Drug-Like .....	33
II.3.1.	Règle de Lipinski .....	34
II.3.2.	Règles de Veber .....	34

## Chapitre III: Résultats et Discussions

III.1.	Introduction .....	41
III.2.	Matériel et outils utilisés .....	41

III.2.1.	Micro-ordinateur .....	41
III.2.2.	Banques (Bases) De données et outils logiciels .....	42
III.3.	Méthodologie du travail .....	46
III.3.1.	Préparation de l'enzyme .....	47
III.3.2.	Détection des cavités .....	48
III.3.3.	Préparation des ligands .....	50
III.3.4.	Simulation du Docking moléculaire.....	54
III.3.5.	Prédiction Des Propriétés Moléculaires Des Ligands .....	54
III.4.	Résultats et Discussion.....	54
III.4.1.	Résultats du Docking moléculaire .....	54
III.4.1.1.	Étude des interactions Enzyme-Ligand de référence .....	56
III.4.1.2.	Étude des Interactions Enzyme- Les Ligands.....	58
III.4.2.	Discussion.....	70
III.5.	Résultats des propriétés moléculaires (Drug likness) .....	71
III.5.1.	Application de la règle de cinq (règle de Lipinski).....	71
III.5.2.	Application de la Règle de Veber .....	73
	<b>Conclusion générale</b> .....	<b>77</b>
	<b>Résumé</b> .....	<b>79</b>

## Liste des tableaux

### Chapitre I

<b>Tableau I.1:</b> Principales formes de bactéries .....	6
<b>Tableau I.2:</b> Classification des principales bactéries pathogènes et les infections associées .....	12

### Chapitre II

<b>Tableau II.1:</b> Principaux programmes du Docking moléculaire .....	28
-------------------------------------------------------------------------	----

### Chapitre III

<b>Tableau III. 1:</b> Caractéristiques des ordinateurs utilisés .....	41
<b>Tableau III.2:</b> Composition de la chaîne A et B de (PBP3).....	48
<b>Tableau III.3:</b> Propriétés de la cavité 1 de l'enzyme 3VSL .....	49
<b>Tableau III.4:</b> Résultats de score de l'enzyme 3VSL avec les ligands étudiés .....	55
<b>Tableau III.5:</b> Résultats des interactions entre le ligand de référence et les résidus de site actif de 3VSL.....	56
<b>Tableau III.6:</b> Résultats des interactions entre le ligand 26 et les résidus de site actif de 3VSL.	59
<b>Tableau III.7:</b> Résultats des interactions entre le ligand 30 et les résidus de site actif de 3VSL.	61
<b>Tableau III.8:</b> Résultats des interactions entre le ligand 33 et les résidus de site actif de 3VSL.	63
<b>Tableau III.9:</b> Résultats des interactions entre le ligand 34 et les résidus de site actif de 3VSL.	65
<b>Tableau III.10:</b> Résultats des interactions entre le ligand 36 et les résidus de site actif de 3VSL .....	67
<b>Tableau III.11:</b> Résultats des interactions entre le ligand 37 et les résidus de site actif de 3VSL .....	69
<b>Tableau III.12:</b> Résultats d'application de la Règle de Lipinski .....	72
<b>Tableau III.13:</b> Résultats de l'application de la Règle Veber .....	73



# Liste des figures

## Chapitre I

<b>Figure I.1:</b> Différents formes de bactéries .....	7
<b>Figure I.2:</b> Schéma simplifié de la cellule bactérienne .....	8
<b>Figure I.3:</b> Paroi des bactéries Gram positif (a) et Gram négatif (b) .....	9
<b>Figure I.4:</b> Membrane cytoplasmique .....	9
<b>Figure I.5:</b> Flagelle d'une bactérie.....	11
<b>Figure I.6:</b> Spore bactérienne.....	11
<b>Figure I.7:</b> Sites d'actions des antibiotiques.....	16

## Chapitre II

<b>Figure II.1:</b> Représentation schématique de Docking moléculaire.....	22
<b>Figure II.2:</b> Principe général d'un programme de Docking .....	23
<b>Figure II.3:</b> Liaison hydrogène .....	25
<b>Figure II.4:</b> Interactions hydrophobes.....	25
<b>Figure II.5:</b> Interaction de Van Der Waals.....	26
<b>Figure II.6:</b> Interactions électrostatiques.....	27
<b>Figure II.7:</b> Protocole général de Docking .....	28

## Chapitre III

<b>Figure III.1:</b> Interface du site Protéine Data Bank (PDB) .....	42
<b>Figure III.2:</b> Interface du logiciel MOE.....	43
<b>Figure III.3:</b> Interface du logiciel Hyperchem.....	43
<b>Figure III.4:</b> Interface du logiciel ChemDraw.....	44
<b>Figure III.5:</b> Interface web de visualiseur Discovery studio .....	45
<b>Figure III.6:</b> Interface web du logiciel Molinspiration .....	45
<b>Figure III.7:</b> Méthodologie du travail .....	46
<b>Figure III.8:</b> Structure 3D de l'enzyme 3VSL simplifié.....	47
<b>Figure III.9:</b> Structure chimique 2D de ligand de référence de CEF.....	48
<b>Figure III.10:</b> Cavité 1 de l'enzyme 3VSL .....	49
<b>Figure III.11:</b> Structure de base "thienopyrimidine" .....	50

<b>Figure III.12:</b> Structures chimiques des ligands étudiés .....	53
<b>Figure III.13:</b> Interactions entre le ligand de référence et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D.....	57
<b>Figure III.14:</b> Interactions entre le ligand 26 et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D .....	60
<b>Figure III.15:</b> Interactions entre le ligand 30 et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D 62	
<b>Figure III.16:</b> Interactions entre le ligand 33 et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D .....	64
<b>Figure III.17:</b> Interactions entre le ligand 34 et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D .....	66
<b>Figure III.18:</b> Interactions entre le ligand 36 et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D .....	68
<b>Figure III.19:</b> Interactions entre le ligand 37 et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D .....	70

## Liste des abréviations

<b>2D-3D:</b>	Deux et trois dimensions
<b>ADN:</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AMBER:</b>	Assisted Model Building with Energy Refinement
<b>ARN:</b>	Acide Ribo Nucléique
<b>ASN:</b>	Asparagine
<b>ASP:</b>	Acide Aspartique
<b>Da:</b>	Dalton.
<b>E. Coli:</b>	Escherichia coli
<b>G-:</b>	Gram négatif
<b>G+:</b>	Gram positif
<b>GLU:</b>	Acide Glutamique
<b>GLY:</b>	Glycine
<b>IST:</b>	Infections sexuellement transmissibles
<b>LEU:</b>	Leucine
<b>Lref:</b>	Ligand de référence
<b>MALT:</b>	Mucosa-associated lymphoid tissue
<b>MM+:</b>	La mécanique moléculaire
<b>MOE:</b>	Moléculaire Operating Environnement
<b>NRB:</b>	Nombre de liaisons rotatives
<b>PBP3:</b>	Protéine de liaison à la pénicilline 3

**PDB:** Protein Data Bank (banque de donnée protéique).

**PLP:** Protéine liant les pénicillines

**PRO:** Proline

**PSA:** Polar Surface Area

**QSAR:** Relation Structure- Activité Quantitative

**RMN:** Résonance Magnétique Nucléaire

**S:** Score

**SER:** Sérine

**SMILE:** Simplified Molecular-Input Line-Entry

**THR:** Thréonine

**TPSA:** Topological Polar Surface Area

**TYR:** Tyrosine

**VAL:** Valine

**VDW:** Van Der Waals

**$\Delta G$ :** Énergie d'activation



*Introduction générale*

# Introduction générale

---

Les infections bactériennes sont des inflammations provoquées par des micro-organismes « bactéries ». Il existe un très grand nombre d'infections bactériennes pouvant toucher l'être humain. Si certaines infections bactériennes sont très bénignes, d'autres au contraire peuvent être mortelles (1). De nombreux antibiotiques sont développés pour les traiter, ces derniers sont des substances chimiques élaborées par des microorganismes; ces substances en petite quantité possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres micro-organismes (bactéries) dans lesquelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier mais qui sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales (2).

Les protéines de liaison à la pénicilline (PBP) sont un groupe de protéines caractérisées par leur affinité et leur liaison à la pénicilline. Elles sont toutes impliquées dans les étapes finales de la synthèse du peptidoglycane, qui est le composant majeur des parois cellulaires bactériennes. La synthèse de la paroi cellulaire bactérienne est essentielle à la croissance, à la division cellulaire (donc à la reproduction) et au maintien de la structure cellulaire des bactéries (3).

L'inhibition des PBP entraîne des défauts dans la structure de la paroi cellulaire et des irrégularités dans la forme des cellules par exemple une filamentation, des formes pseudo multicellulaires, des lésions conduisant à la formation de sphéroplastés, et éventuellement la mort et la lyse cellulaires (4).

Dans la chimie pharmaceutique actuelle, les ordinateurs sont devenus des outils cruciaux car ils ont un rôle essentiel tant dans la découverte de nouveaux médicaments que dans le développement de ces médicaments. En raison de progrès rapides des logiciels et du matériel qui les prend en charge, la majorité des opérations qui n'étaient auparavant effectuées que par des informaticiens avertis peuvent désormais être effectuées par des pharmaco-chimistes, à l'aide d'ordinateurs couramment utilisés dans les laboratoires (5).

La modélisation moléculaire englobe les différentes méthodes de calculs théoriques (mécanique moléculaire, dynamique moléculaire, Docking, mécanique quantique ab-initio ou semi-empirique, ...), utilisée dans des différents domaines comme : Chimie, Biologie, Pharmacie et médecine. Permettant de déterminer la représentation graphique de la géométrie ou de la

## Introduction générale

---

configuration des atomes d'une molécule et d'évaluer les propriétés physico-chimiques de la molécule étudiée (6). La première grande voie d'étude et de conception de molécules bioactives par modélisation moléculaire est celle qui se fonde sur la structure des récepteurs. Cette approche est basée sur l'exploitation de la structure moléculaire tridimensionnelle de la protéine cible. Les coordonnées atomiques sont principalement issues d'analyses structurales par diffraction des rayons X. Quelques 37.000 structures de protéines sont aujourd'hui disponibles dans la Protein Data Bank (7).

Lorsque l'on dispose d'un modèle tridimensionnel d'une protéine cible, il est alors possible d'étudier les interactions de ce récepteur avec de petites molécules organiques, telles que le substrat ou le ligand naturel, des activateurs ou des inhibiteurs. Des logiciels d'amarrage « docking » sont utilisés dans le processus de conception de médicaments a débuté il y a plus de 30 ans (8). Pour prévoir la capacité ou non d'une molécule à se lier au site actif d'une protéine en se basant sur la prédiction de la conformation et de l'orientation de la molécule lors de sa liaison au récepteur (9).

Le principal objectif de ce travail, est d'appliquer l'ensemble des méthodes fournies par la chimie informatique telle que le Docking moléculaire, pour la conception des nouvelles molécules bioactives, et pour la prédiction des modes d'interactions possibles, et l'étude des interactions moléculaires entre l'enzyme Pbp3 « protéine de liaison à la pénicilline 3 » et une série de 43 dérivés de Thienopyrimidine. Suivi par une filtration en utilisant les règles de Lipinski et de Veber, pour les meilleurs ligands (les six composés ayant les meilleurs scores dans l'étude de Docking moléculaire) a fin de tester et voir si les molécules conçues possèdent des caractères susceptibles de faire d'elles des médicaments (autrement dénommé « Drug-likeness »).

Le travail de ce mémoire est composé de trois chapitres en plus de cette introduction, il est organisé de la manière suivante :

- ❖ Le Chapitre 1 nous avons effectué une recherche bibliographique portant sur les bactéries, ensuite une description des antibiotiques et leur mode d'action.
- ❖ Le Chapitre 2 présente quelques notions fondamentales sur et le Docking moléculaire.
- ❖ Le chapitre 3 nous avons présenté les différents matériels et méthodes utilisés dans cette étude. en plus on montre particulièrement les interactions entre les différents inhibiteurs

## Introduction générale

---

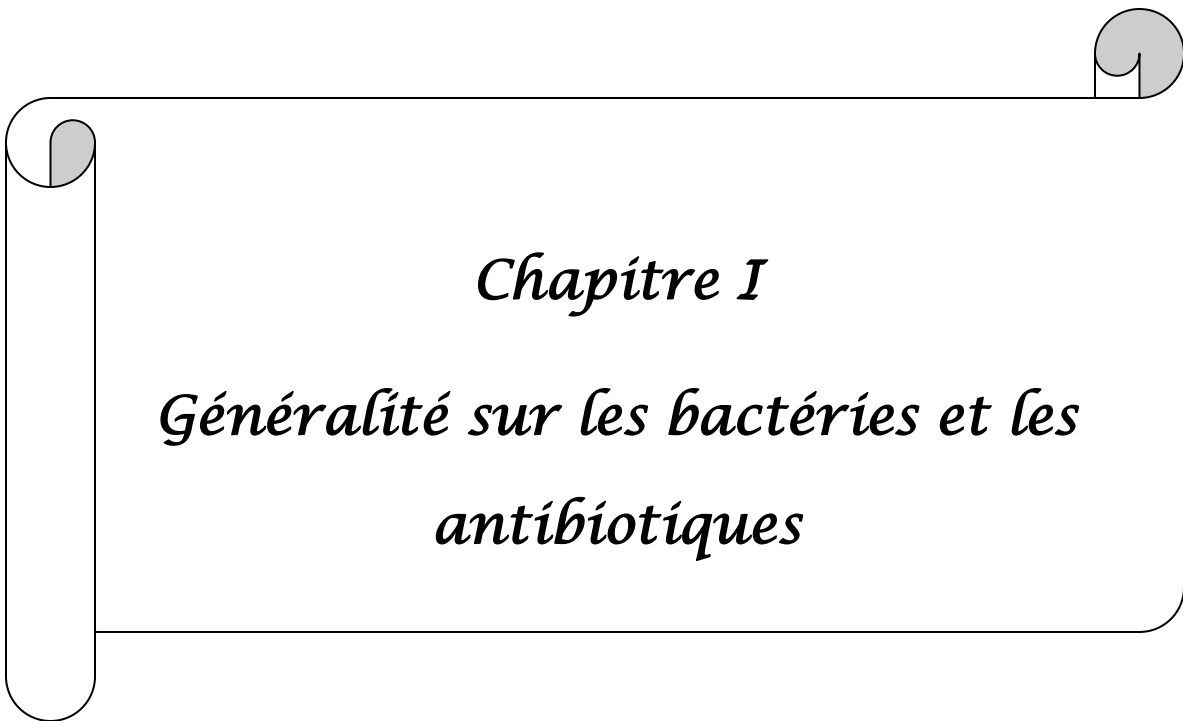
avec l'enzyme PBP3 « protéine à la liaison de la pénicilline » par la méthode du Docking moléculaire en utilisant le logiciel MOE, après nous exposons l'essentiel de nos résultats et une discussion. En suite, l'application de la règle de Lipinski dite « la règle de 5 ».

En fin une conclusion générale résume l'ensemble du travail réalisé.



## ***Références bibliographiques***

1. Talbert. M, willoquet. G, Gervais. R, *Guide phannaco*, 8ème Ed, worters Kluwer, France, 774-803. 2008.
2. Benzeggouta N. *Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de Magister. Université Mentouri de Constantine. 18 p. 2005.*
3. Miyachiro MM, Contreras-Martel C, Dessen A. "Protéines de liaison à la pénicilline (PBP) et complexes d'élongation de la paroi cellulaire bactérienne". *Biochimie subcellulaire. 93 : 273-289. janvier 2020.*
4. Cushnie TP, O'Driscoll NH, Lamb AJ. "Modifications morphologiques et ultrastructurales des cellules bactériennes en tant qu'indicateur du mécanisme d'action antibactérien". *Sciences de la vie cellulaire et moléculaire .73 (23): 4471-4492. décembre 2016.*
5. A.R. Leach, *Molecular Modelling: Principals and Applications*, Addison Wesley Longman Ltd, Edimbourg, Essex, England, 1996.
6. G. Náráy-Szabó, I. Berente, *Journal of Molecular Structure (Theochem), Computer Modeling of Enzyme Reaction*, P637-644, 2003.
7. Berman, H.M., J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T.N. Bhat, H. Weissig, I.N. Shindyalov, and P.E. Bourne, *The Protein Data Bank. Nucleic Acids Research*, 28(1): p. 235-242. 2000.
8. Kuntz, I. D.; Blaney, J. M.; Oatley, S. J.; Langridge, R.; Ferrin, T. E., *A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. Journal of Molecular Biology* , 161 (2), 269-288. 1982.
9. Kitchen, D. B.; Decornez, H.; Furr, J. R.; Bajorath, J., *Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. Nature Reviews Drug Discovery*, 3 (11), 935-949. 2004.



*Chapitre I*

*Généralité sur les bactéries et les  
antibiotiques*

# Généralité sur les bactéries et les antibiotiques

## I.1.Introduction

Les bactéries sont des êtres unicellulaires qui possèdent les éléments essentiels à la vie cellulaire. La plupart des bactéries ont une taille de l'ordre de 1 à 10  $\mu\text{m}$ . Il existe toutefois certaines espèces qui peuvent atteindre 500  $\mu\text{m}$  (ex : certains spirochètes), et d'autres qui au contraire ne dépasseront pas 0.1  $\mu\text{m}$  (ex : Mycoplasma sp). Les bactéries plus grandes que les virus (1), Leur classification est fondée sur les caractères morphologiques, tinctoriaux, biochimiques, antigéniques, et génétiques (2).

L'étude des bactéries est indispensable pour lutter contre les maladies, puisque les bactéries sont la cause de quelques maladies graves, ainsi que de multiples affections bénignes. La prévention et le contrôle de ces maladies dépendent en grande partie des efforts des bactériologistes, tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire ou en agriculture (3).

## I.2.Morphologie cellulaire des bactéries

Les bactéries se caractérisent par leur forme, leur dimension, et enfin les arrangements ou les groupements qu'elles constituent entre elles. Ces informations constituent la morphologie bactérienne, qui a constitué durant de longues années le critère essentiel de reconnaissance et d'identification.

La taille des bactéries est généralement d'environ 1  $\mu\text{m}$ , mais peut varier de 0.1  $\mu\text{m}$  chez les mycoplasmes à (0.7 $\times$  500  $\mu\text{m}$ ) chez les spirochètes (4).

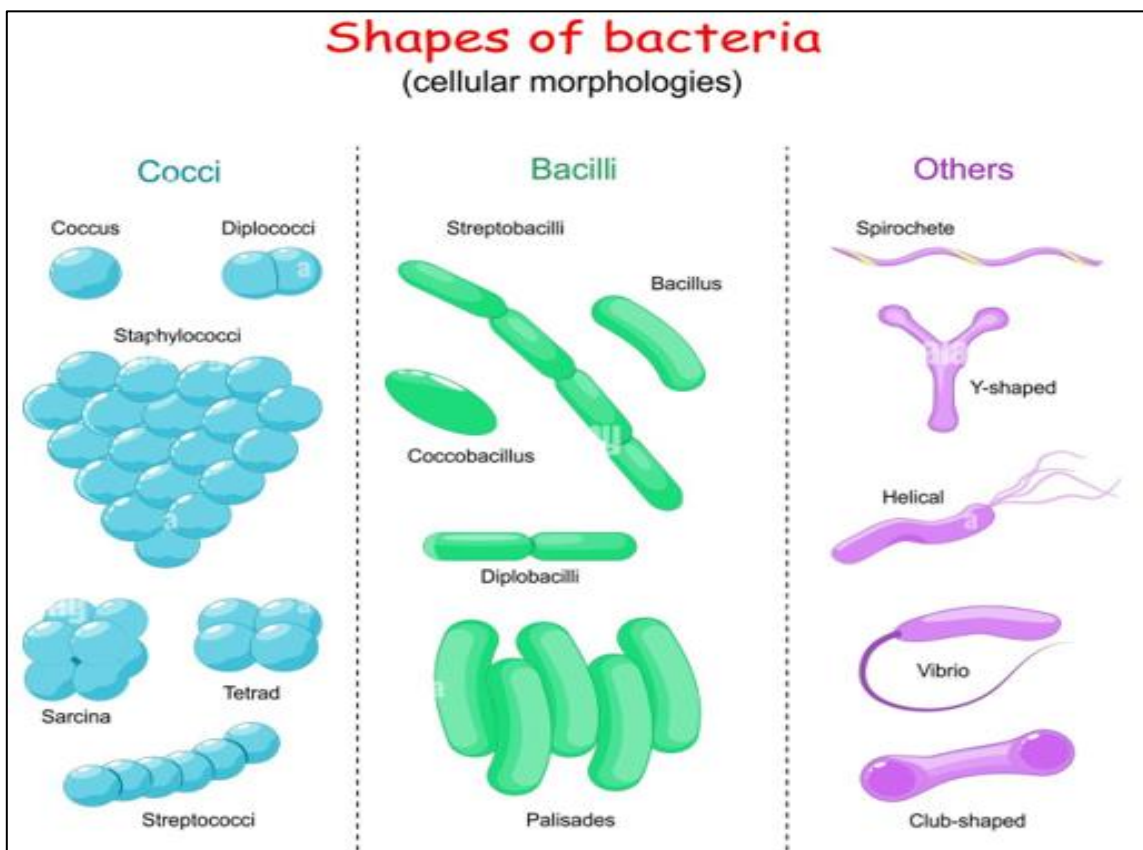
Il existe essentiellement trois formes de bactéries (1), résumées dans le tableau I.1 :

**Tableau I.1:** Principales formes de bactéries

<b>formes</b>	<b>Sphéroïdes ou coccoïdes</b>	<b>Bacille «bâtonnets»</b>	<b>Spiralées</b>
<b>Exemples</b>	<b>Staphylococcus sp. Streptococcus sp. Neisseria sp.</b>	<b>E. Coli Clostridium sp.</b>	<b>Treponema pallidum</b>

# Généralité sur les bactéries et les antibiotiques

Il existe cependant d'autres formes de bactéries, comme le montre la figure I.1 (5) :



**Figure I.1:** Différents formes de bactéries

## I.3. Les constituants de la cellule bactérienne

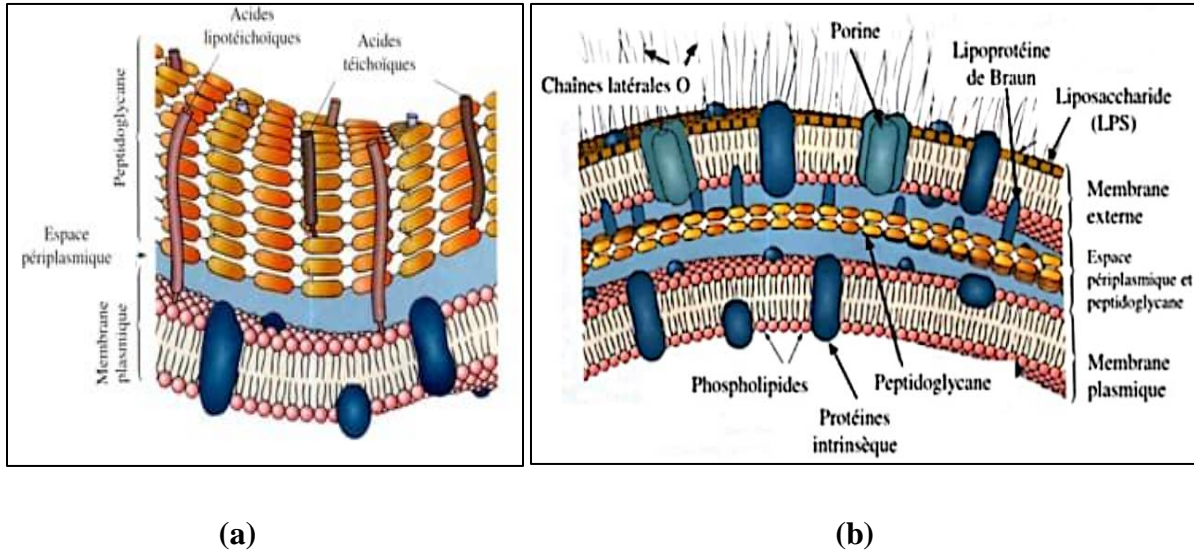
La bactérie possède un cytoplasme entouré, comme n'importe quelle cellule d'une membrane plasmique constituée de phospholipides. Autour de celle-ci se trouve toujours une paroi peptidique complexe, plus ou moins épaisse et différente selon que la bactérie est Gram positif ou négatif. De nombreuses bactéries possèdent des flagelles ou cils, qui sont des organes de locomotion insérés dans le cytoplasme bactérien sous forme de fins filaments (6).



**Figure I.2:** Schéma simplifié de la cellule bactérienne

### I.3.1. Paroi cellulaire

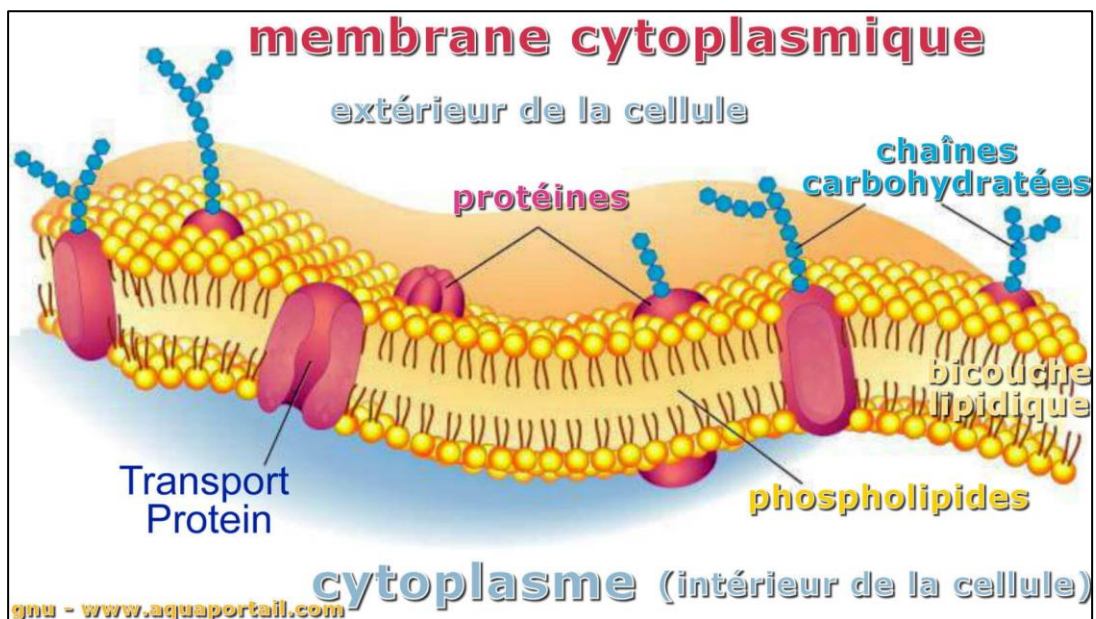
On peut distinguer deux grandes classes de bactéries, caractérisées par une architecture distincte de la paroi cellulaire qui les entoure. Ainsi, chez les bactéries Gram (+), la paroi cellulaire est constituée principalement de peptidoglycane, c'est la couche principale. L'épaisseur de cette couche est beaucoup plus importante que pour les bactéries à Gram négatif, chez les bactéries à Gram (-), la paroi cellulaire est constituée de trois couches. Les deux premières couches, les plus externes, sont composées de phospholipides et de protéines, elles forment la membrane externe. Sous cette membrane se trouve la troisième couche de la paroi, constituée d'un mince feuillet de peptidoglycane, qui ressemble beaucoup au peptidoglycane de la bactérie à Gram positif, sauf que la nature de son lien peptidique n'est pas le même. La paroi peut être identifiée à l'aide de la coloration de Gram (2).



**Figure I.3:** Paroi des bactéries Gram positif (a) et Gram négatif (b)

## I.3.2. Membrane cytoplasmique

Elle est formée d'une bicouche lipidique conforme au modèle en mosaïque fluide. Elle joue un rôle très important dans la biosynthèse (par les enzymes qui sont localisés à son niveau), l'excrétion d'enzymes hydrolytiques (espace périplasmique), la respiration, et les transferts des substances (diffusion passive, facilitée, transport actif et transport par translocation de groupe).



**Figure I.4:** Membrane cytoplasmique

# Généralité sur les bactéries et les antibiotiques

---

## **I.3.3.Cytoplasme et appareil nucléaire**

À côté de diverses structures de stockage (amidon, glycogène, polyphosphates inorganiques, inclusions de soufre ou de fer,...), appareil nucléaire et ribosomes sont présents dans le cytoplasme bactérien. Les bactéries possèdent un appareil nucléaire constitué d'acide désoxyribonucléique (ADN) qui est le support de l'information génétique. L'ADN chromosomique est constitué d'une double hélice d'ADN circulaire. Cette double hélice est pelotonnée, surenroulée dans le cytoplasme grâce à l'action des topoisomérases. Déplié le chromosome bactérien a près de 1 mm de long (1000 fois la longueur de la bactérie) et 3 à 5 nanomètres de large. Les deux chaînes de nucléotides se répliquent selon le schéma de Watson et Crick, chaque chaîne assurant la répllication de la chaîne complémentaire selon un mode semi-conservatif. C'est sur l'ADN chromosomique que sont codifiées toutes les informations indispensables à la survie et à la multiplication bactérienne.

## **I.3.4.Plasmides**

Ce sont des éléments génétiques extra chromosomiques, de petite taille (0.5 à 5 % du chromosome bactérien) et capables d'autoreproduction. Ils sont appelés épisomes s'ils s'intègrent au chromosome. Ils se répliquent indépendamment et en général plus rapidement que le chromosome bactérien. Les plasmides ne sont pas indispensables à la vie de la bactérie dans les conditions habituelles de croissance, mais lui confèrent des propriétés importantes dans des conditions particulières (résistance aux antibiotiques, production de substances à rôle pathogène).

## **I.3.5.Capsule**

Ce constituant inconstant est le plus superficiel. Constitué de polysaccharides acides (sucres sous forme d'acides uroniques tel l'acide galacturonique, l'acide glucuronique, mais aussi sous forme de sucres phosphorés). La capsule est un support de pouvoir infectieux, elle empêche la phagocytose des bactéries et constitue un support d'antigénicité car elle provoque la sécrétion d'anticorps. Dans l'environnement la capsule protège la bactérie des prédateurs (protozoaires) et contre la dessiccation.

## I.3.6. Cils, flagelles et pili

Les flagelles sont plus longs que les cils, et sont mobiles par rotation alors que les cils sont mobiles par battement. Ils jouent un rôle dans la mobilité, le chimiotactisme et ont des propriétés antigéniques.

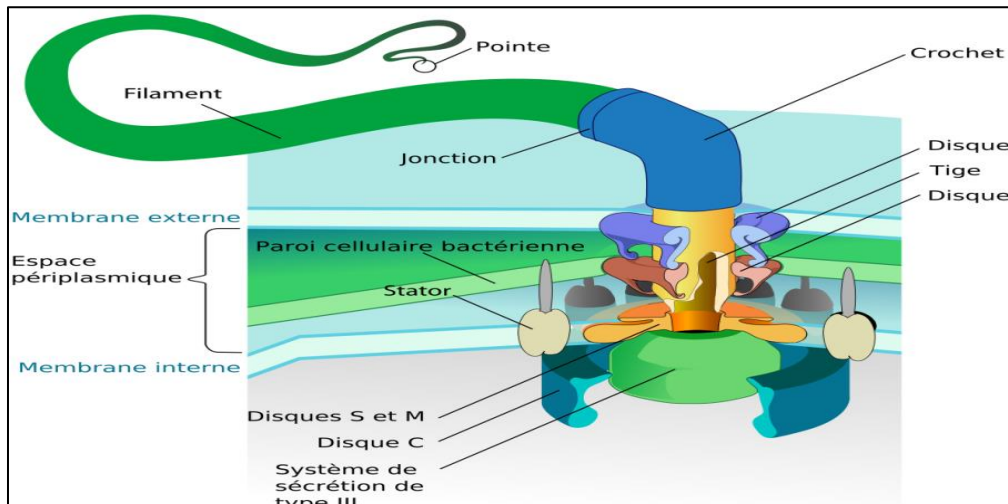


Figure I.5: Flagelle d'une bactérie

## I.3.7. Spores bactériennes

Certaines bactéries ont le pouvoir de se transformer en petites unités ovales ou sphériques, douées d'une résistance extraordinairement élevée lorsque le milieu s'épuise en éléments nutritifs, ou quand les conditions physicochimiques changent. Ce sont les spores ou endospores, car leur formation est intracellulaire (7).

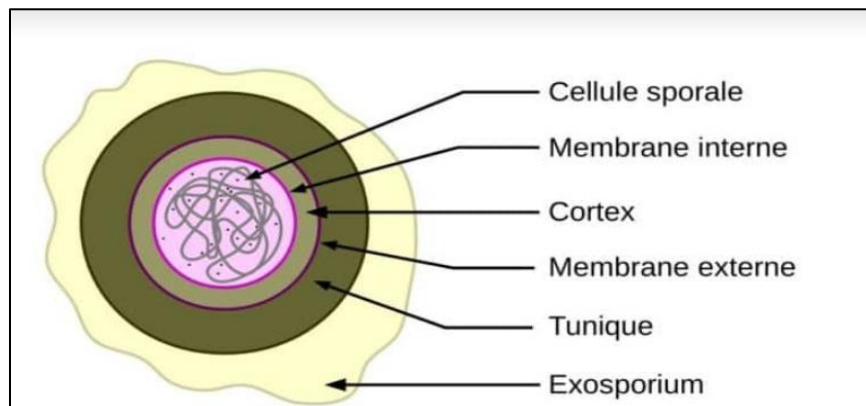


Figure I.6: Spore bactérienne



## I.4. Classification des principales bactéries pathogènes

Le tableau I.2 regroupe des exemples de bactéries pathogènes et les principales infections associés (8-10) :

**Tableau I.2:** Classification des principales bactéries pathogènes et les infections associées

		Exemples de bactéries	Principales infections associées
Cocci G +	Aero- Anaerobies Facultatifs	Staphylococcus aureus	Suppurations, septicémies, ostéites, endocardites
	Anaérobies Aerotolerants	Streptococcus sp	Angines, scarlatines, endocardites
		Streptococcus pneumoniae	Infections respiratoires, méningites
Cocci G -	Aerobies	Neisseria Meningitidis	Méningites
		Neisseria gonorrhoeae	Infections sexuellement transmissibles (IST)
Bacille G +	Aerobies	Corybacterium diphterae	Diphtérie
		Bacillus anthracis	Maladie du charbon
		Listeria Monocytogenes	Méningites du nouveau-né, septicémies
	Anaerobies Telluriques	Clostridium difficile	Colite pseudo-membraneuse
		Clostridium tetani	Tétanos

## Généralité sur les bactéries et les antibiotiques

		Clostridium perfringens	Gangrène gazeuse
		Clostridium botulinum	Botulisme
Bacille G-	Aerobies	Haemophilus influenzae	Infections respiratoires, méningites
		Pseudomonas Aeruginosa	Suppurations, septicémie
		Acinétobacter baumannii	Infections nosocomiales
		Vibrio cholerae	Choléra
	enterobacteries	Escherichia Coli	Infections urinaires, digestives
		Salmonella sp	Typhoïdes, toxi-infection alimentaire
		Shigella spp	Dysenterie bacillaire
		Proteus mirabilis	Infections urinaires
		Yersinia pestis	Peste
		Klebsiella pneumoniae	Infections pulmonaire, urinaires
	Micro-aerophiles	Helicobacter pylori	Ulcère gastro-duodéal  Gastrite chronique  Lymphome de MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) gastrique

## Généralité sur les bactéries et les antibiotiques

---

Bactéries particulières	Mycobacterium Tuberculosis	Tuberculose
	Treponema pallidum	Syphilis
	Chamydia trachomatis	Trachome, IST
	Borrelia burgdorferi	Maladie de Lyme

### I.5. Traitement des infections bactériennes

#### I.5.1. Définition de l'antibiotique

Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle ou synthétique, d'origine microbienne ou synthétisée chimiquement. Capable d'inhiber spécifiquement la croissance d'autres micro-organismes, par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe (11). Pour qu'il soit actif, un antibiotique doit pénétrer dans la bactérie, sans être détruit ni être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (12).

#### I.5.2. Critères de classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- **L'origine:** élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- **Le mode d'action:** paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.
- **Le spectre d'activité:** liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).
- **La nature chimique:** très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex: cycle bêta-lactame) sur laquelle il y a ensuite hémi synthèse.

La classification selon la nature chimique permet de classer les antibiotiques en familles (beta-lactamines, aminosides, tétracyclines ...etc.) (13).

## **I.5.3. Classes et cibles bactériennes des antibiotiques**

Les antibiotiques, pour pouvoir permettre une utilisation en thérapeutique, doivent utiliser des cibles bactériennes spécifiques, ce qui est facilité par leur nature procaryote. Malgré cela, les antibiotiques ne sont pas doués d'une spécificité absolue ce qui ne les privent pas d'effets indésirables, mais aussi de nombreuses interactions médicamenteuses, pouvant être spécifiques à un principe actif ou à toute la classe pharmacologique.

Chaque classe d'antibiotique agit au niveau moléculaire sur des cibles indispensables à la survie et/ou la croissance bactérienne. Ils doivent en pratique :

- Posséder une activité antibactérienne.
- Diffuser au niveau du site de l'infection, et le pénétrer ;
- Présenter une toxicité tolérable aux concentrations nécessaires (14).

### **I.5.3.1. Conditions d'activité des antibiotiques**

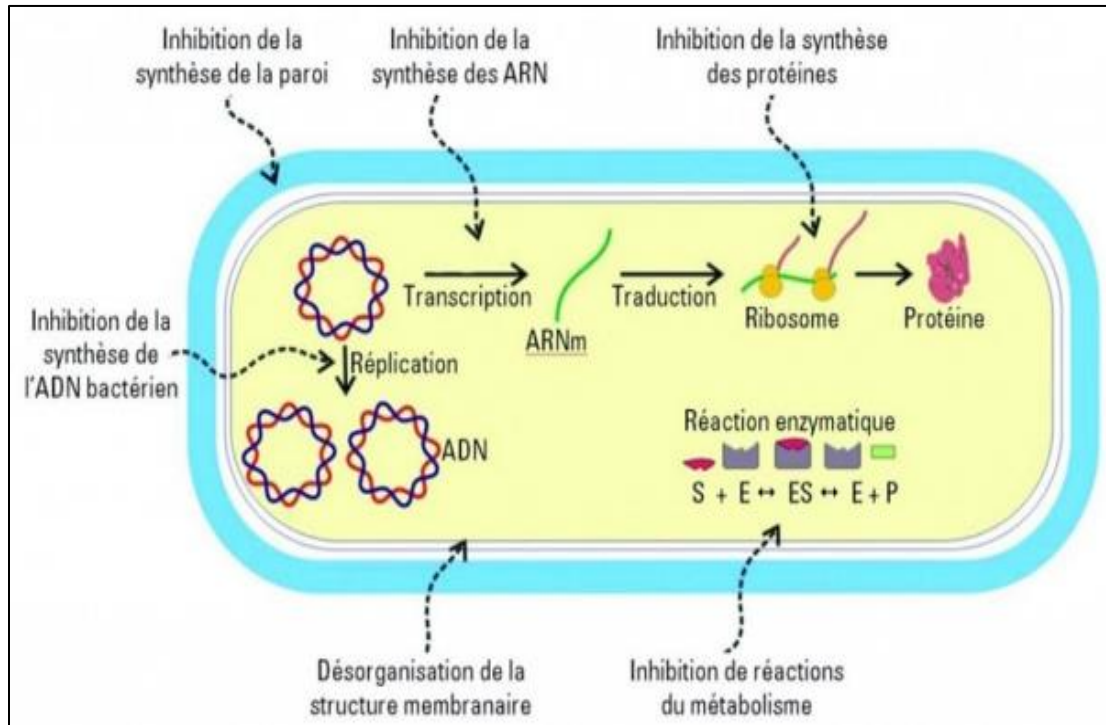
Afin de pouvoir exercer son activité antibactérienne, un antibiotique doit :

- Atteindre sa cible, et donc pénétrer la membrane externe, la paroi, et la membrane cytoplasmique.
- Persister à des concentrations suffisantes.
- Reconnaître la cible.

Les bactéries développent des mécanismes afin d'empêcher l'une ou l'autre de ces étapes, et ainsi permettre l'émergence de résistances aux antibiotiques (15).

### **I.5.3.2. Sites d'actions des antibiotiques**

# Généralité sur les bactéries et les antibiotiques



**Figure I.7:** Sites d'actions des antibiotiques

## ➤ Action sur la synthèse de la paroi

Ce sont essentiellement les  $\beta$ -lactamines caractérisés par un cycle  $\beta$ -lactame (pénicilline et céphalosporines), qui inhibent la synthèse de la paroi. Le mécanisme d'action des pénicillines n'est pas entièrement élucidé. On pense que les pénicillines inhibent l'enzyme catalysant la réaction de transpeptidation ce qui bloquerait la synthèse d'un peptidoglycane complet, totalement ponté et conduirait à une lyse osmotique. Le mécanisme est en accord avec l'observation selon laquelle, les pénicillines n'agissent que sur des bactéries en voie de croissance et de synthèse de peptidoglycane. Cependant on a découvert plus récemment que les pénicillines se fixent sur plusieurs protéines liant la pénicilline ou PLP. Cette liaison irréversible entraîne la lyse plus ou moins rapide de la cellule bactérienne, en activant ses propres enzymes autolytiques (4).

## ➤ Action sur la membrane plasmique

Les antibiotiques de nature polypeptidique comme les polymyxines, les gramicidines agissent sur la membrane cytoplasmique à la manière des agents tensio-actifs. Ce sont des agents surfactants cationiques. Ils détruisent la structure de la membrane de la cellule bactérienne en

## Généralité sur les bactéries et les antibiotiques

---

interagissant avec ses phospholipides. Les polymyxines ont un effet bactéricide sur les bacilles Gram-négatifs, en particulier les *Pseudomonas* et les coliformes.

Ils forment des pores à travers la membrane plasmique ce qui permet le passage d'ions monovalents. Les cellules dégènèrent puis meurent atteintes dans leurs fonctions vitales. Le phénomène se produit indifféremment sur des cellules en voie de croissance ou non proliférantes.

### ➤ Action sur la synthèse des protéines

Certains antibiotiques agissent sur la synthèse des protéines, en se fixant au niveau du ribosome en empêchant la lecture du code génétique ou en la faussant. Les macrolides (érythromycine, oléandomycine, etc.), les synergistines, la lincomycine et les tétracyclines, se fixent sur la fraction 50s des ribosomes et empêchent la pénétration ou la fixation du complexe acide aminé-ARNt ou empêchent la translocation. D'autres comme le chloramphénicol interviendraient plus tardivement en inhibant le processus de transpeptidation (formation des liaisons peptidiques). Les tétracyclines en se combinant avec divers ions métalliques par chélation, bloquent de nombreuses réactions biochimiques (glycolyse, phosphorylation, etc...). Les aminosides se à l'ARNr 30S et occasionnent des erreurs de lecture du code génétique en provoquant l'incorporation des acides aminés non conformes aux codons de l'ARNm. Les protéines formées dites non-sens sont génétiquement létales.

### ➤ Action sur les acides nucléiques

- **L'ADN:** la mitomycine C et les porfiromicynes, en formant des pores entre les deux brins d'ADN, empêchent leur migration au moment de la division cellulaire. La réplication de l'ADN par l'ADN polymérase qui nécessite une séparation totale des deux chaînes, devient impossible.

Ces substances inhibent donc la synthèse de l'ADN, bloquent la division cellulaire et provoquent l'accumulation dans les bactéries d'une grande quantité de désoxyribonucléosides. Ces composés sont doués de propriétés anti-tumorales. Les quinolones paraissent agir sur l'ADN gyrase, enzyme impliquée dans la formation de l'hélice d'ADN.

## Généralité sur les bactéries et les antibiotiques

---

- **L'ARN:** l'actinomycine bloque l'activité de l'ARN polymérase, elle empêche la progression de l'ARN polymérase le long de la matrice.

### ➤ **Action par Inhibition compétitive**

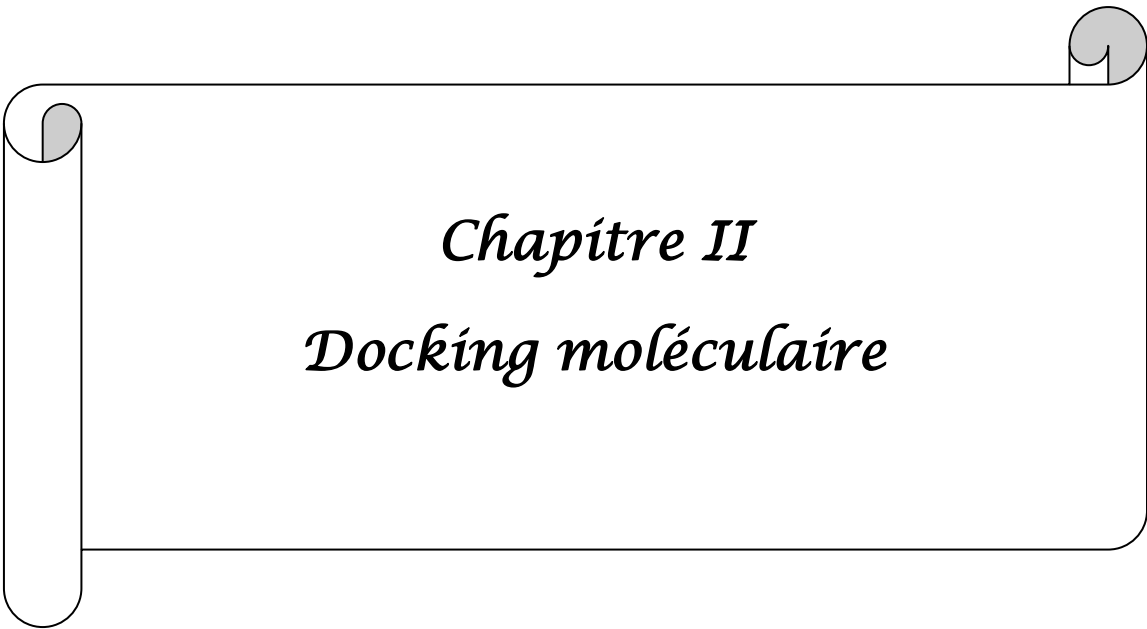
Certaines substances sont appelées anti métabolites ou analogues structuraux, parce qu'elles interfèrent avec des métabolites normaux de la cellule. On peut distinguer trois types principaux:

- Les analogues de vitamines comme les sulfamides, l'aminoptérine, qui sont des inhibiteurs enzymatiques.
- Les analogues d'acides aminés qui s'incorporent dans les protéines à la place des acides aminés normaux. Parafluorophénylalanine au lieu de l'alanine.
- Les analogues de bases puriques et pyrimidiques comme la 5-bromo-uracile, la 8-azaguanine, respectivement inhibitrice de la thymine et la guanine. L'incorporation de ces antimétabolites dans les ARN ou ADN conduit à des modifications génétiques qui provoquent des mutations (7).

## **Références bibliographiques:**

1. Ecosociosystèmes. *La cellule bactérienne*. [http://www.ecosociosystemes.fr/cellule\\_bacterienne.html](http://www.ecosociosystemes.fr/cellule_bacterienne.html).
2. ACAR, J. E. C., PATRICE *La fin de l'âge d'or des antibiotiques*. 50-53. 1998.
3. P., Singleton,. *Bactériologie*. 4ème édition : Dunod, 1999.
4. Prescott L., Harley J., Klein D., *Microbiologie*. Ed. De Boek université. 2003.
5. Ruiz Villareal M. *Bacterial morphology diagram [Figure]*. 2006 .  
[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bacterial\\_morphology\\_diagram.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bacterial_morphology_diagram.svg)
6. Hart T, shears P, *Atlas de poche de microbiologie, Médecine-sciences Flammarion*, 1997.
7. Meyer A., Deiana J., Bernard A., *Cours de microbiologie générale avec cours et exercices corrigés*. Ed. Doin. paris , 2004.
8. Calgagno F., Lacroix R. *Pharma-memo Infectiologie Paris, France* .246 p. 2011.
9. *Le moniteur INTERNAT. Infectiologie (3ème édition)*. Paris, France : Wolters Kluwers SA. 1036 p. 2007.
10. E. Pilly. *Maladie infectieuse et tropicale (24ème édition)*. Paris, France : Alinea Plus. 948 p. (2014).
11. Gogny .M, Puyt. J.D, Pellerin. J.L. *Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire*, Editions le point vétérinaire. p 165-168. 2001.
12. Ogawara, H., *Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to betalactam antibiotics*. *Microbial. Rev.* 45 (4), 591-619. 1981.
13. Carattoli, A., *Importance of integrons in the diffusion of resistance*. *Veterinary Research*. 32, 243-259. 2001.
14. Chaussade H, Sunder S, Bernard L, et al. *Les médicaments antibiotiques en urologie*. *Prog en Urol* ;23(15):1327-41. 2013.
15. Archambaud M. *Les antibiotiques*. [Présentation PowerPoint]. 2009.  
<http://www.medecine.ups-tlse.fr/pcem2/bacteriologie/pdf>.





*Chapitre II*  
*Docking moléculaire*

## II.1. Introduction

La conception de médicaments repose fréquemment sur les techniques de modélisation sur ordinateur dites aussi « in silico ». Ce type de modélisation est connu sous le nom de conception de médicaments assistée par ordinateur (1).

La découverte de médicaments est une activité coûteuse, longue et risquée (2). L'identification et la mise au point de nouveaux médicaments se fait par le Docking moléculaire (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français), qui est une approche in silico a pour but de prédire et à simuler la position la plus favorable d'un ligand au sein de la protéine (cible). Il est plus utile dans le domaine d'industrie pharmaceutique, de développement des médicaments et des biomolécules. A avantage de considérablement moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales, et grâce à ses outils que nous pouvons comprendre l'interaction ligand avec la cible, pour soit inhiber ou activer (3).

## II.2. Le Docking Moléculaire

Depuis le début des années 1980 (4), l'amarrage moléculaire est considéré comme l'outil de recherche le plus utile pour les méthodes in silico. Il tente de prédire l'orientation, la conformation, et la position d'une petite molécule (ligand) dans le site de fixation d'une macromolécule ciblée (récepteur). En estimant l'affinité et en identifiant les différentes interactions entre le ligand et son récepteur.

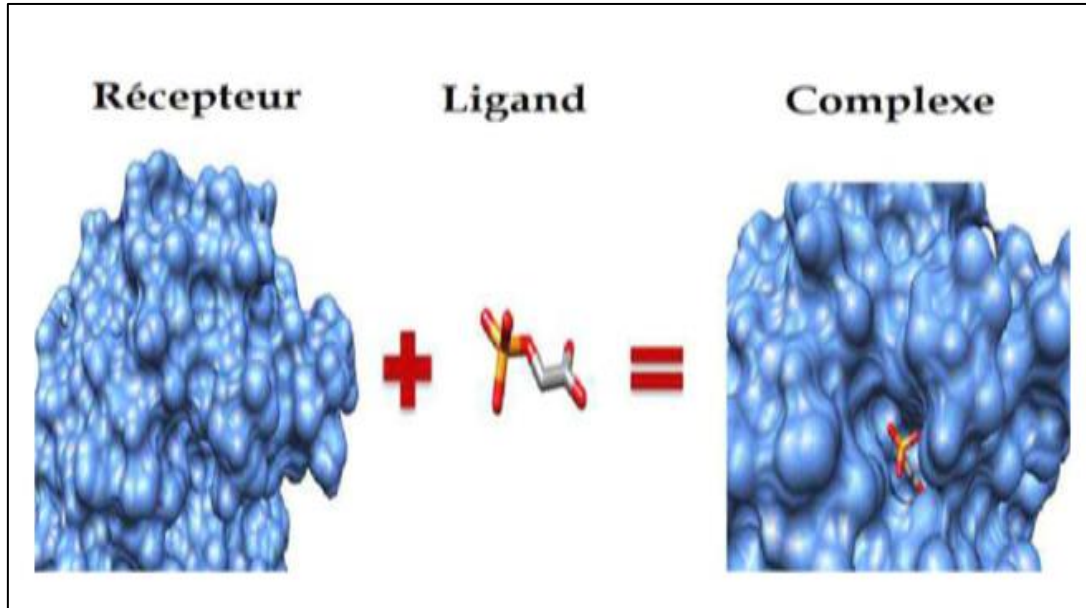
Le Docking est une méthode de modélisation moléculaire, qui utilise différents algorithmes. Les critères de choix de ces algorithmes sont d'une part le nombre de composés à tester, et d'autre part le temps et les moyens de calcul nécessaires pour atteindre la précision et le résultat souhaités (5).

Il existe deux principales applications au programme de Docking :

- La plus ancienne est la prédiction du mode d'interaction.
- La seconde consiste à optimiser des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur.

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer les performances des différents programmes de Docking pour chaque application (6).

## Docking moléculaire



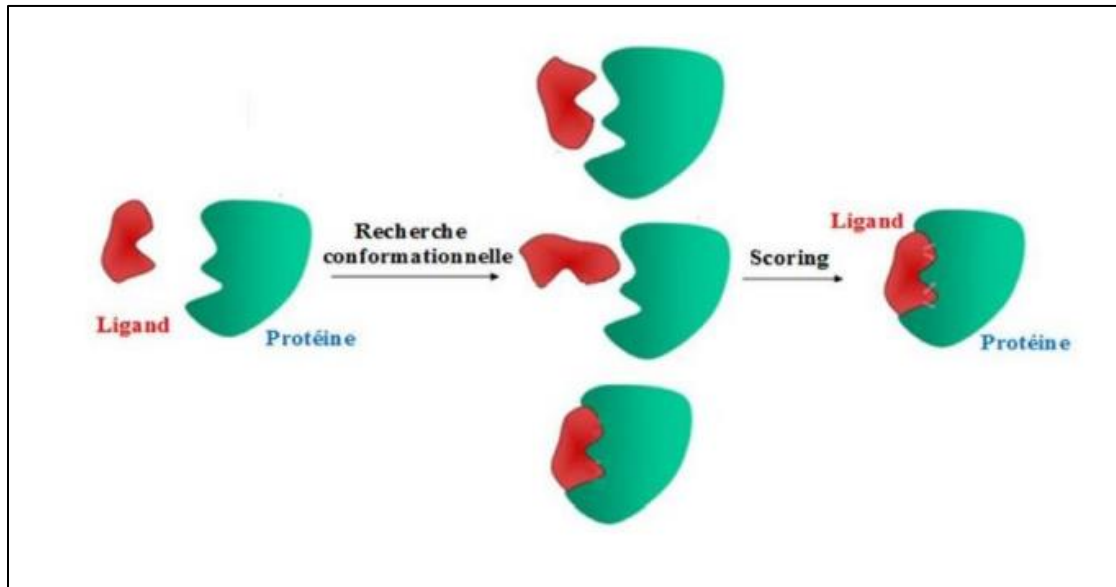
**Figure II.1:** Représentation schématique de Docking moléculaire

Une simulation de Docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires: le Docking et le scoring.

➤ Le Docking (la première) : est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interaction les plus favorables. Bien que pouvant être faite manuellement, cette étape est le plus souvent exécutée de manière automatisée à l'aide d'algorithmes de Docking, ce qui améliore la vitesse et la précision des simulations.

➤ Le Scoring (la deuxième) : est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine, dans chacun des complexes sélectionnés lors de l'étape précédente. Cette tâche est accomplie par des outils informatiques nommées fonctions de score. Celles-ci évaluent d'abord les différentes contributions énergétiques, pour la stabilisation du complexe protéine-ligand, et ordonnent ensuite ces complexes, permettant ainsi l'identification des modes d'interaction les plus probables (7,8).

# Docking moléculaire



**Figure II.2:** Principe général d'un programme de Docking

## II.2.1. Les outils du Docking moléculaire

### II.2.1.1. Le Récepteur

Les récepteurs sont des macromolécules, impliquées dans la signalisation chimique des signaux inter- et intracellulaires, ils peuvent être situés sur la membrane de surface cellulaire ou dans le cytoplasme. Les récepteurs activés agissent en régulant de façon directe ou indirecte des processus biochimiques cellulaires (par ex, conductance ionique, phosphorylation des protéines, transcription de l'ADN, activité enzymatique) (9).

### II.2.1.2. Ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un, ou plusieurs atomes ou ions centraux (10). Le choix du ligand est une étape très importante dans le docking moléculaire, il doit être sous forme 3D pour y obtenir, il existe deux moyens, la première souvent d'aspect commercial; est constituée de bases de données de structures chimiques appelés chimiothèques. Le second moyen consiste à utiliser ligands de la PDB, ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....etc) ; grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl... (11). Un ligand peut être:

## Docking moléculaire

---

- **Un substrat**: molécule qui se fixe au site actif de la protéine ou de l'enzyme pour subir une action : (décarboxylation, hydrolyse, déshydrogénation ...).
- **Coenzyme** : molécule qui complète l'action de certaines enzymes.
- **Activateur** : composé chimique qui entraîne un changement de conformation du site actif de l'enzyme, pour augmenter son affinité pour le substrat.
- **Inhibiteur** : contrairement à l'activateur, ce type de ligand modifie la structure électronique du site actif ; diminuant l'affinité de l'enzyme pour son substrat (12).

### II.2.2. Les interactions protéine-ligand

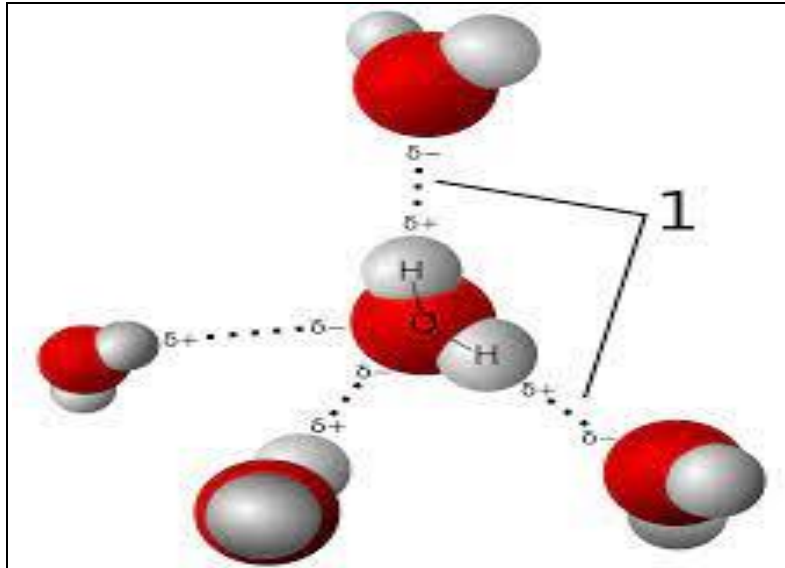
Les médicaments produisent leur effet en interagissant (de manière covalente ou non covalente) avec leur cible biologique dans le corps. La majorité des médicaments approuvés sont des petites molécules organiques (ligands), qui modifient les processus biochimiques en interagissant avec les protéines. L'élucidation du mécanisme derrière la liaison de petits composés organiques aux protéines ; est donc très pertinente à la fois pour la découverte de médicaments et pour la compréhension de nombreux processus biochimiques, qui dépendent de la liaison d'un ligand à une protéine (13).

#### II.2.2.1. Les liaisons hydrogènes

La liaison hydrogène est une force attractive qui s'opère entre deux groupes d'atomes impliquant un atome d'hydrogène. C'est une liaison physique, qui se situe entre la liaison covalente et l'interaction électrostatique. Le caractère covalent de la liaison hydrogène a été démontré à la fin des années 1990, mais la force d'interaction prédominante reste électrostatique (14). Cette liaison ne s'effectue pas avec n'importe quel atome, il faut un donneur et un accepteur (sous-entendu de proton) :

- ✓ Le donneur est l'atome d'hydrogène lié de manière covalente à un atome électronégatif ; typiquement azote, oxygène, fluor.
- ✓ L'accepteur est un autre atome électronégatif; uniquement azote, oxygène ou fluor.

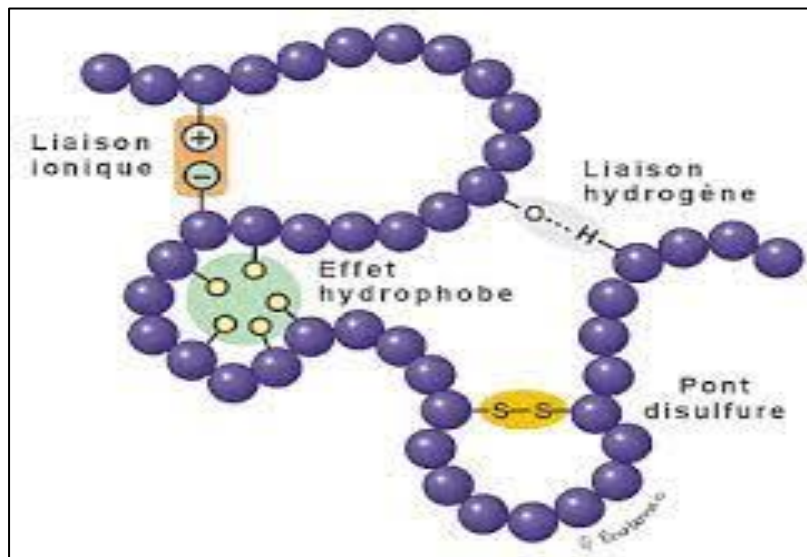
La figure 3 montre des exemples de liaison hydrogène.



**Figure II.3:** Liaison hydrogène

## II.2.2.2. Les interactions hydrophobes

Les acides aminés dont le radical est hydrophobe et apolaire, ont la propriété d'empêcher la formation des liaisons hydrogène entre les molécules d'eau (Figure II.4). Ils forment dans la structure des protéines des zones hydrophobes ; où les molécules d'eau ne peuvent échanger aucune liaison avec les radicaux d'acides aminés (15).

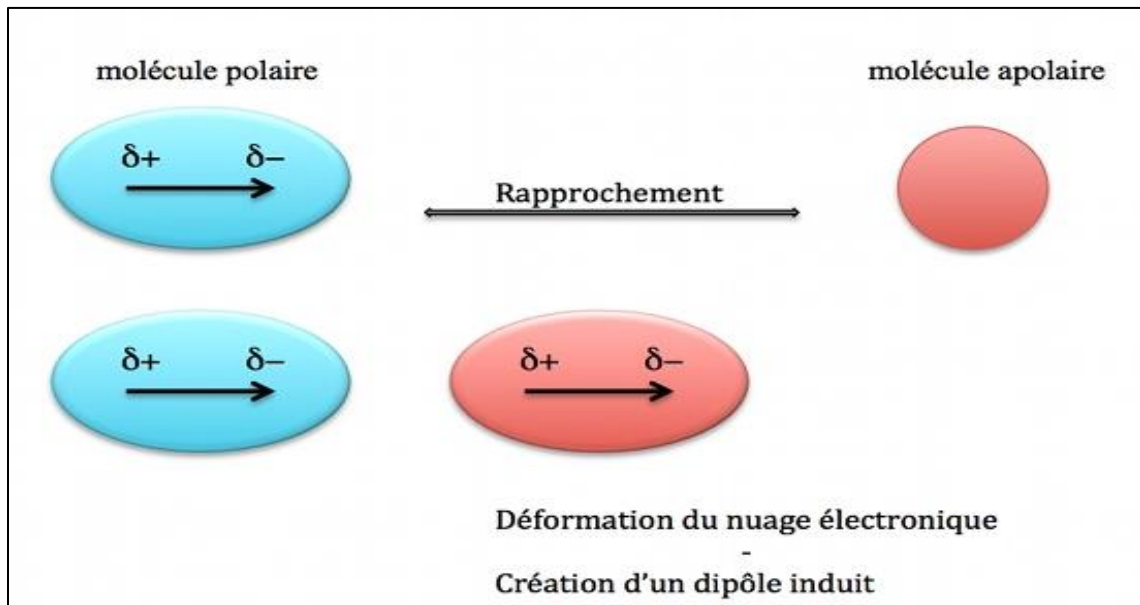


**Figure II.4:** Interactions hydrophobes

# Docking moléculaire

## II.2.2.3. Les interactions de Van Der Walls

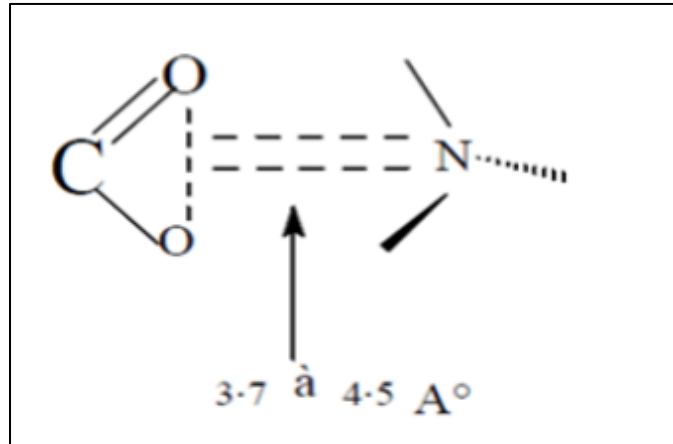
Ce sont des interactions entre atomes, molécules, ou entre une molécule et un cristal. Ces interactions Van Der Waals s'appliquent à très courte distance, et ne concernent donc que les atomes de surface. Elles sont nombreuses et contribuent essentiellement dans la recherche de la concordance stérique entre le ligand et la protéine réceptrice (16).



**Figure II.5:** Interaction de Van Der Walls

## II.2.2.4. Les interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques agissent à plus grande distance entre dipôles chargés (Figure II.6). La distance pour une liaison saline, par exemple est de 3.7 à 4.5 Å, et sa force est de l'ordre de 8 Kcal/mol. En présence de solvant, ces interactions sont favorisées du fait de la polarité et de la petite taille de la molécule d'eau (17).



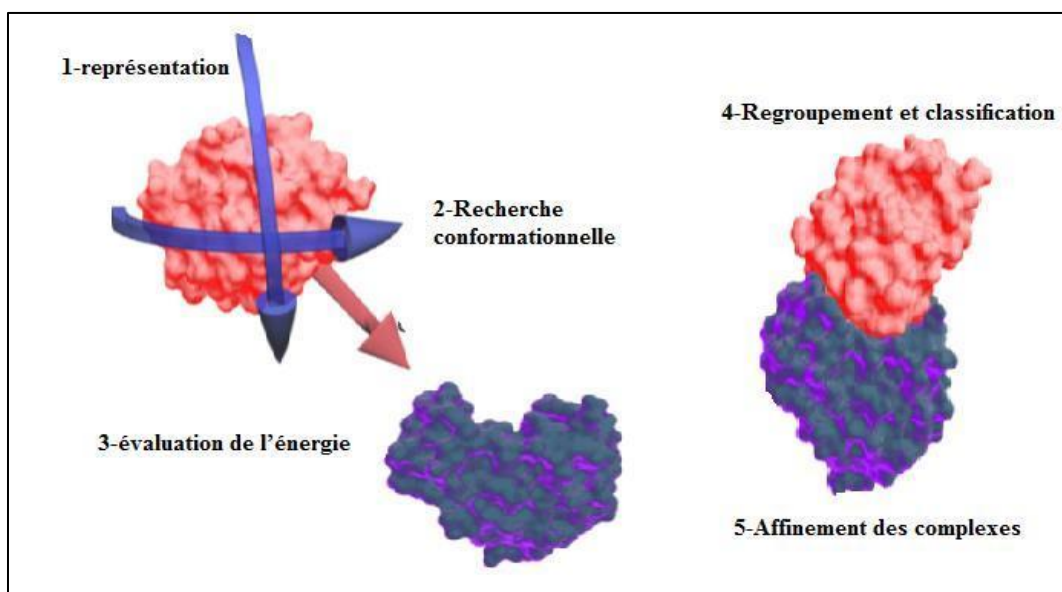
**Figure II.6:** Interactions électrostatiques

## II.2.3. Protocole générale de Docking

Les approches utilisées actuellement sont exclusivement calculatoires et évaluées, par des outils de visualisation. Ces approches peuvent être décomposées en quatre à cinq phases successives.

- Choix du mode de représentation des protéines (tout atome, pseudo-atome, grille, etc.), Exploration conformationnelle (corps-rigide position/orientation du ligand et/ou flexible position/orientation/forme du ligand).
- Minimisation de la fonction d'évaluation de l'énergie d'interaction (ou fonction de score) des conformations issues de l'exploration.
- Regroupement par ressemblances et classification par évaluation plus fine du score, accompagnée d'une étape non automatique d'évaluation visuelle des résultats, lorsque le score ne permet pas de discriminer la conformation native des différentes conformations générées.
- Une étape optionnelle d'affinement des complexes sélectionnés par minimisation ou dynamique moléculaire.
- Un algorithme de recherche pour explorer les possibilités de modes de liaison, un mécanisme pour placer le ligand dans le site de liaison et une fonction de score, pour classer les différents modes de liaison (18).





**Figure II.7:** Protocole général de Docking

## II.2.4. Les programmes du Docking moléculaires

A l'heure actuelle, Plus de 30 programmes de Docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités sont respectivement : AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK et ICM. Ils permettent notamment un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés. Ces programmes reposent le plus souvent sur des algorithmes spécifiques (Algorithme génétique, Recuit Simulé...), leur protocole est composé de 2 étapes essentielles Docking / Scoring (19).

**Tableau II.1:** Principaux programmes du Docking moléculaire

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

## II.2.5. Type de Docking moléculaires

### II.2.5.1. Docking rigide

Le Docking rigide, au cours duquel la protéine et le ligand sont tous les deux traités comme entièrement rigides. Ainsi, l'espace de recherche est très limité, ne considérant que trois degrés de liberté en translation et trois degrés de rotation. Cette simplification s'apparente à considérer un modèle de liaison de type "serrure-clé" ; où ni le ligand ni le récepteur ne subissent de réarrangements conformationnels suite à leur interaction. Le Docking rigide est généralement employé pour l'amarrage entre deux macromolécules (Docking protéine-protéine ou protéine/acide nucléique structuré), pour lesquelles les degrés de liberté sont trop importants pour réaliser un échantillonnage conformationnel efficace dans des temps de calculs raisonnables (20).

### II.2.5.2. Docking flexible

Lorsque les méthodes de Docking prennent en compte la flexibilité du ligand, deux étapes sont effectuées successivement pendant toute la durée du Docking. La première étape correspond à une exploration de l'espace conformationnel de manière à retrouver, parmi les conformations proposées, la conformation bioactive. Pendant la deuxième étape une fonction de score évalue ces conformations. Il existe plusieurs types d'algorithmes pour le traitement de la flexibilité du ligand: les méthodes systématiques (fragmentation/reconstruction), les méthodes aléatoires, et les méthodes de simulation (dynamique moléculaire) (21).

### II.2.5.3. Docking semi-flexible

Lorsque l'espace conformationnel des ligands est exploré, le nombre de degrés de liberté de l'espace de recherche peut être conséquent dans le cas de molécules très flexibles. Dans un tel contexte, l'emploi de méthodes de recherche exhaustives apparaît souvent inapproprié car nécessitant des simplifications importantes au niveau de l'échantillonnage. D'autres algorithmes, dits de fragmentation, sont employés pour construire de façon incrémentielle le ligand au sein du site actif de la protéine. L'espace des conformations du ligand est alors restreint au voisinage d'un ensemble initial d'états simplifiés. Cette stratégie de recherche par construction, qui se présente sous diverses variantes, est notamment adoptée par les programmes DOCK, FLEXX, et Hammerhead (22).

## Docking moléculaire

---

Les programmes de Docking semi-flexible considéré comme les plus efficaces emploient des méthodes de recherche aléatoires ou stochastique.

### II.2.6. Algorithmes de Docking

En principe, un Docking peut être fait de façon « manuelle » directement par le modélisateur, en plaçant le ligand dans le site actif de la protéine à l'aide d'une interface graphique. Ensuite, la géométrie de l'ensemble est optimisée de manière à corriger les problèmes stériques et obtenir un complexe énergétiquement stable. Cette approche est appliquée quand on a une idée précise du mode d'interaction réel du ligand (23).

Néanmoins, le plus souvent, le mode d'interaction réel n'est pas connu. Dans ce cas tester manuellement toutes les conformations et orientations des ligands s'avère impossible d'un point de vue pratique, même en considérant la protéine comme un corps rigide. Pour contourner cette difficulté, les algorithmes de Docking ont été conçus pour rechercher de façon objective, rapide et efficace les modes d'association « protéine-ligand » les plus favorables (24).

Les algorithmes de Docking peuvent être séparés en deux grandes classes ; ceux qui ne tiennent pas compte de la flexibilité de la protéine, en traitant celle-ci comme un corps rigide, et ceux qui sont capables de prendre en compte, partiellement la flexibilité du récepteur.

Dans les procédures de Docking considérant la protéine comme un corps rigide, la flexibilité du ligand seule est prise en compte pour l'obtention de complexes. Selon la méthode utilisée pour générer les conformères du ligand et les placer dans la cavité catalytique du récepteur, les algorithmes peuvent être sous-divisés en algorithmes de simulation de la mécanique moléculaire et ceux de la dynamique moléculaire (25) de forme, systématique et stochastique. Plusieurs articles de revue décrivant le principe, les points forts et les limitations de ces méthodes (26). Toutefois, cette classification doit être considérée avec précaution, puisqu'un bon nombre d'algorithmes combinent plus d'une méthode pour la génération et l'échantillonnage de conformères du ligand. Dans la plupart des cas, l'utilisation d'algorithmes considérant la protéine comme un corps rigide mène à de bons résultats, principalement quand la protéine a une flexibilité limitée. En effet, dans de tels cas, la structure cristallographique peut être considérée comme plus représentative de l'état de la protéine dans son environnement naturel, ce qui augmente les chances de simuler correctement la complexation des ligands (27).

## Docking moléculaire

---

Certaines protéines présentent naturellement des régions de grande flexibilité, subissant des réarrangements considérables en présence d'un ligand. Dans ce cas, négliger la flexibilité de la protéine peut mettre en péril la fiabilité des résultats de Docking, et rend nécessaire l'utilisation d'approches capables de tenir compte de la flexibilité du système entier (24). Des méthodes indirectes ou directes, où la flexibilité de la protéine est partiellement ou totalement prise en compte, sont décrites dans la littérature. Néanmoins, ces méthodes ne sont pas souvent utilisées car le gain en précision par rapport aux algorithmes traditionnels est généralement trop petit par rapport à l'augmentation du temps de simulation (25).

### II.2.7. Fonction 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 (Équation 1) (28).

$$\Delta G = \Delta G \text{ complexe} - \Delta G \text{ ligand} - \Delta G \text{ protéine} \quad \text{Équation 2}$$

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  $\Delta G_I$  pour une température T (29) (Équation 3).

$$\Delta G_I = -RT \ln K_{eq} \quad \text{Équation 4}$$

Avec : **R** est la constante des gaz parfaits et **K<sub>eq</sub>** est la constante d'équilibre. Ces fonctions de score sont généralement classées en quatre familles:

# Docking moléculaire

---

- 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.

## ➤ **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 Tripos, et Auto Dock (30) à celui d'AMBER. Les interactions entre récepteur et ligand comprennent souvent des termes de Vander Waals et électrostatiques (31).

## ➤ **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 (32). 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 (33). 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 (34).

## ➤ **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 (35). 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 5Å (36). 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 (37).

### ➤ 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 (38).

## II.3. Paramètres Drug-Like

La similarité médicamenteuse ou « Drug likeness » est un concept qualitatif utilisé en Drug Design, pour estimer combien une molécule est « Drug-Like » en ce qui concerne des facteurs comme la biodisponibilité. Il est estimé à partir de la structure moléculaire avant même que la substance soit synthétisée et testée. Drug likeness peut être défini aussi comme un équilibre complexe de diverses propriétés moléculaires et caractéristiques de structure, qui déterminent si une molécule particulière est similaire aux médicaments connus. Ces propriétés, principalement l'hydrophobicité, la distribution électronique, les caractéristiques de liaison hydrogène, la taille et la flexibilité des molécules et la présence de diverses caractéristiques pharmacophoriques, influent sur le comportement de la molécule dans un organisme vivant, notamment sa biodisponibilité, ses propriétés de transport, sa réactivité, sa toxicité la stabilité et beaucoup d'autres définir l'espace chimique de la ressemblance avec les médicaments. Les

critères les plus utilisés pour l'espace chimique de type médicamenteux sont la règle de Lipinski et Veber (39,40).

### II.3.1. Règle de Lipinski

Les conditions empiriques pour satisfaire la règle de Lipinski et manifester une bonne biodisponibilité orale, impliquent un équilibre entre la solubilité aqueuse d'un composé et sa capacité à diffuser passivement à travers les différentes barrières biologiques (41). Cette règle est la plus utilisée pour l'identification des composés "Drug-like". D'après cette règle, les composés ne validant pas au moins deux des critères suivants, ont de très fortes chances d'avoir des problèmes d'absorption ou de perméabilité par voie orale (42) :

- Masse moléculaire  $\leq 500$  Da
- $\text{Log } P \leq 5$
- Accepteurs de liaisons H  $\leq 10$
- Donneurs de liaisons H  $\leq 5$

### II.3.2. Règles de Veber

Les règles Veber suggèrent que la flexibilité moléculaire et la surface polaire (PSA) sont des déterminants importants de la biodisponibilité orale. Il est bien connu qu'une biodisponibilité orale élevée est un facteur important pour le développement de molécules bioactives, en tant qu'agents thérapeutiques. La réduction de la flexibilité moléculaire (mesurée par le nombre de liaisons rotatives) et la faible surface polaire sont des prédicateurs importants de la bonne biodisponibilité orale (43).

Pour une biodisponibilité orale idéale, il existe deux autres descripteurs identifiés par Veber et al :

- Les liaisons rotatives sont inférieures à 10.
- La surface polaire est inférieure à  $140 \text{ \AA}^2$

Le nombre de liaisons rotatives (NRB) a été défini comme une simple liaison, non pas dans un cycle, liée à un atome non terminal (c'est-à-dire non hydrogène). Sont exclues les liaisons amide C-N en raison de leur barrière à l'énergie de rotation élevée. D'autre part, la surface polaire

## Docking moléculaire

---

(PSA) qui est formée par des atomes polaires d'une molécule. C'est un descripteur qui montre une bonne corrélation avec le transport moléculaire passif à travers les membranes, et permet donc d'estimer les propriétés de transport des médicaments.

Note : Ces paramètres sont calculés en utilisant le logiciel molinspiration (44).



## **Références bibliographiques**

1. Asses, Y. *Conception par modélisation et criblage in silico d'inhibiteurs du récepteur c-Met*. Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré – Nancy I, 2011.
2. Heifetz, A. «*Quantum Mechanics in Drug Discovery: Methods in Molecular Biology*», Ed.; Springer US: New York, NY, 2020.
3. Martin L. *Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif. une application sur la protéine kinase FAK*. thèse de doctorat d'université : Bioinformatique .Montpellier : Université Montpellier 2.France, 149 p. 2006.
4. Kuntz ID, Blaney JM, Oatley SJ, Langridge R, Ferrin TE. *A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. Journal of molecular biology.* 161(2):269-88. 1982.
5. Bastard K. *Assemblage flexible de macromolécules: la théorie du champ moyen appliquée au remodelage des boucles protéiques: Paris 7 ;2005*.
6. Gabb J., Jackson R.M., Sternberg M.J.E. *Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. J. Mol.Biol.* 272: 106-120. 1997.
7. G.L. Warren, C. Webster Andrews, A.M. Capelli, B. Clark, J. LaLonde, M.H. Lambert, M. Lindvall, N. Nevins, S.F. Semus, S. Senger, G. Tedesco, I.D. Wall, J.M. Woolven, C.E. Peishoff, M.S. Head. *A critical assessment of docking programs and scoring functions. Journal of Medicinal Chemistry* 49, 5912-5931; 2006.
8. I. Helperin, B. Ma, H. Wolfson, R. Nussinov. *Principles of dockings: an overview of search algorithms and a guide to scoring functions. PROTEINS: . Structure, function and Bioinformatics* 47, 409-443; 2002.
9. Martin L. *Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif : une application sur la protéine kinase FAK*. Thèse de doctorat d'université : Bioinformatique. Montpellier : Université Montpellier 2. France. 149p. 2006.
10. Leacha, R., *molecular modelling: Principles and application. pearson education canada.,* 582, 10-6. 2001.
11. Monge A. *Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche « in silico » de nouveaux composés bioactifs*. Thèse de doctorat d'université , Université d'Orléans. France. 2006.

## Docking moléculaire

---

12. Renvez, G, *Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines vers un processus de docking. Thèse de doctorat Université Toulouse III - Paul Sabatier France, 2010.*
13. Berg, L.; *Thèse « Exploring non-covalent interactions between drug-like molecules and the protein acetylcholinesterase ». Université Sweden, 2017.*
14. Isaacs, E. D.; Shukla, A.; Platzman, P. M.; Hamann, D. R.; Barbiellini, B.; Tulk, C. A., *Covalency of the hydrogen bond in ice: A direct X-ray measurement. Physical Review Letters, 82 (3), 600. 1999.*
15. SALAHI, D, *Modélisation de la structure d'une protéine impliquée dans le cancer et de ses interactions avec quelques ligands, Mémoire de Master. Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzo, 2014.*
16. Teno, S, *Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de Cellules cancéreuses. Magat : Technologie des Explorations Biochimiques : Université M'entourai Constantine, 2012.*
17. Douglas B Kitchen, Hélène Decornez, John R Furr, and Jürgen Bajorath. *Docking and scoring in virtual screening for drug discovery. methods and applications. Nature reviews Drug discovery, 3(11) :935–949, 2004.*
18. Férey N, Bouyer G, Martin C, Drif A, Bourdot P, Ammi M, Nelson J, Burkhart J-M, Autin L. *Docking De Protéines En Réalité Virtuelle : Une Approche Hybride Et Multimodale. 2e Soumission A Rsti, P 10. 2008.*
19. Grosdidier A. *Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. 90 p. France. 2007.*
20. Chevrollier, N. ; *Thèse « Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin », . Université Paris Sud, 2019.*
21. Ayaz Mahmood Dar, and Shafia Mir . *Molecular Docking: Approaches, Types, Applications and Basic Challenges. J Anal Bioanal Tech. 2017.*
22. Alexandre Beautrait, *thèse doctorat en Chimie Informatique , et Théorique développement et validation de la plateforme de criblage virtuel VSM-G et étude du domaine fat de la kinase d'adhérence focale FAK . Université Henri Poincaré. 2008.*
23. A. Jain. *Scoring Functions For Protein-Ligand Docking. Current Protein And Peptide Science, 7, 407-420. 2006.*

## Docking moléculaire

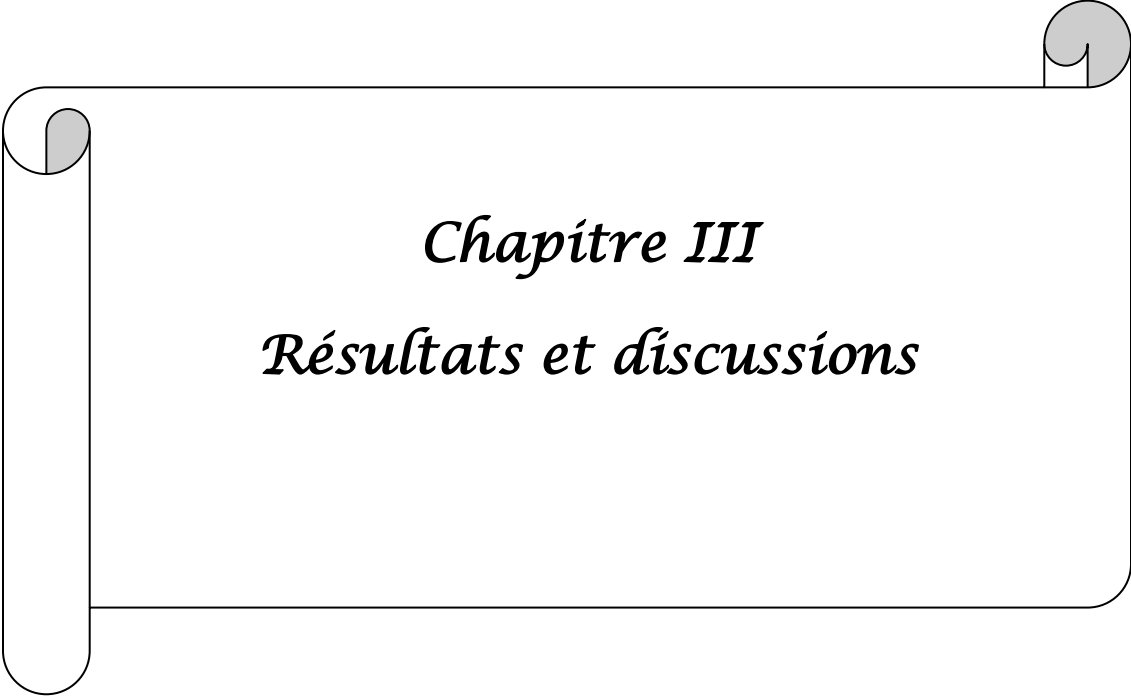
---

24. R.D. Clark, A. Strizhev, J.M. Leonard, J.F. Blake, J.B. Matthew. *Consensus Scoring For Ligand/Protein Interactions. Journal Of Molecular Graphics And Modelling*, 20,281-.2002.
25. M. Feher. *Consensus Scoring For Protein–Ligand Interactions. Drug Discovery Today*,11, 421-428. 2006.
26. B. Florent, *Cours On Line;" Le Docking Moléculaire"*,. Université De Paris7,Itodys( Cnrs Umr 7086),. 2014.
27. Férey N, Bouyer G, Martin C, Drif A, Bourdot P, Ammi M, Nelson J, Burkhart J-M, Autin L. *Docking De Protéines En Réalité Virtuelle : Une Approche Hybride Et Multimodale. 2e Soumission A Rsti*,P 10. 2008.
28. 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. *Calculating structures and free energies of complex molecules: combining molecular mechanics and continuum models. Accounts of Chemical Research*,33: 889-897. 2000.
29. 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.
30. Simonson T, Archontis G, Karplus M. *Free energy simulations come of age: proteinligand recognition. Accounts of Chemical Research*; 35: 430-437. 2002.
31. Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart WE. *Automated docking using a Lamarckian genetic emphasis on quantitative analysis of protein-ligan algorithm and an empirical free energy function. Journal of Computational Chemistry*,19: 1639-1662. 1998.
32. Verdonk ML, Cole JC, Hartshorn MJ, Murray CW. Taylor. *Improved protein–ligand docking using GOLD. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 52(4): 609– 623. 2003.
33. 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*, 90: 8103-8107. 1993.
34. Lafond M , *Docking et scoring. Schrödinger*,.2015.

## Docking moléculaire

---

35. Holloway MK, *A priori Prediction of Activity for HIV-1 Protease Inhibitors Employing Energy Minimization in the Active Site. Journal of Medicinal Chemistry*, 38: 305-317. 1995.
36. 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*, 8: 243-256.1994.
37. 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*,41: 836-852. 1998.
38. Schneider G, Böhm HJ. *Virtual screening and fast automated docking methods. Combinatorial Chemistry*,7: 64-70. 2002.
39. Martin, E.J.; Critchlow, R.E., *J. Comb. Chem.*, 1, 32–45. 1999.
40. Barn, D.;Caulfield, W.; Cowley, R.; Dickins, R.; Bakker, W.I.; McGuire, R.; Morphy, J.R.; Rankovic, Z.; Thorn, M., *J. Comb. Chem.*, 3,534–541. 2001.
41. Giulio Vistoli, Alessandro Pedretti, and Bernard Testa. *Assessing drug-likeness—what are we missing ? Drug discovery today*, 13(7-8) :285–294, 2008.
42. Aurélien Monge. *Design and use of optimized chemical databases for “ in silico research of new bioactive compounds. Theses, Université d’Orléans, November. 2006.*
43. Remko M., Swart M. and Bickelhaupt F. M., *J. Bioorg. Med. Chem.* 14, 1715 2006.
44. Database,[<http://www.molinspiration.com>].



*Chapitre III*  
*Résultats et discussions*

### III.1. Introduction

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 œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales (1). Le Docking permet d'identifier de nouvelles molécules d'intérêt thérapeutique, pour déterminer l'affinité de liaison et prédire les interactions entre les ligands et les acides aminés composant la structure d'une protéine (cible), au niveau des molécules cibles. Elle permet de positionner un ligand (petite molécule) dans le site de liaison des récepteurs de façon à optimiser les interactions entre ce ligand et le récepteur.

Nous présentons dans ce chapitre l'étude des interactions entre les différents ligands de dérivés de thienopyrimidine avec la protéine de liaison à la pénicilline 3 (PBP3), par la méthode du Docking moléculaire, en utilisant le logiciel Molecular Operating Environment (MOE). Nous avons rassemblé les résultats et leurs discussions de calcul, que nous avons engagés en se basant sur le score et les distances entre les différents ligands et les résidus du site actif de la protéine, ainsi que les différents types d'interactions présentes entre certains acides aminés de la protéine étudiée et ceux des ligands.

### III.2. Matériel et outils utilisés

#### III.2.1. Micro-ordinateur

Notre travail pratique est effectué sur deux micro-ordinateurs qui ont les caractéristiques citées dans le tableau suivant :

**Tableau III.1:** Caractéristiques des ordinateurs utilisés

caractéristiques	Ordinateur (1)	Ordinateur (2)
Mémoire (RAM)	4,00 GO	4,00 GO
processeur	Intel ® CPU B815 @ 1,60 GHz	AMD E1-1500 APU with Radeon(tm) HD Graphics 1.48 GHz
Système d'exploitation	Windows 7 Home Premium	Windows 10 professionnel

## Résultats et discussions

Type de système	32 Bits	32 Bits
-----------------	---------	---------

### III.2.2. Banques (Bases) De données et outils logiciels

- **Protein Data Bank (PDB)**

Est la seule base de données mondiale pour les structures 3D des macromolécules biologiques (2). Les structures sont déposées par des scientifiques du monde entier et sont accessibles gratuitement (3). Parmi les méthodes expérimentales employées pour déterminer les structures présentes sur la PDB, la diffraction de rayons-X et la spectroscopie RMN (2).

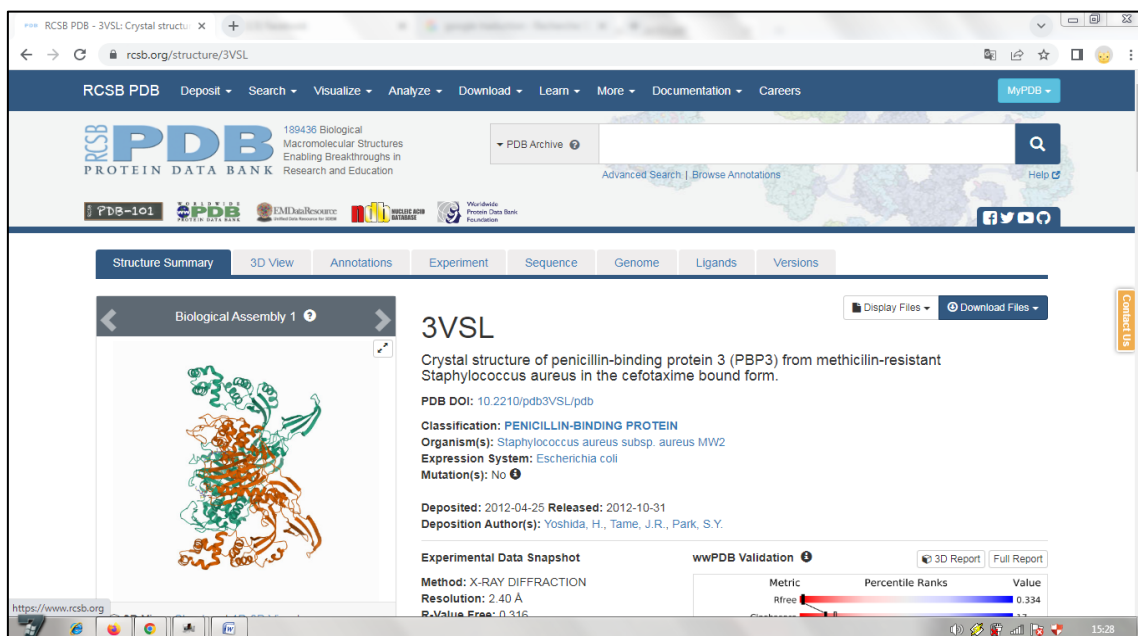
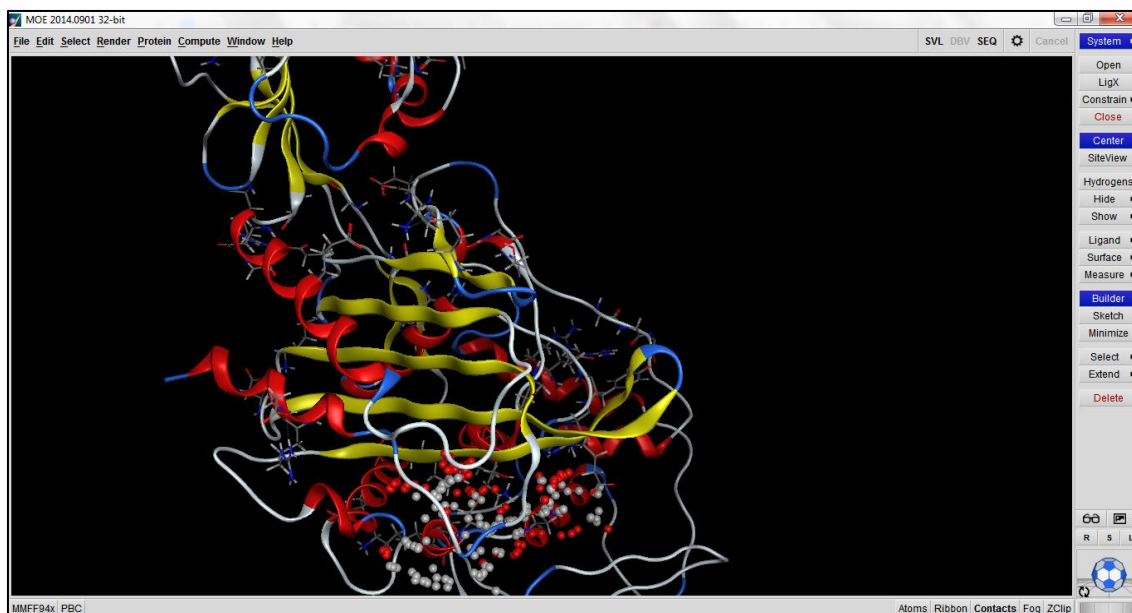


Figure III.1: Interface du site Protéine Data Bank (PDB)

- **MOE (Molecular Operating Environment)**

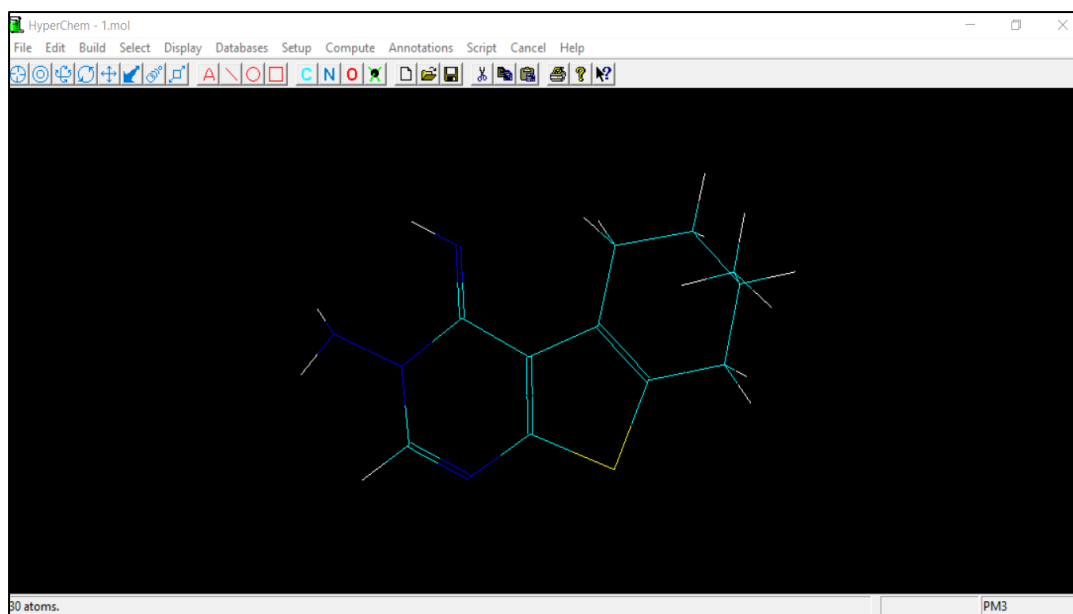
Est une plateforme logicielle de découverte de médicaments qui intègre la visualisation, la modélisation, et les simulations (4). Le MOE est capable d'effectuer plusieurs tâches pendant un temps très réduit. Il permet de dessiner les molécules, de les minimiser pour avoir les meilleures conformations de ces molécules. Il permet également de dockner plusieurs ligands rassemblés dans une base de données dans le site actif d'une protéine de manière successive. MOE présente une forme de Docking flexible dans lequel le récepteur et le ligand change de conformation et s'adaptent à l'environnement (5).



**Figure III.2:** Interface du logiciel MOE

- **Hyperchem 8.0**

Est un logiciel de modélisation moléculaire développé par Autodesk, et distribué par hypercube (6). C'est un logiciel sophistiqué qui est connu pour sa qualité, sa flexibilité et sa facilité d'usage. Unissant l'animation et la visualisation 3D, hyperchem peut faire des calculs de mécanique, de dynamique moléculaire et même quantiques.



**Figure III.3:** Interface du logiciel Hyperchem



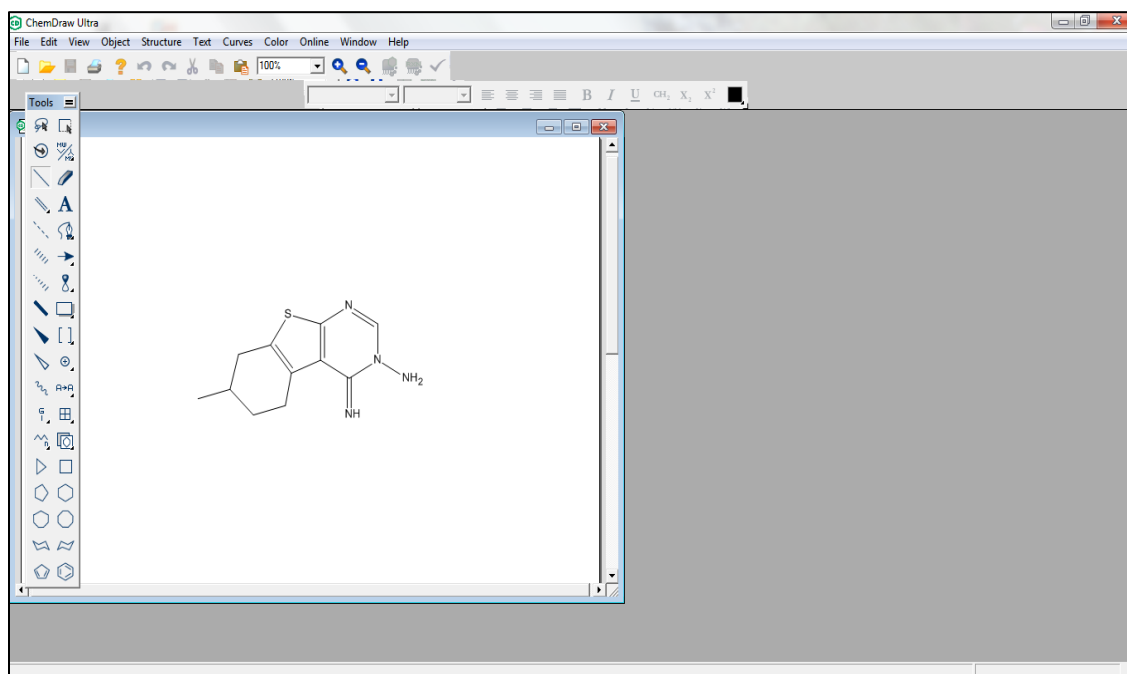
## Résultats et discussions

- **ChemDraw Prime**

Est la version comprenant les fonctionnalités essentielles. En plus de fournir les éléments usuels tels que les cycles, liaisons, chaînes, atomes et les groupes fonctionnels, ChemDraw Prime comprend des calculateurs de propriétés, des modèles d'équipements chimiques et de laboratoire. La (Figure III.4) montre l'interface graphique du logiciel ChemDraw.

-Les fonctionnalités de ChemDraw Prime:

1. Dessin de molécules.
2. Calcul des données stœchiométriques (7).



**Figure III.4:** Interface du logiciel ChemDraw

- **BIOVIA Discovery studio Visualizer**

Est un visualiseur gratuit qui peut être utilisé pour ouvrir des données générées par d'autres logiciels de la gamme de produits Discovery Studio. Il est conçu pour offrir un environnement interactif permettant de visualiser et d'éditer des structures moléculaires, des séquences, des données de réflexion des rayons X, des scripts et d'autres données voir (la Figure III.5).

## Résultats et discussions

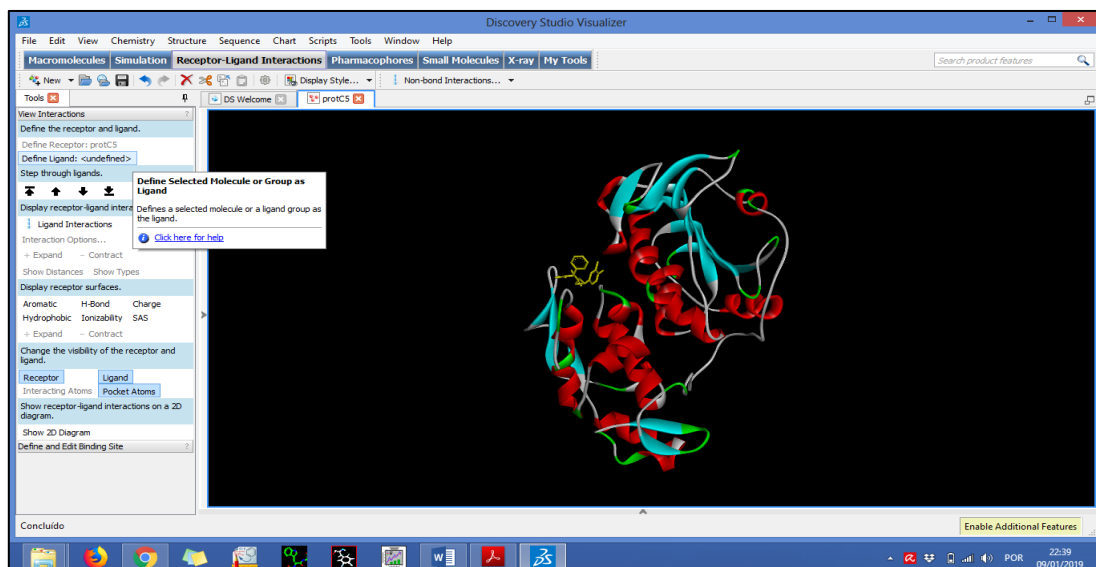


Figure III.5: Interface web de visualiseur Discovery studio

- **Molinspiration**

Molinspiration propose une large gamme d'outils logiciels de chimie, prenant en charge la manipulation et le traitement des molécules, y compris la conversion SMILES et SD file, la normalisation des molécules, la génération de tautomères, la fragmentation des molécules, le calcul de diverses propriétés moléculaires nécessaires dans QSAR, la modélisation moléculaire et la conception de médicaments, la représentation de molécules de haute qualité, outils de bases de données moléculaires prenant en charge les recherches de sous-structure et de similarité (8).

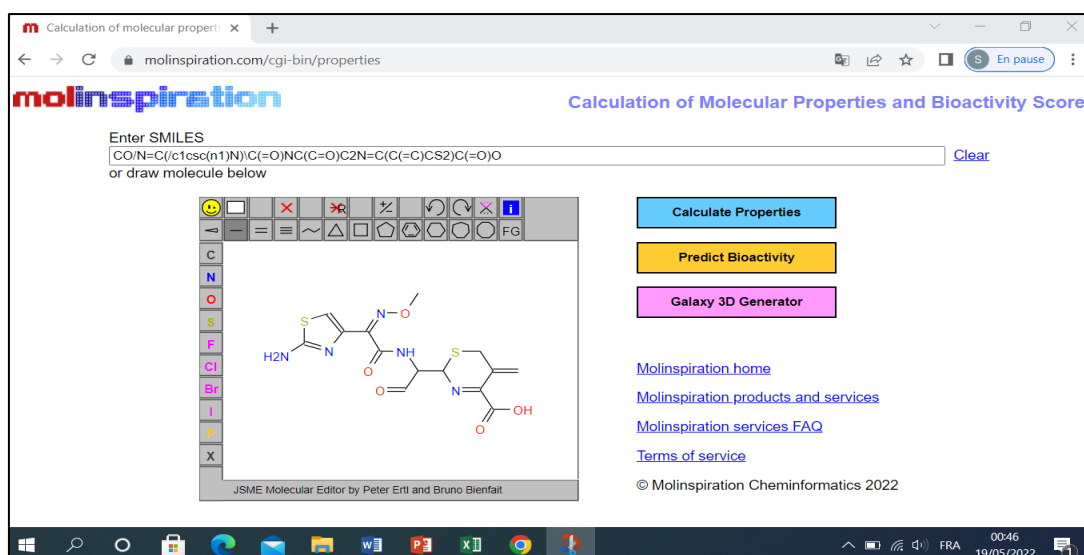
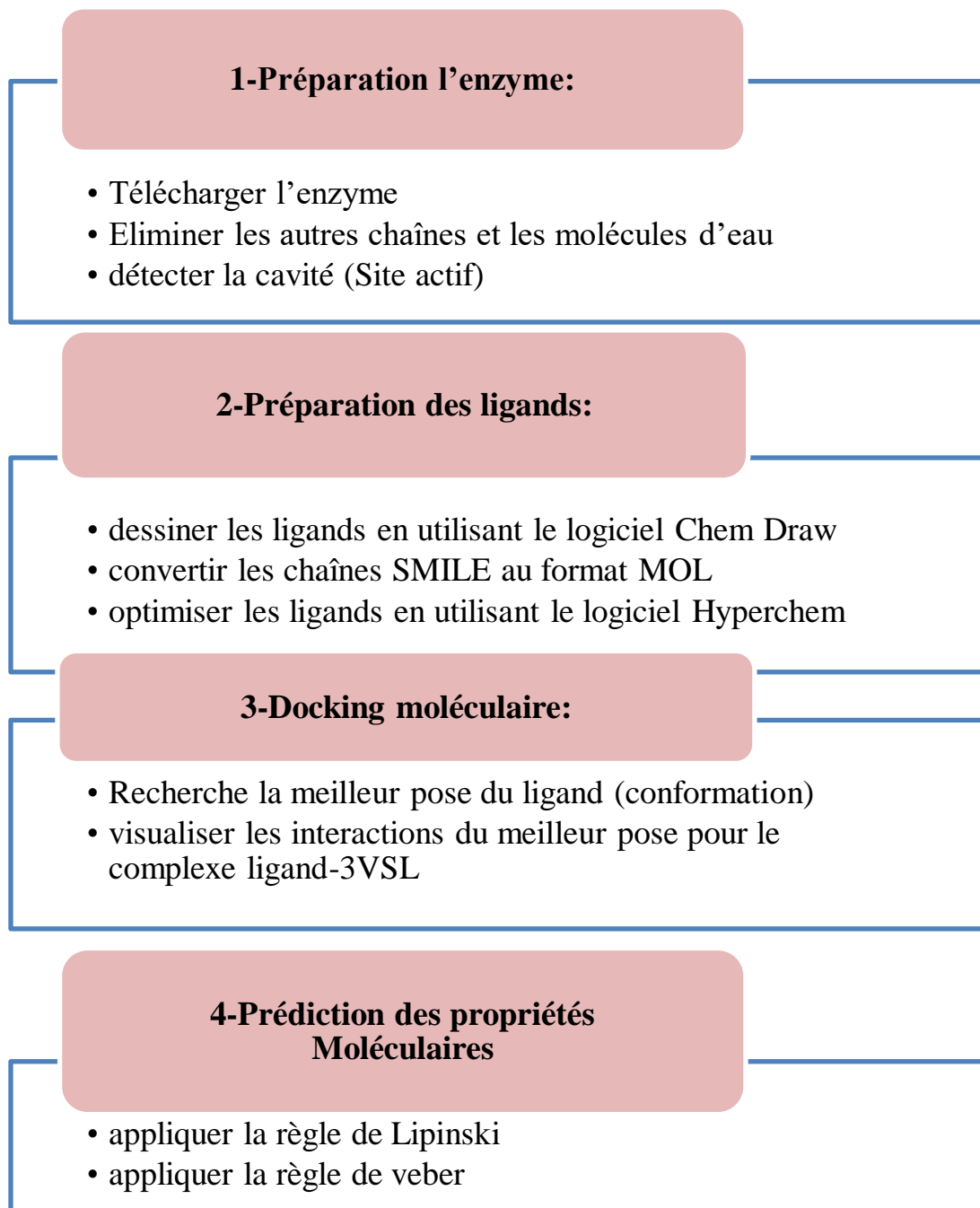


Figure III.6: Interface web du logiciel Molinspiration

### III.3. Méthodologie du travail

Notre travail a passé par des étapes qui sont schématisées dans le schéma suivant :



**Figure III.7:** Méthodologie du travail

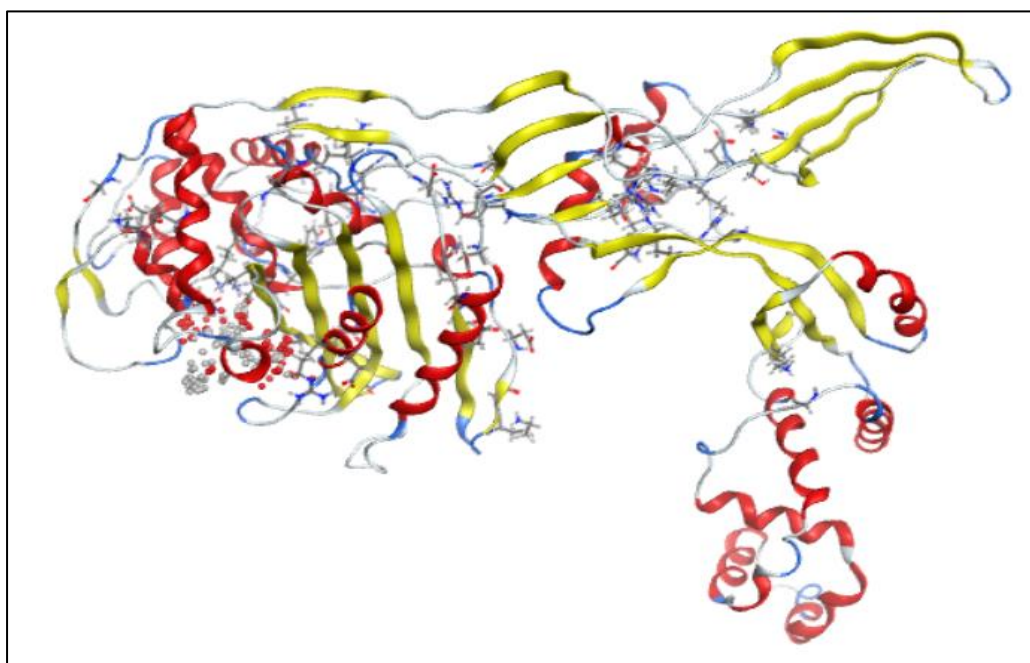
### III.3.1. Préparation de l'enzyme

La structure 3D de protéine de liaison à la pénicilline 3 (PBP3) de notre étude, a été téléchargée sous le code (3VSL) sous format PDB, Co-cristallisée avec l'inhibiteur de la formule (2-[1-[[[(2Z) -2-(2-azanyl-1,3-thiazol-4-yl) -2-methoxyimino-ethanoyl]amino]-2-oxidanylidene-ethyl]-5-methylidene-2H-1,3-thiazine-4-carboxylic Acid (protéine) (C14H15N5O5S2).

Les PBP sont des protéines importantes impliquées dans la construction du peptidoglycane, qui est le principal constituant des parois cellulaires bactériennes. Ces enzymes catalysent le brin de glycane (transglycosylation), et la réticulation entre les chaînes de glycane (transpeptidation) (9).

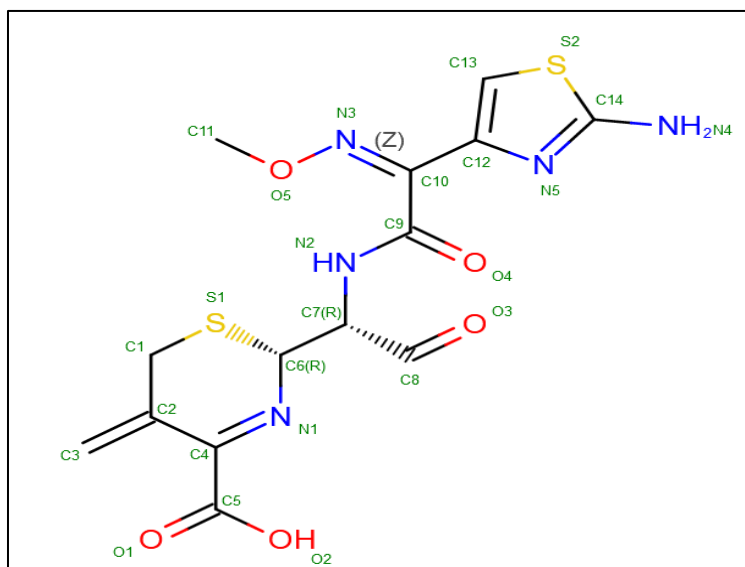
La protéine de liaison à la pénicilline (PBP) est une cible médicamenteuse, connue pour l'inhibition de la biosynthèse de la paroi cellulaire chez *S. aureus* (10).

La structure de 3VSL est correctement définie par diffraction aux rayons X avec une résolution égale à 2.40 Å.



**Figure III.8:** Structure 3D de l'enzyme 3VSL simplifié

## Résultats et discussions



**Figure III.9:** Structure chimique 2D de ligand de référence de CEF

Lors de la préparation de l'enzyme simplifié, on a éliminé la chaîne B ainsi que les molécules d'eau et les cofacteurs.

Le tableau III.2 montre quelques propriétés de la chaîne A et B de l'enzyme simplifié.

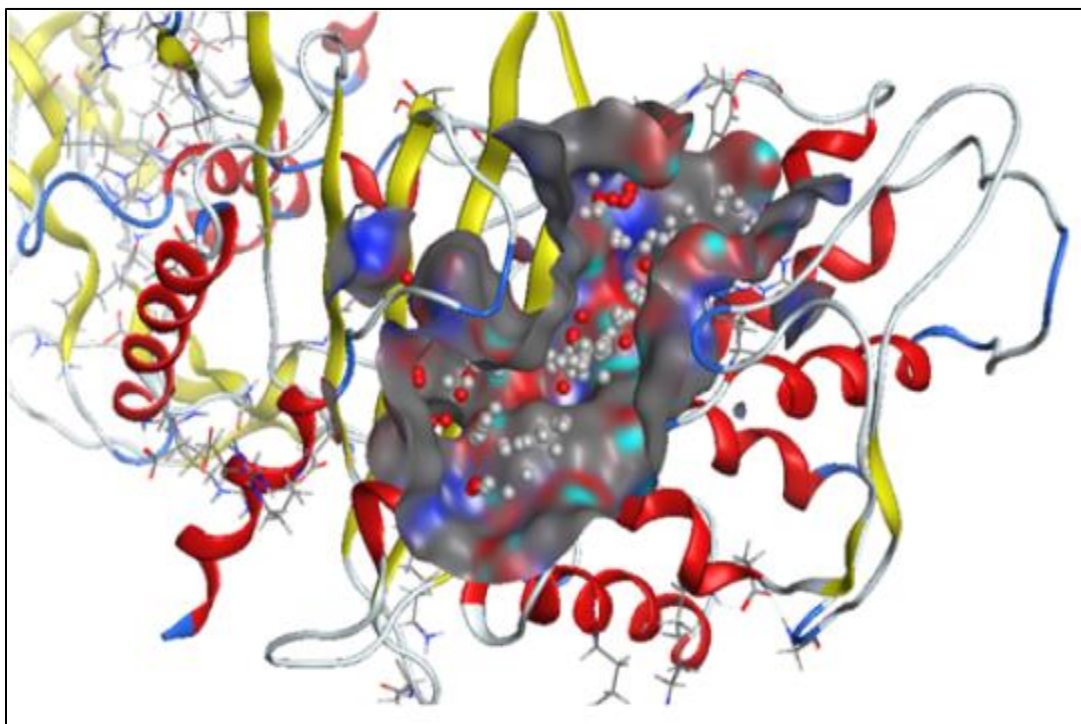
**Tableau III.2:** Composition de la chaîne A et B de (PBP3)

Molécules	Chaînes	Résidus	Atomes
PBP3	A, B	1262	10198

### III.3.2. Détection des cavités

La seconde étape permet de détecter les cavités présentes dans le récepteur, en utilisant l'algorithme intégré pour la détection de cavité (site Finder). Dans cette étape l'utilisateur peut identifier des sites de liaison potentiels (site active) au récepteur, qui ont une région active pour se lier au médicament (ligand). Les interactions étudiées sont de type liaisons hydrogène, électrostatiques et hydrophobes (11).

## Résultats et discussions



**Figure III.10:** Cavité 1 de l'enzyme 3VSL

Dans notre étude, 27 cavités ont été détectées dans l'enzyme 3VSL par le logiciel MOE. Nous avons choisi la cavité 1 qui a un volume important 179Å<sup>3</sup> a été prédite, aussi nous avons trouvé que le ligand de la Co-cristallisation de l'enzyme 3VSL est fixé dans la cavité 1.

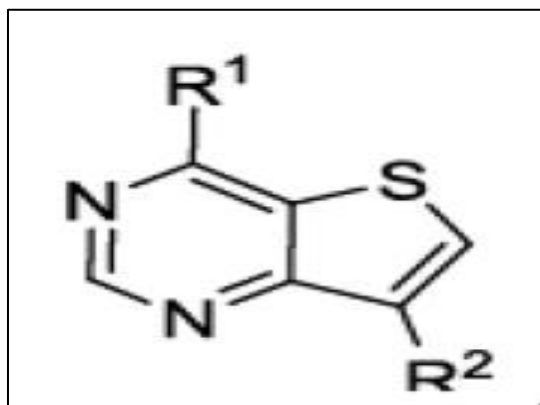
Le tableau III.3 présente les différentes caractéristiques de la cavité 1 qui ont été découvertes à l'aide de la fonction "site Finder" fournie par MOE.

**Tableau III.3:** Propriétés de la cavité 1 de l'enzyme 3VSL

Site	Size	PLB	Hyd	Side	Residues
1	179	4.24	40	81	1:(GLY391 SER392 LYS395 THR426 LYS427 ARG428 SER429 TYR430 HIS447 SER448 SER449 ASN450 PHE454 ASP519 ILE522 GLN524 LYS600 ASP601 GLY602 THR603 GLY604 TYR605 VAL606 SER607 LYS618 THR619 GLY620 THR621 ALA622 GLU623 VAL632 ASN633 SER634 THR635 TYR636 GLN656 VAL658 PRO659 PRO660 PRO661 TRP662 LEU663 THR664 GLY665 GLY666)

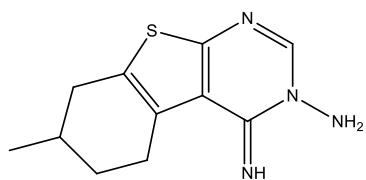
### III.3.3. Préparation des ligands

Les ligands qu'on a étudiés sont des dérivés de Thienopyrimidine(12), Leurs structures sont représentées dans le (la figure III.12), ces dérivés de Thienopyrimidine sont dessinés à l'aide de logiciel chemDraw ultra, ils sont enregistrés sous forme mol. L'optimisation des géométries de nos ligands a été effectués à l'aide du logiciel HyperChem (Version 8.0, Hypercube, USA, <http://www.hyper.com>), par la méthode de la mécanique moléculaire en utilisant le champ de force **MM+** (13), suivi par une optimisation de la méthode semi-empirique **PM3**(14).

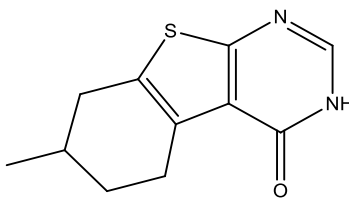


**Figure III.11:** Structure de base "thienopyrimidine"

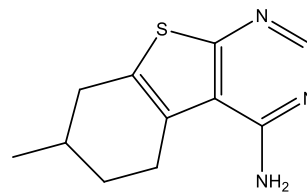
## Résultats et discussions



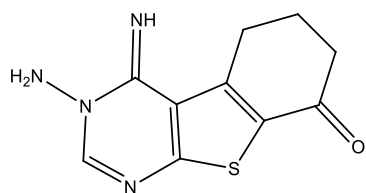
1



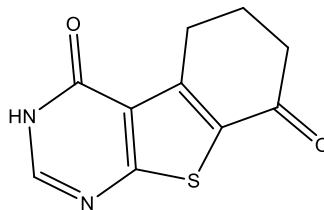
2



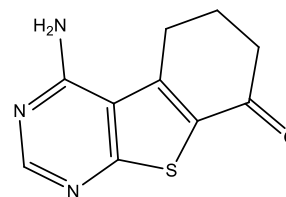
3



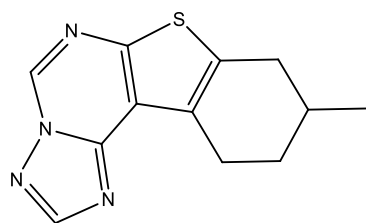
4



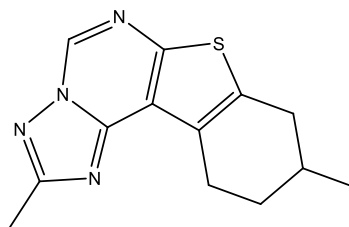
5



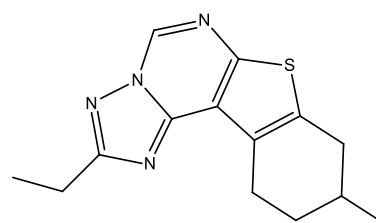
6



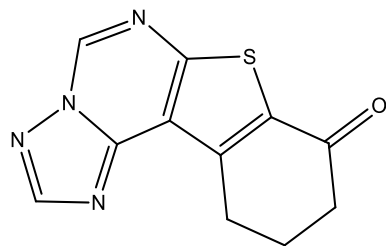
7



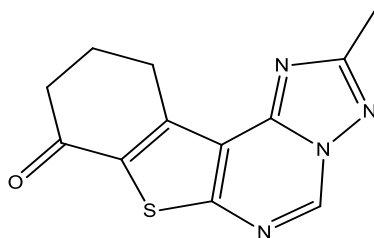
8



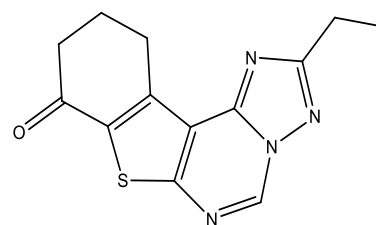
9



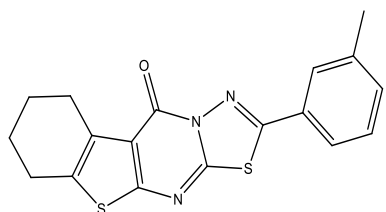
10



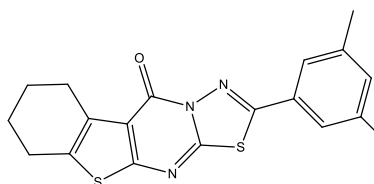
11



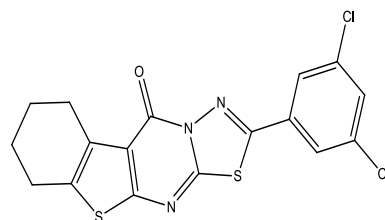
12



13



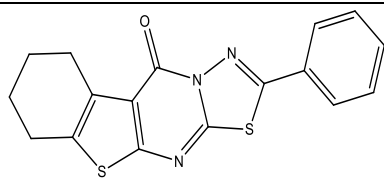
14



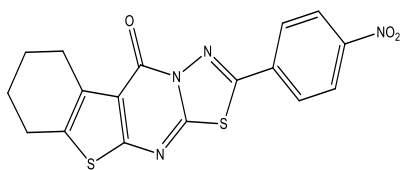
15



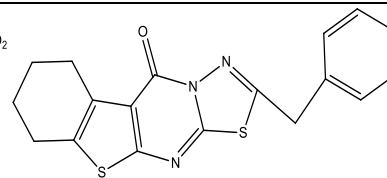
## Résultats et discussions



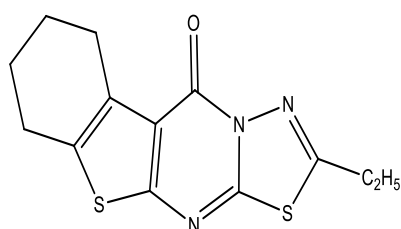
16



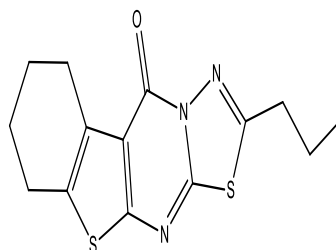
17



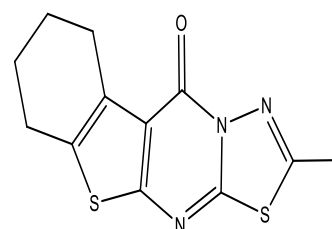
18



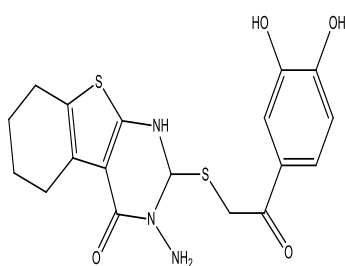
19



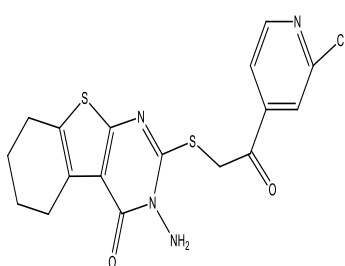
20



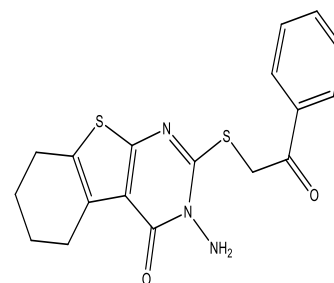
21



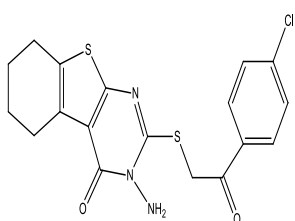
22



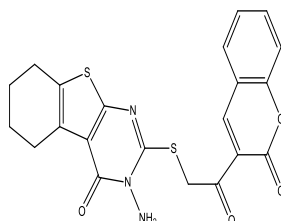
23



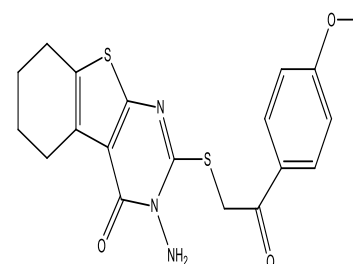
24



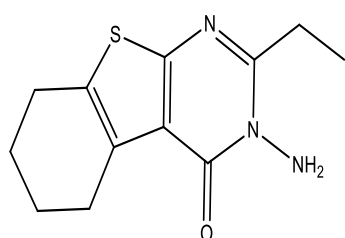
25



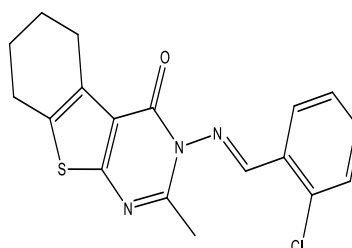
26



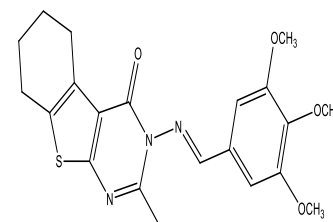
27



28

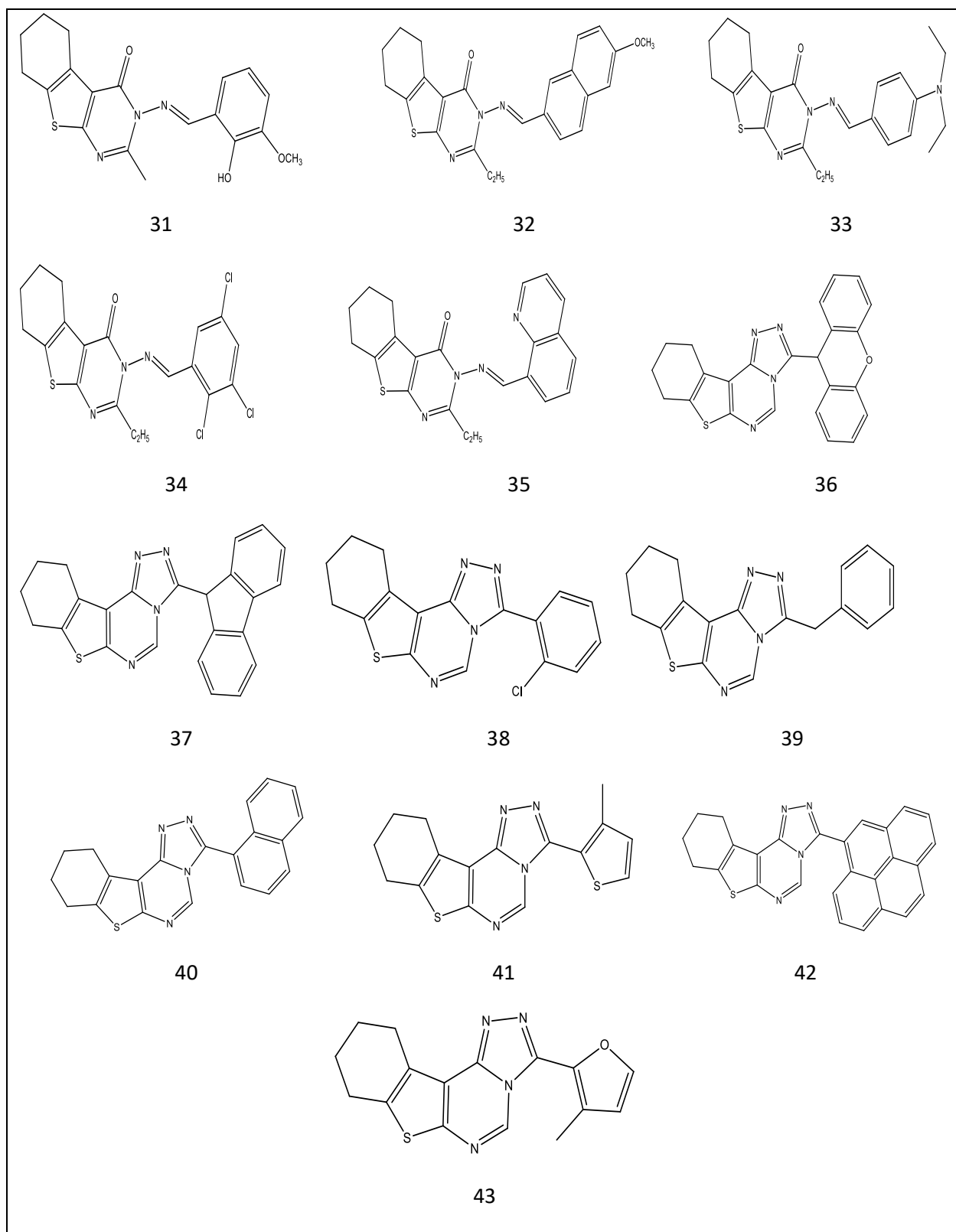


29



30

## Résultats et discussions



**Figure III.12:** Structures chimiques des ligands étudiés

### III.3.4. Simulation du Docking moléculaire

Le Docking moléculaire permet de prédire la conformation (position et orientation relatives) la plus favorable, de deux molécules en interaction et formant un complexe stable.

Notre étude portera sur l'interaction entre le site actif de l'enzyme protéine de liaison à la pénicilline 3 (PBP3) et les dérivés de Thienopyrimidine, pour former un complexe stable est réalisée à l'aide du champ de forces MMFF94x implémenté dans le logiciel MOE « Molecular Operating Environment ».

Le ligand étant considéré comme flexible et la chaîne principale de l'enzyme a été maintenue rigide, tandis que les chaînes latérales restent flexibles, Cette approximation permet aux chaînes latérales des protéines de trouver plus facilement la position dans laquelle les interactions sont les plus favorables.

Pour chaque ligand, un certain nombre de conformations appelées poses sont générés ( $\leq 30$ ).

### III.3.5. Prédiction Des Propriétés Moléculaires Des Ligands

Des descripteurs moléculaires et des propriétés Drug likeness basé sur la règle de lipinski (Règles de cinq), sont analysés en utilisant l'outil serveur Molinspiration (<http://www.molinspiration.com>).

## III.4. Résultats et Discussion

### III.4.1. Résultats du Docking moléculaire

Avant de détailler les résultats de l'étude des interactions enzyme-ligand, nous allons tout d'abord présenter les résultats de scores (Kcal/mol) pour chaque ligand (Tableau III.4). Sachant que :

Le scores : représente les interactions liées à l'électrostatique (comme les liaisons hydrogène et les interactions de VdW), les effets de solvation et de désolvation et l'énergie nécessaire pour déformer le ligand (15). Ce score permettra d'une part de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées, mais également de classer la meilleure pose de différents ligands pour identifier les meilleurs d'entre eux ; C'est-à-dire, le choix de la pose est correspondu à la structure qui a l'énergie la plus basse.

## Résultats et discussions

**Tableau III.4:** Résultats de score de l'enzyme 3VSL avec les ligands étudiés

Composé N°	S-score (kcal mol)	Composé N°	S-score (kcal mol)
01	-4.544	23	-6.208
02	-4.492	24	-6.318
03	-4.925	25	-6.135
04	-4.637	26	<b>-6.677</b>
05	-4.690	27	-6.326
06	-5.067	28	-4.697
07	-4.799	29	-6.008
08	-5.054	30	<b>-7.228</b>
09	-5.395	31	-6.080
10	-4.832	32	-6.356
11	-5.012	33	<b>-6.673</b>
12	-5.371	34	<b>-6.794</b>
13	-5.674	35	-6.423
14	-5.989	36	<b>-6.798</b>
15	-5.883	37	<b>-6.984</b>
16	-5.997	38	-5.813
17	-5.801	39	-6.057
18	-6.381	40	-6.296
19	-5.347	41	-5.724
20	-5.717	42	-6.142

## Résultats et discussions

21	-5.210	43	-5.824
22	-6.419	L réf	<b>-6.457</b>

Les composés sélectionnés en gras représentent les meilleurs ligands, qu'on va étudier leurs interactions.






### III.4.1.1. Étude des interactions Enzyme-Ligand de référence

Dans l'objectif de conception des nouveaux dérivés de thienopyrimidine, il nous a semblé judicieux d'étudier, en premier lieu, le mécanisme d'activation mis en place par le meilleur composé réellement actif sorti du criblage total. Il s'agit du ligand de référence CEF de la chimiothèque utilisée pour l'évaluation, dont le score s'évalue à “-6.457 kcal/mol”.

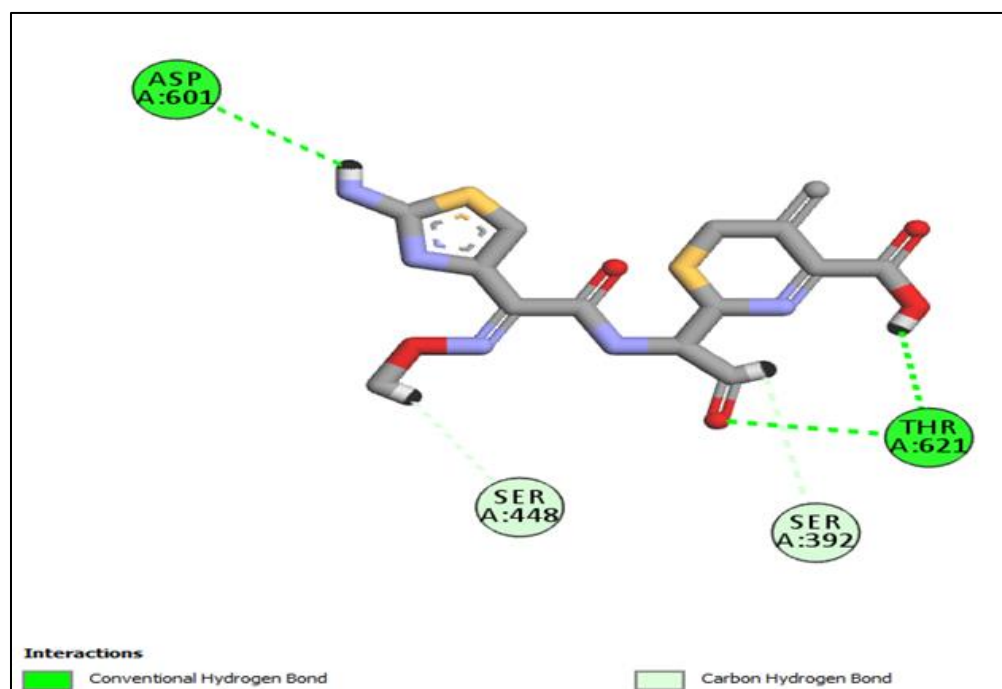
La visualisation des interactions de ce composé au sein du site actif de la 3VSL a été réalisée à l'aide du logiciel studio Discovery.

On observe que le CEF a établi 5 liaisons avec le récepteur 3VSL : dont 5 de type liaison hydrogène qui se forment respectivement entre l'atome d'oxygène et des atomes d'hydrogène et les résidus THR621, SER392, SER488, ASP601 de l'enzyme ils sont séparés à des distances: 2.572Å, 2.004Å, 3.039Å, 2.449Å, 2.828Å.

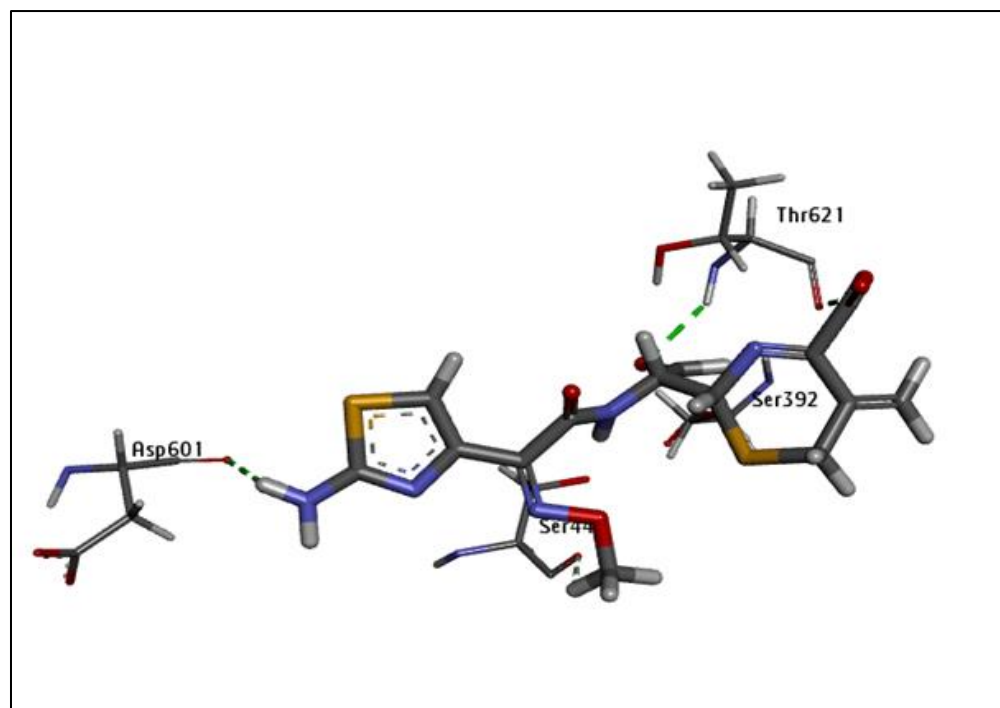
**Tableau III.5:** Résultats des interactions entre le ligand de référence et les résidus de site actif de 3VSL

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:THR621:H - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand Non-bond...	2.57185	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2 :*O:H2 - A:ASP601:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand Non-bond...	2.828	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3 :*O:H - A:THR621:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand Non-bond...	2.00373	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4 :*O:H1 - A:SER448:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand Non-bond...	2.44983	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
5 :*O:H - A:SER392:OG	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand Non-bond...	3.03886	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond

## Résultats et discussions



(a)



(b)

**Figure III.13:** Interactions entre le ligand de référence et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D

### III.4.1.2. Étude des Interactions Enzyme- Les Ligands

Cette étude est effectuée sur les six meilleurs ligands (L26, L30, L33, L34, L36, L37) (voir les valeurs en gras dans le (Tableau III.4).

Dans cette analyse, les composés les plus actifs ont interagi avec les résidus d'acides aminés du site actif, par le biais de forces d'interaction telles que la liaison hydrogène (liaison hydrogène conventionnelle et carbone), et l'interaction hydrophobe (Pi-sigma, Pi-alkyle, alkyl). Et autres interactions Pi-anion, sulfur-X.

#### Interactions 3VSL – L26

Les résultats montrent que le ligand 26 est caractérisé par un score de -6.677 kcal/mol. L'analyse visuelle montre que le ligand 26 et le récepteur 3VSL forment 12 liaisons.

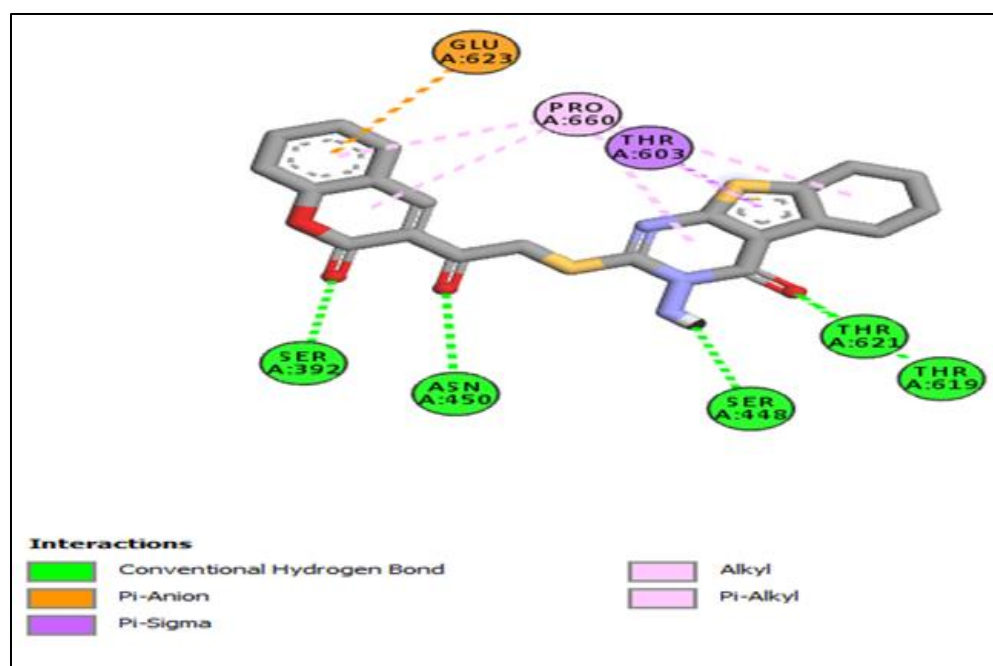
Le composé affiche 6 contacts sont de type hydrophobes interviennent pour stabiliser le complexe : une liaison se forme entre le cycle *thiophène* et le résidu THR603 à une distance 2.731Å, et cinq liaisons entre les différents cycles (*cyclobenzène*, *pyrane*, *thiophène*, *cyclohexane*, *pyrimidine*) et le résidu PRO660 ils sont séparés par des distances (5.442Å, 4.920Å, 5.226Å, 5.320Å, 4.807Å).

Les 5 autres liaisons sont de type hydrogène entre les atomes d'oxygène, et l'atome d'hydrogène et les résidus SER392, ASN450, THR621, THR619, SER448 de l'enzyme ont des distances : 3.067Å, 3.008Å, 2.334Å, 3.633Å, 3.009Å respectivement. La dernière liaison de type électrostatique entre le *cyclobenzène* et le résidu GLU623.

## Résultats et discussions

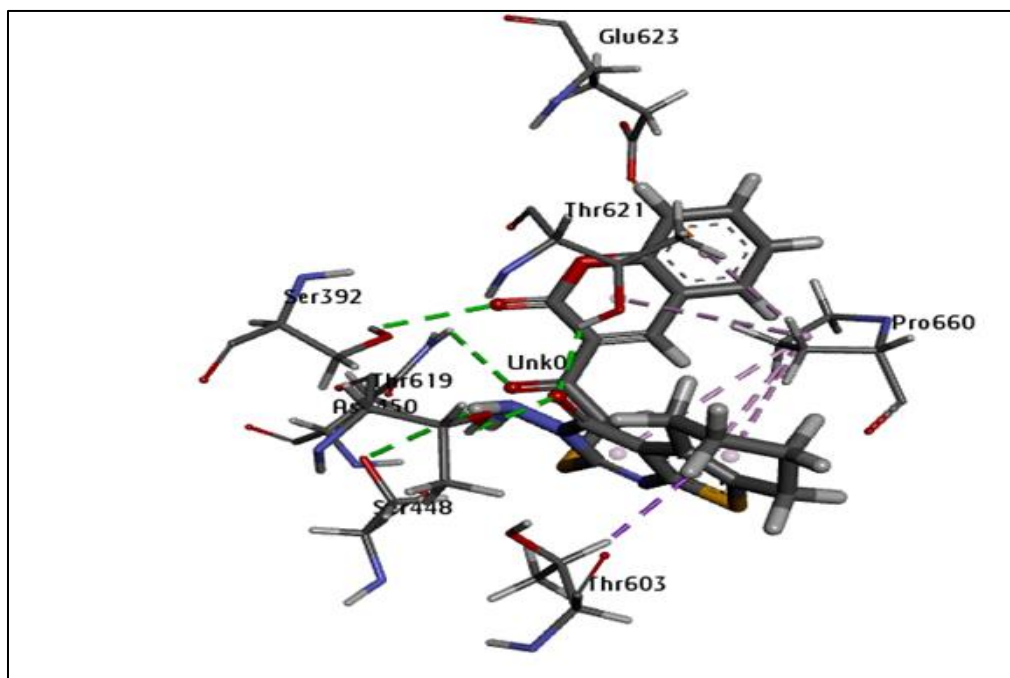
**Tableau III.6:** Résultats des interactions entre le ligand 26 et les résidus de site actif de 3VSL

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types						
1 A:SER392:HG - : *O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	3.06676	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond						
2 A:ASN450:HD21 - : *O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	3.00766	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond						
3 A:THR619:HG1 - : *O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	2.63261	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond						
4 A:THR621:HG1 - : *O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	2.33383	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond						
5 : *O:H - A:SER448:OG	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	3.00868	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond						
6 A:GLU623:OE1 - : *O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Orange	Ligand No...	4.06616	Electrostatic	Pi-Anion						
7 A:THR603:HB - : *O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Purple	Ligand No...	2.73131	Hydrophobic	Pi-Sigma						
8 A:PRO660 - : *O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand No...	5.44234	Hydrophobic	Alkyl						
9 : *O - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand No...	4.92081	Hydrophobic	Pi-Alkyl						
10 : *O - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand No...	5.22553	Hydrophobic	Pi-Alkyl						
11 : *O - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand No...	5.32003	Hydrophobic </tr <tr> <td>12 : *O - A:PRO660</td> <td><input checked="" type="checkbox"/> Yes</td> <td>Pink</td> <td>Ligand No...</td> <td>4.80692</td> <td>Hydrophobic</td> <td>Pi-Alkyl</td> </tr>	12 : *O - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand No...	4.80692	Hydrophobic	Pi-Alkyl
12 : *O - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand No...	4.80692	Hydrophobic	Pi-Alkyl						



(a)





(b)

**Figure III.14:** Interactions entre le ligand 26 et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D

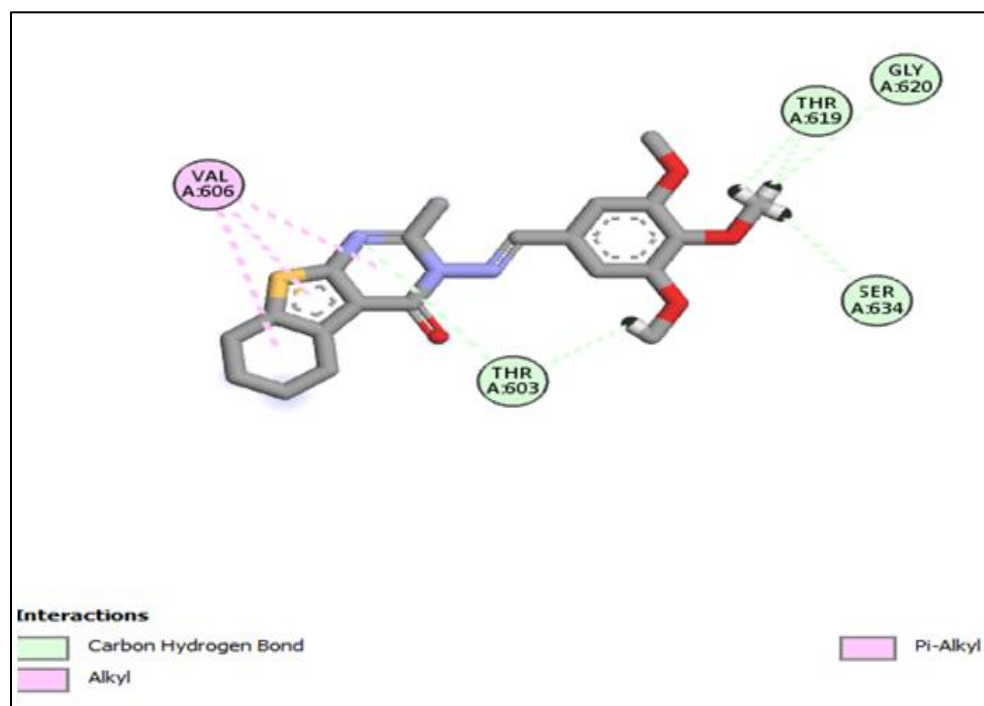
### Interactions 3VSL – L30

Les résultats montrent que le ligand 30 est caractérisé par un score de  $-7.228$  kcal/mol. L'analyse visuelle montre que le ligand 30 et le récepteur 3VSL forment 9 liaisons : dont trois liaisons sont hydrophobique entre les trois cycles (*cyclohexane*, *thiophène*, *pyrimidine*) et le résidu VAL606 de l'enzyme ( $5.061\text{\AA}$ ,  $4.549\text{\AA}$ ,  $4.429\text{\AA}$ ). Six autres liaisons hydrogène entre les atomes N et H et les résidus THR603, THR619, GLY620, SER634 avec des distances ( $2.811\text{\AA}$ ,  $2.588\text{\AA}$ ,  $2.849\text{\AA}$ ,  $2.787\text{\AA}$ ,  $2.929\text{\AA}$ ,  $2.478\text{\AA}$ ).

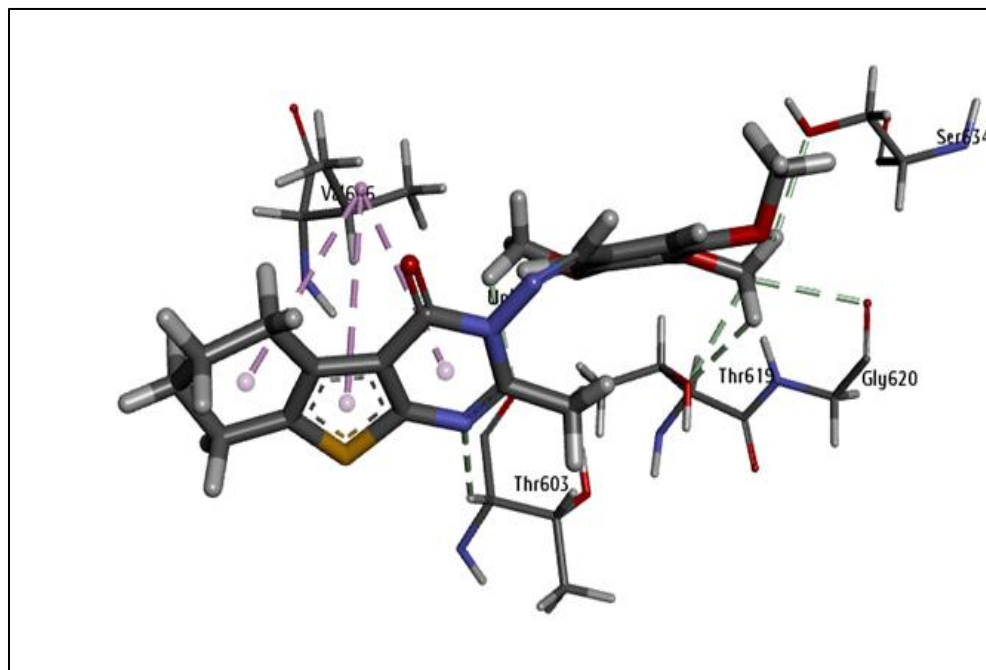
## Résultats et discussions

**Tableau III.7:** Résultats des interactions entre le ligand 30 et les résidus de site actif de 3VSL

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:THR603:HA - :*0:N	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2.81089	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
2 :*0:H - A:THR619:OG1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2.84942	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
3 :*0:H - A:THR619:OG1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2.78705	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
4 :*0:H - A:GLY620:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2.92913	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
5 :*0:H - A:SER634:OG	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2.47866	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
6 :*0:H - :*0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2.31595	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
7 :*0:H - A:THR603:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2.58787	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8 A:VAL606 - :*0	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	5.06093	Hydrophobic	Alkyl
9 :*0 - A:VAL606	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	4.54928	Hydrophobic	Pi-Alkyl
10 :*0 - A:VAL606	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	4.42988	Hydrophobic	Pi-Alkyl



(a)



(b)

**Figure III.15:** Interactions entre le ligand 30 et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D

### Interactions 3VSL – L33

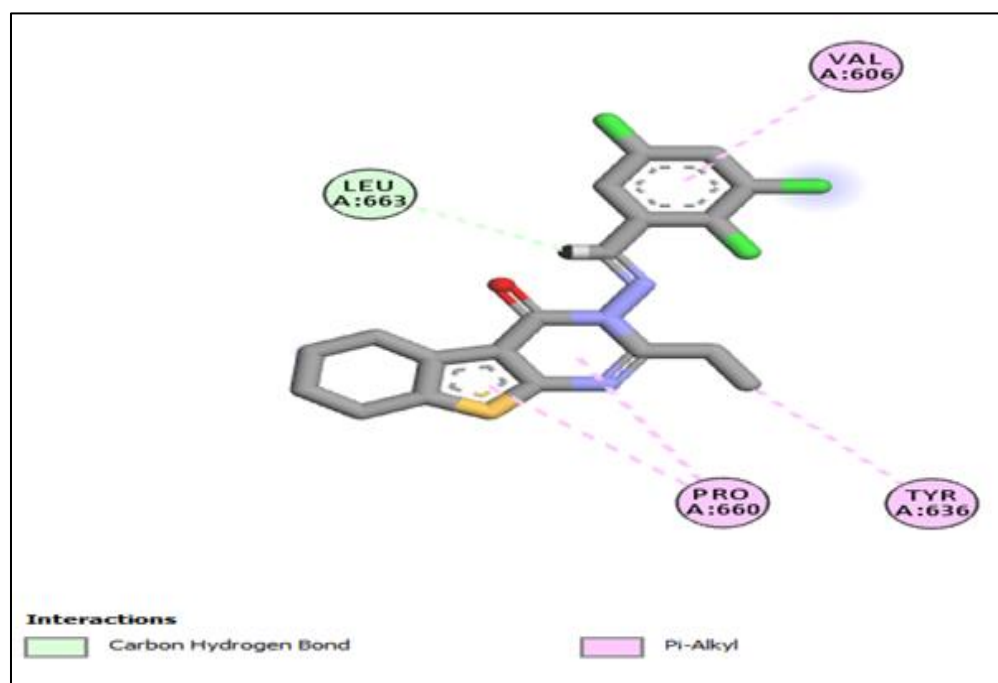
Les résultats montrent que le Ligand 33 est caractérisé par un score de -6.673 kcal/mol. L'analyse visuelle montre que le ligand 33 forme 5 liaisons avec le récepteur 3VSL dont : quatre liaisons hydrophobique sont également impliquées pour stabiliser le complexe, la première liaison entre le *cyclebenzène* et le résidu VAL606 de l'enzyme à une distance 3.995Å, les trois autres liaisons entre le *thiophène* et la *pyrimidine* et les résidus PRO660, TYR636 de l'enzyme sont séparées (5.022Å, 4.872Å, 4.644Å).

La dernière liaison de type hydrogène entre l'atome d'hydrogène et le résidu LEU663 (2.645Å).

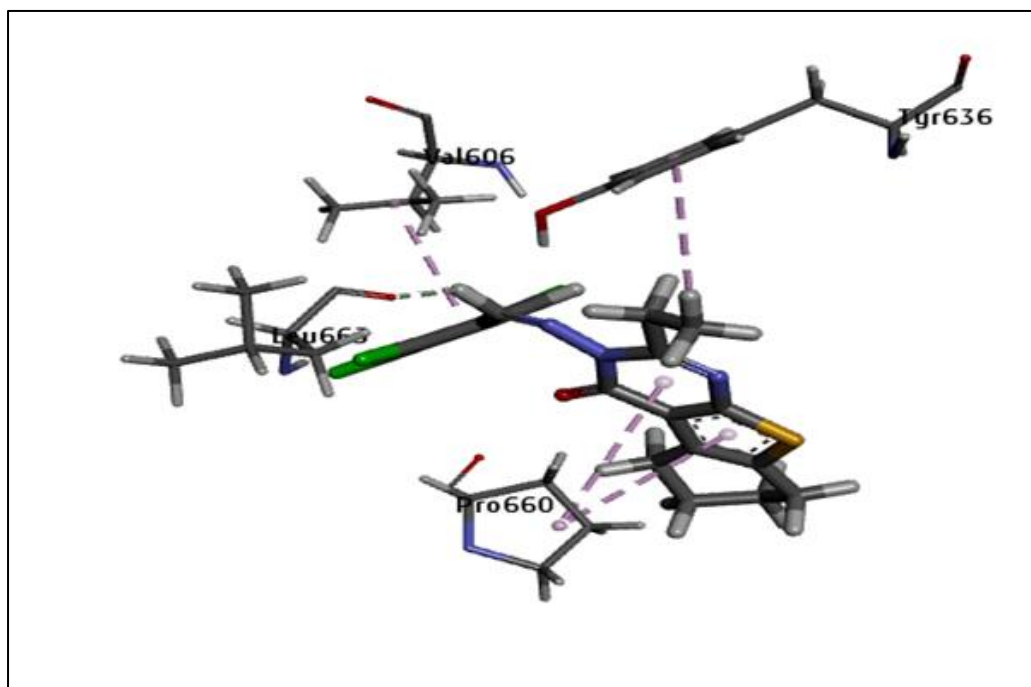
## Résultats et discussions

**Tableau III.8:** Résultats des interactions entre le ligand 33 et les résidus de site actif de 3VSL

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 :*O:H - A:LEU663:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2.64505	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
2 A:TYR636 - :*O:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	4.64408	Hydrophobic	Pi-Alkyl
3 :*O - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	5.02226	Hydrophobic	Pi-Alkyl
4 :*O - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	4.87181	Hydrophobic	Pi-Alkyl
5 :*O - A:VAL606	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	3.9958	Hydrophobic	Pi-Alkyl



(a)



(b)

**Figure III.16:** Interactions entre le ligand 33 et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D

### Interactions 3VSL – L34

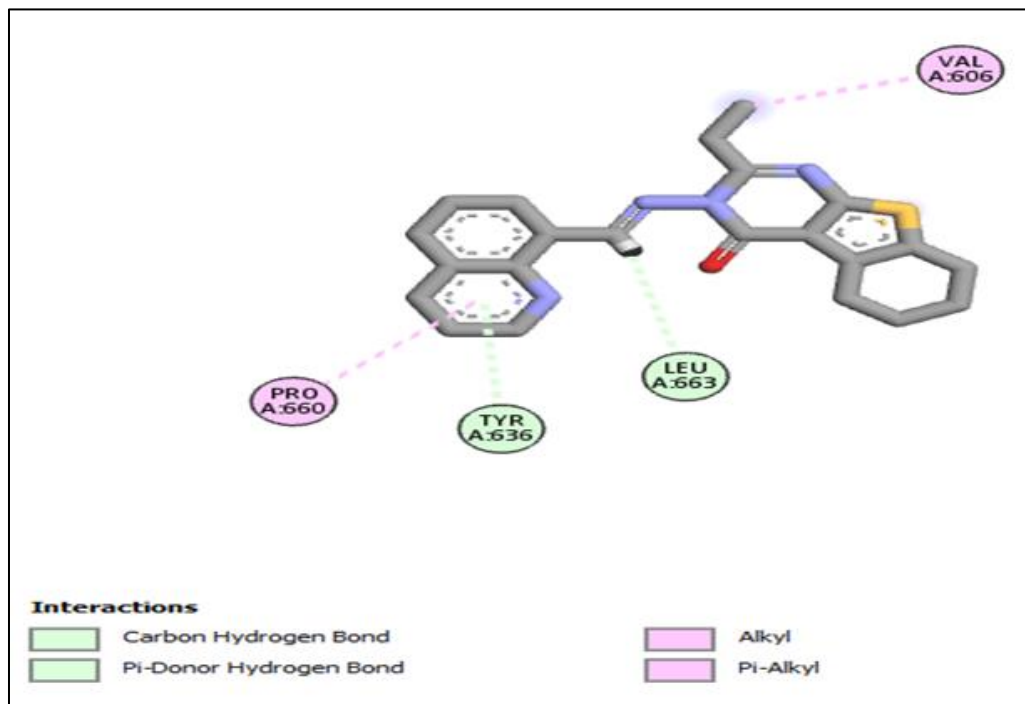
Les résultats montrent que le ligand 34 est caractérisé par un score de -6.794 kcal/mol. L'analyse visuelle a montré que le ligand 34 et le récepteur 3VSL forment 4 liaisons : Dont les deux premières liaisons de type hydrophobe et qui sont formées respectivement entre l'atome C et la *pyridine* et les résidus VAL606, PRO660 de l'enzyme ils sont séparés avec les distances de 4.319Å, 4.751Å.

Les deux dernières liaisons de type hydrogène se forment avec les résidus LEU663, TYR636 de l'enzyme.

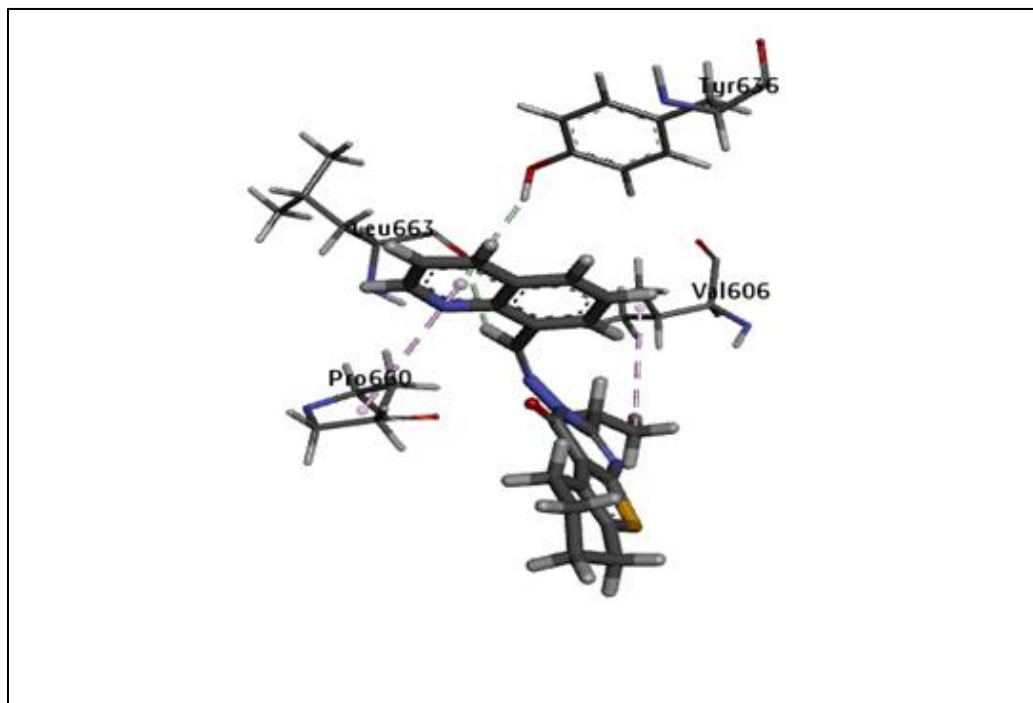
## Résultats et discussions

**Tableau III.9:** Résultats des interactions entre le ligand 34 et les résidus de site actif de 3VSL

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 :*O:H - A:LEU663:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">█</span>	Ligand Non-bond...	2.53452	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
2 A:TYR636:HH - :*O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">█</span>	Ligand Non-bond...	3.23584	Hydrogen Bond	Pi-Donor Hydrogen Bond
3 :*O:C - A:VAL606	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">█</span>	Ligand Non-bond...	4.31906	Hydrophobic	Alkyl
4 :*O - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">█</span>	Ligand Non-bond...	4.75091	Hydrophobic	Pi-Alkyl



(a)



(b)

**Figure III.17:** Interactions entre le ligand 34 et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D

### Interactions 3VSL – L36

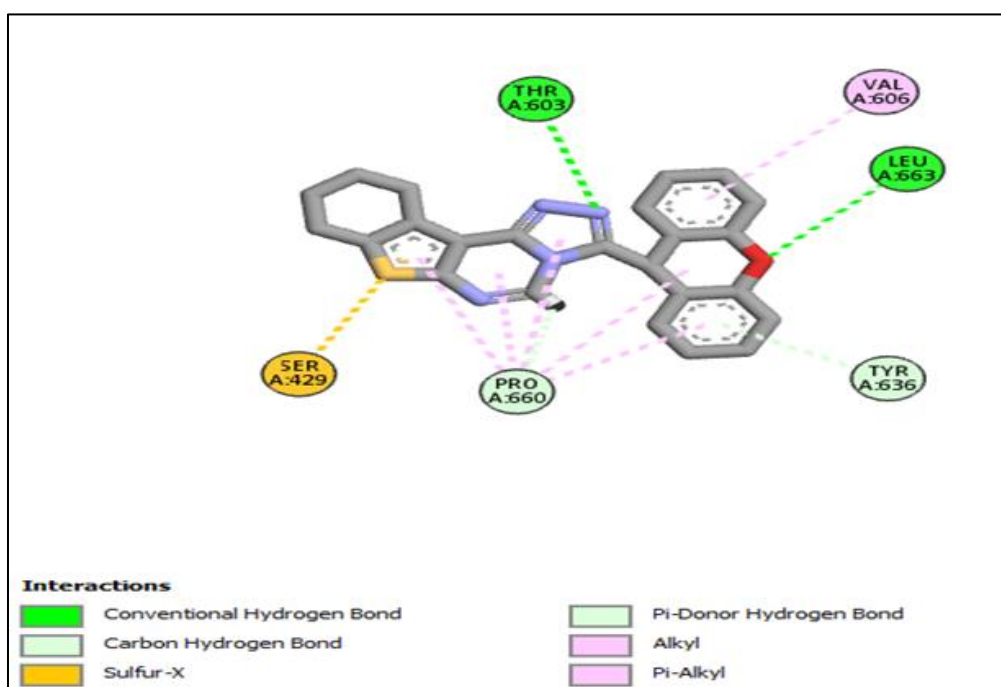
Les résultats montrent que le ligand 36 est caractérisé par un score de -6.798 kcal/mol. L'analyse visuelle montre que le ligand 36 se forme 11 liaisons avec le récepteur 3VSL : dont 4 liaisons de type hydrogène avec les résidus THR603, LEU663, TYR636, PRO660

Six autres liaisons hydrophobes sont également impliquées pour stabiliser le complexe : une liaison se forme entre le *cyclobenzène* et le résidu VAL606 à une distance 4.611Å, et cinq liaisons entre les différents cycles (*cyclobenzène*, *pyrane*, *thiazole*, *pyrimidine*, *thiophène*) et le résidu PRO660 de l'enzyme ils sont séparés par des distances (5.271Å, 5.212Å, 4.615Å, 5.312Å, 4.791Å). La dernière liaison de type Sulfur-x entre l'atome S et le résidu SER429 avec une distance 3.186Å.

## Résultats et discussions

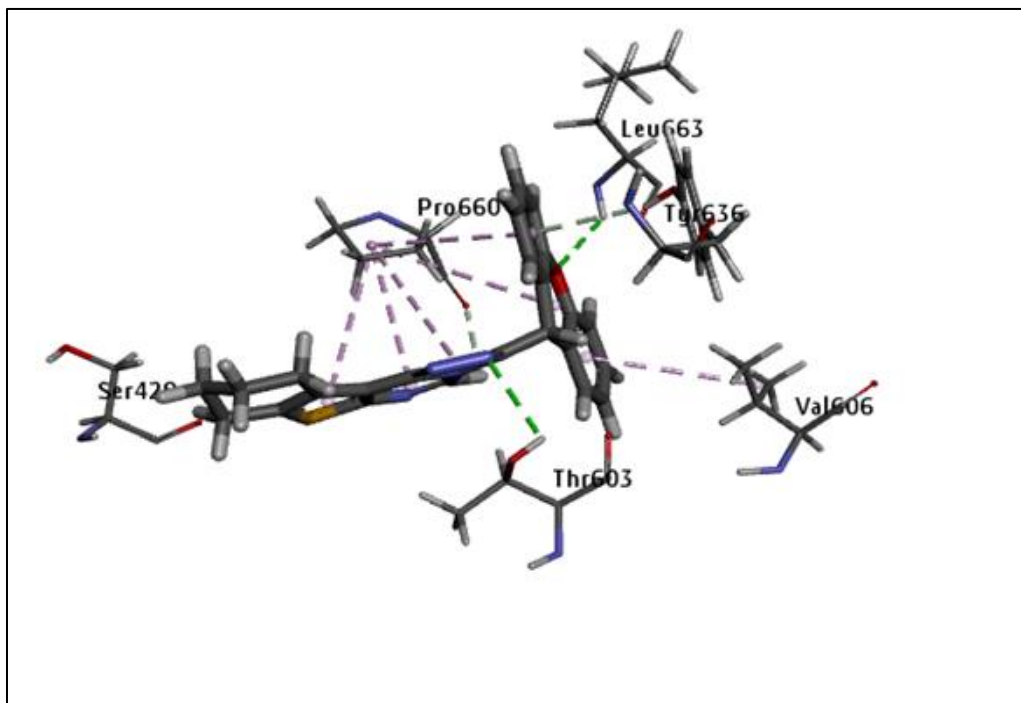
**Tableau III.10:** Résultats des interactions entre le ligand 36 et les résidus de site actif de 3VSL

	Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1	A:THR603:HG1 - :*0:N	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2.86543	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2	A:LEU663:H - :*0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	3.07279	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3	:*0:H - A:PRO660:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand No...	2.57969	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
4	:*0:S - A:SER429:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: orange;">■</span>	Ligand No...	3.18576	Other	Sulfur-X
5	A:TYR636:HH - :*0	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand No...	3.23125	Hydrogen Bond	Pi-Donor Hydrogen Bond
6	A:PRO660 - :*0	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand No...	5.27119	Hydrophobic	Alkyl
7	:*0 - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand No...	5.21225	Hydrophobic	Pi-Alkyl
8	:*0 - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand No...	4.61498	Hydrophobic	Pi-Alkyl
9	:*0 - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand No...	5.31246	Hydrophobic	Pi-Alkyl
10	:*0 - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand No...	4.79149	Hydrophobic	Pi-Alkyl
11	:*0 - A:VAL606	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand No...	4.61151	Hydrophobic	Pi-Alkyl



(a)





(b)

**Figure III.18:** Interactions entre le ligand 36 et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D

### Interactions 3VSL – L37

Les résultats montrent que le Ligand 37 est caractérisé par un score de -6.984 kcal/mol. L'analyse visuelle montre que le ligand 37 forme 7 liaisons avec le récepteur 3VSL:

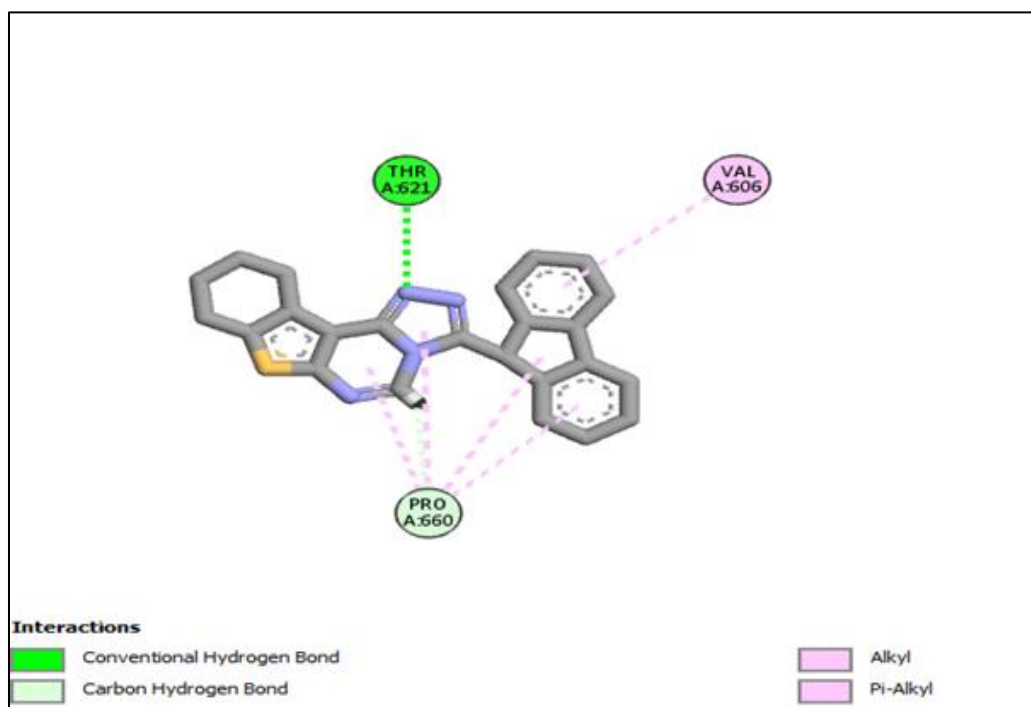
Deux liaisons de type hydrogène se formaient entre les atomes N et H et les résidus enzymatiques THR621 et PRO660 et ils étaient séparés par une distance de 2.614Å, 2.912Å respectivement.

Les 5 autres liaisons sont hydrophobes et interviennent pour stabiliser le complexe : une liaison se forme entre le *cyclobenzène* et les résidus VAL606 à une distance de 5.077Å. et 4 liaisons entre les différents cycles (*cyclobenzène*, *cyclopentane*, *thiazole* et *pyrimidine*) et le résidu PRO660 de l'enzyme ils sont séparés par des distances (5.171Å, 4.792Å, 5.217Å, 4.681Å, 4.791Å).

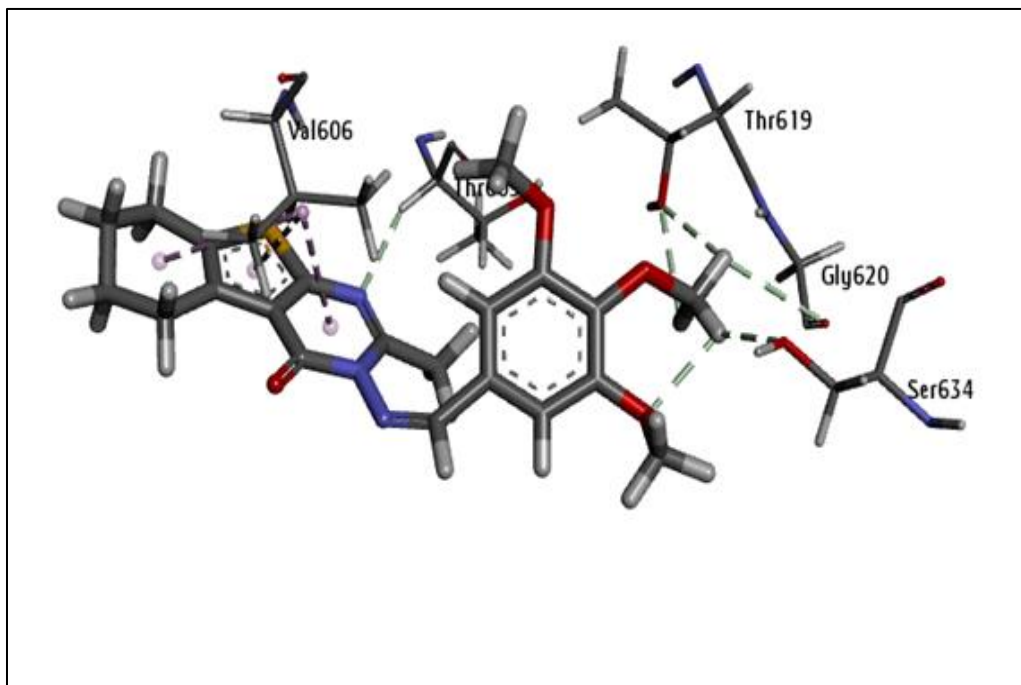
## Résultats et discussions

**Tableau III.11:** Résultats des interactions entre le ligand 37 et les résidus de site actif de 3VSL

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:THR621:HG1 - : *O:N	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	2.61357	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2 : *O:H - A:PRO660:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	2.91248	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
3 A:PRO660 - : *O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	5.17135	Hydrophobic	Alkyl
4 : *O - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4.79153	Hydrophobic	Pi-Alkyl
5 : *O - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	5.21728	Hydrophobic	Pi-Alkyl
6 : *O - A:PRO660	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4.68119	Hydrophobic	Pi-Alkyl
7 : *O - A:VAL606	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	5.07714	Hydrophobic	Pi-Alkyl



(a)



(b)

**Figure III.19:** Interactions entre le ligand 37 et les résidus de site actif de 3VSL (a) 2D et (b) 3D

### III.4.2. Discussion

On a considéré le **CEF** comme ligand de référence et d'après les résultats de (tableau III.4) on peut classer les ligands des meilleurs scores selon l'ordre suivant :

**L30 < L37 < L36 < L34 < L26 < L33 < Lréf**

D'après A. Imberty et al (16). Les interactions comprises entre 2.5 Å et 3.1 Å sont considérées comme fortes et celles comprises entre 3.1 Å et 3.55 Å sont supposées moyennes. Les interactions supérieures à 3.55 Å sont faibles.

D'après les résultats obtenus à partir des interactions mises en jeu entre les résidus du site actif et les ligands L30, L37, L36, L34, L26 et L33, on peut conclure que ces ligands peuvent former des complexes stables.

L'analyse visuelle des meilleures poses des ligands montre que ces derniers sont entourés par les résidus du site actif définis précédemment (Tableaux III.4), confirmant ainsi ses orientations dans le site actif qui est similaire de celui du Lréf.

## Résultats et discussions

---

Les figures 2D des interactions protéine-ligand des meilleures poses générées par les six ligands étudiées est illustrée aux figures [14-19]. Montre clairement que toutes les molécules présentent les mêmes modes des liaisons. Fait intéressant, des interactions importantes peuvent être trouvées entre ces ligands et les résidus THR619, THR621, THR603, PRO660, VAL606, LEU663, TYR636, qui participent directement au mécanisme catalytique de cette enzyme. Les complexes ligand-enzyme sont stabilisé principalement par des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobiques.

Conformément aux six figures précédentes, nous avons observé que les résidus hydrophile PRO660, VAL606 ont des interactions avec les six ligands. Et que les interactions favorables de type hydrophobique étaient avec le cyclobenzène, la pyrimidine, le thiophène; On peut dire que le cycle aromatique était important pour la stabilité des complexes.

Les structures de molécules dérivées de thienopyrimidine qui ont la meilleure affinité dans le site actif de pbp3, indiquent que la présence des atomes N (amine) dans la structure augmente la capacité de formation des interactions de type "H bond".

### **III.5.Résultats des propriétés moléculaires (Drug likeness)**

D'après l'étude précédente, nous avons récupéré six composés comme meilleurs inhibiteurs. Pour une étude plus détaillée nous évaluons des propriétés moléculaires de ces composés sous différentes règles :

#### **III.5.1.Application de la règle de cinq (règle de Lipinski)**

Le (Tableau III.12) présente les résultats de l'évaluation de la règle de Lipinski pour les meilleurs inhibiteurs. Ces résultats sont obtenus en utilisant l'outil web Molinspiration.

Les résultats du (Tableau III.12) montrent que :

- Les valeurs de logarithme P des composés 26, 30,33 ainsi que le Lref sont inférieures à 5 tandis que pour les composés 34.36.37 sont supérieurs à 5. Sachant que, des valeurs positive pour log P indique que les composés sont trop lipophiles, donc ils ont : une bonne perméabilité à travers la membrane biologique, une meilleure liaison aux protéines plasmatiques, une bonne élimination par le métabolisme, mais une faible solubilité une

## Résultats et discussions

mauvaise tolérance gastrique, alors que le Lréf a une valeur négative de log P, donc il est hydrophile. Il a par conséquent, une mauvaise perméabilité à travers la membrane, par contre il a une meilleure tolérance gastrique.

**Tableau III.12:** Résultats d'application de la Règle de Lipinski

Composé N°	N°ON	N°OHNH	Masse(UMA)	Log P	Nombre de La Violation
26	7	2	439.52	3.44	0
30	7	0	413.50	3.14	0
33	5	0	408.57	4.94	0
34	4	0	440.78	5.97	1
36	5	0	410.50	5.26	1
37	4	0	394.50	5.31	1
Lref	10	4	397.44	-0.38	0

N°ON : Liaisons hydrogène accepteurs

N°OHNH : Liaisons hydrogène donneurs

- Tous les ligands et Lréf ont des valeurs du poids moléculaire inférieur à 500 Da, donc sont facilement à traverser les membranes cellulaires.
- Tous les ligands ont un nombre accepteur d'hydrogène inférieur ou égale à 10 et un nombre donneur d'hydrogène inférieur à 5 ce qui conduit à une meilleure perméabilité.
- Pour le nombre de violation, nous remarquons que nos composés ont une violation nulle à part les composés 34, 36 et 37 (Nv=1).

De cela, nous pouvons conclure que: tout les composés ainsi que le ligand de référence répondent aux règles de Lipinski, suggérant que ces ligands théoriquement n'auraient pas de problèmes avec la biodisponibilité orale.

## Résultats et discussions

### III.5.2. Application de la Règle de Veber

Le (Tableau III.13) présente les résultats des propriétés concernant la règle de Veber. Ces résultats sont calculés et obtenus en utilisant le logiciel molinspiration.

**Tableau III.13:** Résultats de l'application de la Règle Veber

Composé N°	TPSA (Å <sup>2</sup> )	N° ROTB
<b>26</b>	108.20	4
<b>30</b>	74.96	5
<b>33</b>	50.50	6
<b>34</b>	47.26	3
<b>36</b>	52.33	1
<b>37</b>	43.09	1
<b>Lref</b>	156.34	7

D'après les résultats du tableau en remarquant que :

- Pour la surface (TPSA) : tous les composés étudiés ont des valeurs inférieures à 140 Å<sup>2</sup> ce qui montre la bonne prédiction de la biodisponibilité orale et le transport à travers les membranes biologiques. Alors que le ligand de référence possède un TPSA supérieure à 140 (=156.34) donc mauvaise transport à travers les membranes.
- Pour les NRB : Nos composés ont des valeurs de liaisons rotatives inférieures à 10 par rapport au ligand de référence (NRB=7). Un faible nombre des liaisons rotatives donc une flexibilité réduit pour tous les composés ce qu'indique que ces ligands lors de la liaison à une protéine ne changent que légèrement leur conformation.

### Références bibliographiques

1. *DU TITRE, PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Diss. UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER, 2007.*
2. *About the PDB Archive and the RCSB PDB. Retrieved from. [www.rcsb.org/pdb/static.do?p=general\\_information/about\\_pdb/index.html](http://www.rcsb.org/pdb/static.do?p=general_information/about_pdb/index.html).*
3. *DB Current Holdings Breakdown. Retrieved from. [www.rcsb.org/pdb/statistics/holdings.do](http://www.rcsb.org/pdb/statistics/holdings.do).*
4. *Santiago, V.; Giorgio, Cozza.; Stefano, Moro., Curr. Top. Med. Chem. 8, 1555-1572. 2008.*
5. *H. Yamaguchi, K. Kamiie, Y. Kidachi, T. Noshita, H. Umetsu, Y. Fuke, K. Ryoyama. 1, International Journal of Computational Bioinformatics and In Silico Modeling. Open Access, , Vol. 3, P310-314. 2014.*
6. *D. W. Ritchie, Evaluation of protein docking predictions using Hex 6.3 in CAPRI rounds 1 and 2. Proteins, 52(1):98-106, 2003.*
7. *<http://ritme.com/software/chemdraw-chemoffice/>.*
8. *Molinspiration Cheminformatics. . Calculation of molecular properties and bioactivity score. (Computer software). <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>. 2018.*
9. *de Sousa Oliveira, K. et al. « Chapter 2 - Mechanisms of Antibacterial Resistance: Shedding Some Light on These Obscure Processes? » In Antibiotic Resistance, éd. Kateryna Kon et Mahendra Rai. Academic Press, 19 352016. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128036426000022> 15 juin 2022.*
10. *Kulanthaivel, Langeswaran et al. « Identification of potential inhibitors for Penicillin binding protein (PBP) from Staphylococcus aureus ». Bioinformation 14(9): 471-476. 2018.*
11. *Schneider, G.; Fechner, U. Computer-based de novo design of drug-like molecules. Nat Rev Drug Discov, 4(8): p. 649-63. 2005.*
12. *MULLA, Jameel Ahmed, PALKAR, Mahesh B., MADDI, Veeresh S., et al. RATIONAL DESIGN OF ANTIBACTERIAL THIENOPYRIMIDINES BY 2D-QSAR STUDY. Journal of Drug Delivery and Therapeutics, vol. 2, no 2. 2012.*
13. *Stewart, James JP. "Optimization of parameters for semiempirical methods V: modification of NDDO approximations and application to 70 elements." Journal of Molecular modeling 13.12: 1173-1213. 2007.*
14. *L.A. Curtiss. , C. Jones, G.W. Trucks. , K. Raghavachari. , J.A. Pople. , « Gaussian-1 theory of molecular energies for second-row compounds », J. Chem. Phys. 93 , 2537- 2545. 1990.*
15. *Eddy Thiriot. Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques : Développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Méthionine Sulfoxyde Réductases de classe A. PhD thesis, Université Henri Poincaré-Nancy 1, 2009.*

## Résultats et discussions

---

**16.** *A.Imberty, K. D. Hardman, J.P. Carver, S. Perez: " Molecular of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavaleine A", G L Y C O B I O L O G Y , 1, 631–642. 1991.*





*Conclusion générale*

## Conclusion générale

---

Le travail présenté dans ce mémoire concerne principalement l'utilisation de plusieurs approches théoriques de la modélisation moléculaire dans le cadre de la découverte de nouveaux médicaments.

L'objectif principal est d'élucider les interactions entre les différents ligands de dérivés de Thienopyrimidine avec l'enzyme de protéine de liaison à la pénicilline 3 (PBP3) impliquées dans le traitement des maladies infectieuses.

Dans un premier temps, nous avons présenté généralité sur les bactéries et les antibiotiques. Par ailleurs, dans une deuxième partie, nous avons abordé les principes de base de la méthode Docking moléculaire ainsi que différents concepts de filtration qui nous aident à approfondir l'étude des composés proposés dans cette étude tels que les propriétés Drug likeness. Dans la troisième partie, nous avons présenté la partie la plus importante de ce travail qui est le développement du protocole de Docking moléculaire par le logiciel MOE (version 2014) pour les inhibiteurs proposés.

L'étude de Docking moléculaire a été réalisée sur une série de 43 composés afin de prédire l'affinité de chaque composé avec la cible de 3VSL. Alors, par comparaison avec le score de Lref ( $S = -6.457 \text{ kcal/mol}$ ), six composés ont été décrits comme de meilleurs inhibiteurs car ils ont des valeurs de score inférieur (de  $-7.228 \text{ Kcal}$  à  $-6.673 \text{ kcal/mol}$ ) et cela qualifie ces composés d'être plus stable et avoir une affinité plus élevée pour l'enzyme 3VSL que pour la référence (CEF). Ces résultats ont été ensuite confirmés par l'analyse visuelle des schémas d'interaction qui montrent la présence des interactions de type hydrophobique et c'est ce qui les a rendus plus stables.

Les composés L26, L30, L33, L34, L36, L37, présentaient de fortes liaisons avec les résidus dans le site actif, ils formaient des liaisons H avec les résidus THR619, THR603 et LEU663. Ils interagissent avec les résidus hydrophiles PRO660 et VAL606. Pour approfondir nos recherches, nous avons mené une autre étude pour évaluer les propriétés médicamenteuses des six composés récupérés. Cela se fait selon les règles : Lipinski, Veber. On peut voir que les six composés respectent la règle de Lipinski (où toutes les valeurs de  $\log P$  sont  $<5$ , poids moléculaire  $<500$ ,  $\text{HBA} \leq 10$  et  $\text{HBD} <5$ ), ainsi que la règle de Veber.

## Conclusion générale

---

Cette évaluation nous a permis de constater que les six composés avaient une bonne biodisponibilité orale.

Au terme de ce travail, nous pouvons conclure que les six composés sont les meilleurs inhibiteurs pour ralentir des maladies infectieuses et peuvent être proposés comme nouveaux médicaments.

## Résumé

Dans cette étude, les méthodes les plus couramment utilisées dans les stratégies de découverte de nouvelles molécules thérapeutiques sont appliquées. Afin d'étudier l'inhibition de La protéine de liaison à la pénicilline « PBP3 » impliquée dans les maladies infectieuses et d'identifier de nouveaux inhibiteurs, nos travaux se sont concentrés sur l'utilisation de méthodes de modélisation moléculaire basées sur le Docking moléculaire à l'aide du logiciel MOE, ainsi que par une estimation des propriétés *Drug Likeness*.

Notre discussion est basée sur deux paramètres : le score énergétique et les distances d'interactions entre les résidus de site actif de PBP3 et une série de dérivés thienopyrimidine.

Notre étude a révélé que 6 molécules ayant des scores d'une bonne affinité par rapport à le ligand de référence CEF dont le score est égale à (-6.457 kcal/mol) ils forment des complexes stables avec la protéine PBP3 par une meilleure fixation sur le site actif. Nous avons déterminé les propriétés *Drug Likeness* pour les composés sélectionnés. Les résultats des six ligands étaient en accord avec les valeurs requises.

Nous avons montré que ces 6 composés présentent un intérêt comme point de départ pour la conception des inhibiteurs PBP3 antibactérienne.

**Mots-clés :** PBP3, Docking moléculaire, MOE, dérivés de thienopyrimidine, Drug likeness, inhibiteur PBP3, antibactérienne.

## **Abstract**

In this study, the most commonly used methods in the discovery strategies of new therapeutic molecules are applied. In order to study the inhibition of penicillin-binding protein “PBP3” involved in infectious diseases and to identify new inhibitors, our work focused on the use of molecular modeling methods based on molecular docking to using the MOE software, as well as by estimating drug likeness properties.

Our discussion is based on two parameters: the energy score and the interaction distances between the active site residues of PBP3 and a series of thienopyrimidine derivatives

Our study revealed that 6 molecules having scores of a good affinity compared to the reference ligand CEF whose score is equal to (-6.457 kcal/mol) they form stable complexes with the protein PBP3 by a better fixation on the active site. We determined the drug likeness properties for the selected compounds. The results for all the six ligands were in agreement with the required values.

We have shown that these 6 compounds are of interest as a starting point for the design of PBP3 inhibitors antibacterial.

**Keywords:** PBP3, molecular docking, MOE, thienopyrimidine derivatives, drug likeness, PBP3 inhibitors, antibacterial.

## ملخص

في هذه الدراسة، تم تطبيق الأساليب الأكثر استخدامًا في استراتيجيات اكتشاف الجزيئات العلاجية الجديدة. من أجل دراسة تثبيط البروتين المرتبط بالبنسلين PBP3 المسبب للأمراض المعدية وتحديد مثبطات جديدة، ركز عملنا على استخدام طرق النمذجة الجزيئية القائمة على الالتحام الجزيئي باستخدام برنامج MOE، وكذلك عن طريق تقدير خصائص تشابه الدواء.

تعتمد مناقشتنا على عاملين: درجة الطاقة ومسافة التفاعلات بين أجزاء الموقع النشط لـ PBP3 وسلسلة من مشتقات Thienopyrimidine.

كشفت دراستنا أن 6 جزيئات لها درجات تقارب جيدة مقارنةً بالرابط المرجعي CEF الذي يساوي (6.457- (أنها تشكل معقدات مستقرة مع هذا البروتين بتثبيت جيد على الموقع النشط. حددنا خصائص تشابه الدواء للمركبات المختارة كانت نتائج المركبات الستة متوافقة مع القيم المطلوبة.

لقد أثبتنا أن هذه المركبات الستة ذات أهمية كنقطة انطلاق لتصميم مثبطات PBP3 المضادة للبكتيريا.

**الكلمات المفتاحية:** البروتين المرتبط بالبنسلين، الالتحام الجزيئي، تشابه الدواء، مشتقات thienopyrimidine، مثبطات، المضادة للبكتيريا.