



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

MÉMOIRE DE MASTER

Sciences de la Matière
Chimie
Chimie pharmaceutique

Réf. : Entrez la référence du document

Présenté et soutenu par :

Bensahbane Imane

Sayah Lembarek Hayat

Approche structure/activité pour la prédiction des propriétés antiprolifératives de certains dérivés de phtalimido-1,3-thiazole

Jury :

Kenouche Samir

MC/A

**Université Mohamed Khider de
Biskra**

Président

Melkemi Nadjib

Professeur

**Université Mohamed Khider de
Biskra**

Encadreur

Khamouli Saida

MC/A

**Université Mohamed Khider de
Biskra**

Examinatrice

Année universitaire : 2021/2022

Remerciement

*Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu, de nous avoir donné la santé,
la volonté et la patience pour pouvoir réaliser
ce travail de recherche.*

*Nous tenons à remercier notre encadreur Pr. Nadjib MELKEMI, pour son
encadrement, sa présence enrichissante et son aide précieuse afin de réaliser ce
travail.*

Aux membres de jury :

Je remercie beaucoup Dr. Samir KENOUCHE d 'avoir accepté de présider le

Jury du mémoire.

Je remercie également Dr. Saida KHEMOULI d 'avoir accepté de juger mon

Travail

*Enfin, je remercie toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin à
achever ce travail.*

Dédicace

*Je dédie ce mémoire à : La mémoire de mon cher papa et ma chère grand-mère
de la mère, que dieu leur fasse miséricorde*

*Ma chère maman, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères
sentiments, pour sa patience illimitée, ses encouragements continus, son aide, en
témoignage de mon profond respect pour son grand sacrifice*

*Mes chers frères et sœurs, Abderrahmane, Hanane, pour leur aide, leur
encouragement, leur disponibilité, grand merci. Mes chères jumelles, Kenza et
Barkahoum et mes chers petits frères Abdleldjalil et Mohamed*

*A tous mes cher (es) amis (ies) Amira Maissa et Abir
et collègues A. Yassine et K. Raouf pour leur soutien et leur aide pour mener à
bien ce travail.*

Merci à tous du fond du cœur...

IMANE

Dédicaces

*A mes parents Ali et Siham, pour tous leurs sacrifices,
Leur amour, Leur tendresse, leur soutien et leurs prières*

Tout au long de mes études, pour toute

Leur assistance et leur présence dans ma vie.

*A mes frères Ahmed et Yasser et ma sœur bien amie Rayane pour leur
encouragement*

A tous mes amis et ma famille

Et ma cher Samar

Merci

HAYAT

Table des matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des principales abréviations	
Introduction générale.....	1
Références.....	3

CHAPITRE.I

Le cancer et les médicaments antiprolifératifs

Partie 1 : Généralités sur le cancer

1. Introduction	5
1.1.Définition	5
1.2.Classification	6
1.3.Les causes du cancer	7
1.4.La cancérogénèse	8
2. La leucémie.....	10
2.1. La leucémie lymphatique aigue (LLA)	11
2.2.. Le Diagnostic	11
2.3. Les symptômes	12
2.4. Les Causes de la leucémie LLA.....	12
2.5.. Les classifications d'ALL	14
2.6.. Développement des leucémies lymphoblastiques aiguës	15
2.7. Le traitement général d'ALL	18
3. Qu'est-ce que NT5C2	19
3.1.. Le rôle physiologique de la nucléotidase II cytosolique (NT5C2) dans la santé....	19
3.2.. L'activité aberrante de NT5C2 dans la maladie humaine.....	20

3.3.. Développement des inhibiteurs de NT5C2	20
4. Le gène BCR-ABL / chromosome Ph1.....	21
4.1.Le développement des inhibiteurs de BCR-ABL.....	22

Partie 2 : Généralités sur les dérivés de phtalimido-1.3-thiazole

1. Introduction.....	24
2. Les thiazoles	25
2.1. activité anti-tumorale	25
3. Les phtalimides.....	25
3.1. l'activité anti-tumorale	26
4. 1.3-thiazole	27
Références bibliographiques.....	28

CHAPITRE.II

Méthodes de chimie computationnelle utilisées

1. Introduction	36
2. Les méthodes de calcul semi-empirique.....	37
3. Les méthodes empiriques	38
3.1.La mécanique moléculaire	38
3.1.1. Champ de force en mécanique moléculaire	38
3.2. La dynamique moléculaire	39
3.2.1. Calcul de la Dynamique Moléculaire :.....	40
4. Application aux études structure – activité.....	41
4.1.Le Docking moléculaire	41
4.1.1. Le principe de docking	41
4.1.2. Le type de docking	42
4.1.3. .Les algorithmes de docking.....	42
4.2. Les relations quantitative structure activité QSAR.....	44

4.2.1. Les descripteurs	45
4.2.2. . méthodes d'analyse des données	46
4.2.2.1. La régression linéaire multiple	46
4.2.2.2. la notation matricielle	47
4.2.2.3.. Confiance accordée aux résultats.	47
4.2.2.4.la validation du modèle QSAR	48
4.3. L'étude in vitro des propriétés ADME	48
Références bibliographique.....	51

CHAPITRE.III

Résultat est discussion

1. Introduction	58
2. MATÉRIELS ET MÉTHODES	60
2.1.Base de données biologiques	60
2.2.. Etude de docking moléculaire	62
2.2.1. Préparation des ligands	62
2.2.2. Propriétés des ligands.....	63
2.2.3. Préparation des cibles biologiques (enzymes)	64
2.3.Simulation par la dynamique moléculaire.....	68
2.4.. Etude QSAR de l'activité cytotoxique des dérivés de phtalimido 1,3-thiazole.....	68
2.4.1. Données expérimentales (Data set).....	68
2.4.2. Calcul des descripteurs moléculaires	69
2.4.3. Analyse statistique	70
2.4.4. Méthodes de validation.....	70
2.5..La Prédiction ADME	71
2.5.1. .Programme swissADME	71
2.5.2. Paramètres ADME utilisés.....	72
3. Résultats et discussion	74
3.1..Docking moléculaire	74
3.1.1. Cas de l'enzyme 6DDQ.....	74
3.1.2. .Cas de l'enzyme 4WA9	77
3.2.. Simulation par la dynamique moléculaire	80
3.2.1. Interactions ligands- site actif de 6DDQ	80

3.2.2. . Courbes de dynamique moléculaire des top-six ligands liés à La protéine 6DDQ	86
3.2.3. Les interactions ligands-site actif de 4wa9	98
3.2.4. Courbes de dynamique moléculaire des top-six ligands Liés à la protéine 4WA9	93
3.3.Etude quantitatives des relations structure/activité (QSAR] des propriétés Cytotoxiques de certains dérivés de phtalimido-1,3-thiazole.....	96
3.4..Propriétés ADME et évaluation de Druglikeness.....	103
Références bibliographiques	106
Conclusion générale	110
Annexe	112

Liste des tableaux :

CHAPITRE.III		
Tableau.III.1	Activité cytotoxique in vitro des dérivés de phtalimido-1,3-thiazole (10 μ M) envers les lignées cellulaires tumorales MOLT-4 et TOLEDO.	62
Tableau.III.2	Structures chimique des dérivés de phtalimido-1.3-thiazole et leurs valeurs d'activités biologiques	64
Tableau.III.3	Quelques propriétés des dérivés de phtalimido-1.3-thiazole	65
Tableau.III.4	Propriétés des enzymes, score énergétique et valeurs RMSD.	68
Tableau.III.5	Valeurs de descripteurs moléculaires utilisés dans l'étude QSAR	71
Tableau.III.6	Score d'amarrage et interactions entre les composés et les résidus d'acides aminés du site actif de la cible 6DDQ.	77
Tableau.III.7	Score d'amarrage et interactions entre les composés et les résidus d'acides aminés du site actif de la cible 4WA9.	80
Tableau.III.8	Résultats d'étude par la dynamique moléculaire de top- scoring des six Ligands dans le site actif de 6DDQ.	87
Tableau.III.9	Résultats de dynamique moléculaire de top- scoring des six ligands Dans le site actif de 4WA9.	94
Tableau.III.10	Modèles sélectionnés et paramètres statistiques des corrélations entre les Propriétés moléculaires et les deux activités biologiques pAct1 et pAct2	98
Tableau.III.11	Matrice des corrélations des trois descripteurs moléculaires appropriés Impliqués dans le modèle 1	99
Tableau.III.12	Matrice des corrélations des six descripteurs moléculaires appropriés impliqués dans le modèle 2	99
Tableau.III.13	Paramètres de validation croisée	101
Tableau.III.14	Valeurs des activités prédites et résiduelles de l'ensemble de Dérives de phtalimido-1,3-thiazole	102
Tableau.III.16	Résultats d'évaluation des propriétés ADME et Druglikeness des dérivés de phtalimido-1,3-thiazole.	106

Liste des figures :

Chapitre. I		
Figure.I.1	quelques causes de cancer	8
Figure.I.2	Mode d'action schématique des initiateurs et des promoteurs de tumeurs	10
Figure.I.3	Diagnostic de la leucémie LLA par la ponction de moelle osseuse	11
Figure.I.4	Caryotype d'un jeune garçon atteint d'une maladie LLA	13
Figure.I.5	Translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22.	22
Figure.I.6	Les structures chimiques d'épontiions et bléomycine	27
Chapitre. III		
Figure.III.1	Structure 3D des deux enzymes utilisées dans notre étude	67
Figure.III.2	Présentation des ligands de références Co-cristallisés pour les deux Enzymes et leurs interactions après le docking moléculaire	69
Figure.III.3	Interface de programme en ligne SwissADME.	73
Figure.III.4	Représentation des différentes interactions avant et après la simulation par la dynamique moléculaire entre les six meilleurs ligands (scoring) et le site actif de 6DDQ	83
Figure.III.5	Evaluation de l'énergie potentielle des six complexes de l'enzyme 6DDQ en fonction du temps	86
Figure.III.6	Représentation des différentes interactions avant et après la Simulation par dynamique moléculaire entre les tops six ligands (scoring) et le site actif de 4WA9	94
Figure.III.7	Evaluation de l'énergie potentielle des six complexes choisis de l'enzyme 4WA9 en fonction du temps	97
Figure.III.8	Corrélation entre les activités biologiques expérimentales et prédites pour les modèles 1et 2	103
Figure.III.9	Corrélation entre les valeurs résiduelles et les valeurs expérimentales des activités cytotoxiques pAct1et Act2	104

Liste des principales abréviations

CHAPITRE.I

CTC : Cellules Tumorales Circulantes.

AND : Acide Désoxyribonucléique.

ADNtc : Acide Désoxyribonucléique Tumoral Circulant.

LLA : leucémie lymphoblastique aiguë.

FAB : Le groupe de travail coopératif franco-américain-britannique.

BCP-ALL: B-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia.

EGIL : Groupe européen immunologique des leucémies.

TCRB: T-cell receptor beta.

CHAPITRE.II.

ZDO: Zero Differential Overlap.

CNDO: Complete Neglect of Differential Overlap.

INDO: Intermediate Neglect of Differential Overlap.

EFF : Empirical Force Field.

MM : Mécanique Moléculaire.

DM : Dynamique Moléculaire.

SBDD : Structure-Based Drug Design.

RX: Rayon X.

PDB: Protein Data Bank.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

MA : Matching algorithm.

IC : Construction incrémentale.

MC : Monte Carlo.

FDS : Fiche de données de sécurité.

AG : Algorithme génétique.

QSAR : Relation Quantitative Structure /Activité.

RLM: Regression Linear Multiple.

LOO: Leave-One-Out.

ADME : Absorption, Distribution, Métabolisme et Elimination.

AIH: Absorption intestinal human.

MOE: Molecular Operating Environment.

RMSD: Root-Mean-Square Deviation.

CHAPITRE.III

ATCC : American Type Culture Collection.

BHE : la Barrière Hémato-Encéphalique.

SNC : Système Nerveux Central.

P (P-gp) : La glycoprotéine

TPSA: topological polar surface area.

Introduction générale

Le cancer du sang affecte 1 enfant sur 500 avant l'âge de 14 ans et constitue la cause majeure de mortalité par cette maladie dans cette population. L'étiologie de ce groupe de maladies hétérogènes est encore très mal connue. Du fait de leur plus grande prévalence, les efforts de recherche en oncogénétique pédiatrique se sont concentrés sur les leucémies, particulièrement sur la leucémie lymphoblastique aiguë (LLA) [1].

La chimiothérapie est le traitement de référence de la plupart des leucémies. Bien qu'un médicament chimiothérapique idéal doit détruire les cellules cancéreuses sans léser les cellules saines, la plupart des médicaments ne sont pas aussi sélectifs [2]. Ainsi, de nombreux effets secondaires dus à l'infection des cellules saines par la chimiothérapie.

Cela a incité la recherche scientifique dans les domaines de la chimie pharmaceutique et la biologie à rechercher d'autres solutions moins nocives utilisant des méthodes plus rapides et moins coûteuses que les anciennes méthodes expérimentales.

Grace à la modélisation moléculaire, les chercheurs aujourd'hui peuvent identifier et optimiser théoriquement de nombreuses molécules disponibles dans des chimiothèques ou banques de produits publiques ou privées.

La recherche de candidats médicaments s'oriente de nos jours très tôt vers une analyse du potentiel de diversité chimique disponible, comme objectif de cribler virtuellement (réduction du nombre candidats) puis expérimentalement des collections ciblées pour la recherche de molécules (hits) ayant des caractéristiques prometteuses sur de nouvelles cibles [3].

La modélisation moléculaire a pour but de prévoir la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes de molécules.

Les méthodes de la modélisation moléculaire comprennent : les méthodes de chimie quantique qui permettent d'étudier les propriétés structurales et la réactivité chimique des molécules ; la mécanique moléculaire et la dynamique moléculaire. Ces dernières sont des outils de choix pour l'étude du comportement de grands systèmes biologiques (protéines, enzymes, ADN, complexes protéine-protéine...) sur des échelles de temps longues [4-5].

La chimie computationnelle fait partie des méthodes pouvant apporter un nouvel éclairage sur le développement des nouveaux traitements contre la leucémie en utilisant des molécules ayant des activités biologiques prouvées expérimentalement.

La majorité des molécules qui ont des activités thérapeutiques sont des composés hétérocycliques

Les hétérocycles substitués sont des structures très importantes en chimie médicinale étant donné qu'on les retrouve dans un très grand nombre de médicaments. Plusieurs de ces hétérocycles sont reconnus comme étant des structures privilégiées pour la découverte de nouveaux composés bioactifs puisqu'ils ont la capacité d'interagir avec une grande variété de cibles thérapeutiques comme différents types de protéines de récepteurs et d'enzymes. Parmi ces structures dites privilégiées, on retrouve les thiazoles substitués par les phthalimides et leurs dérivés, qui sont dotés de propriétés pharmacologiques diverses. Ainsi que, les résultats des travaux antérieurs réalisés montrent que ces composés possèdent un fort effet thérapeutique contre le cancer [6-7].

Le principal objectif de notre travail est l'utilisation des approches structure/activité dans la prédiction des propriétés cytotoxiques des dérivés de phthalimido-1.3-thiazole envers des lignées cellulaires tumorales MOLT-4 et TOLEDO. Cette étude basée sur l'utilisation de plusieurs méthodes de chimie computationnelle à savoir : docking/dynamique moléculaire, étude quantitative des relations structure/activité (QSAR) et la prédiction des propriétés ADME.

Notre travail est divisé en trois chapitres.

Le premier chapitre comporte des généralités sur le cancer et les médicaments antiprolifératifs.

Le deuxième chapitre est consacré à la description des méthodes de chimie computationnelle utilisées.

Le troisième chapitre regroupe les principaux résultats obtenus avec la discussion.

Références bibliographiques

- [1]. D. Sinnett, N. N'Diaye, P. St-Onge, and J. Healy, “La leucémie de l’enfant- Une maladie génétique!,” *médecine/sciences*, vol. 23, no. 11, pp. 968–974, 2007.
- [2]. A. Agarwal, “Practical Manual of In Vitro Fertilization”.
- [3]. P. Vayer, A. Arrault, B. Lesur, M. Bertrand, and B. Walther, “Apports de la chémoinformatique dans la recherche et l’optimisation des molécules d’intérêt thérapeutique,” *médecine/sciences*, vol. 25, no. 10, pp. 871–877, 2009.
- [4]. J. Diharce, “Etude par modélisation moléculaire de systèmes multienzymatiques impliqués dans la biosynthèse des flavonoïdes.” Université Nice Sophia Antipolis, 2014.
- [5]. A. Durand, “Modélisation moléculaire: vers un nouvel outil d’aide à la conception multimedia.” Université de Valenciennes et du Hainaut-Cambresis, 1997.
- [6]. N. Régnier, “Design et synthèse d’hétérocycles fusionnés polysubstitués par réaction multicomposante de Ugi en tandem pour le développement d’agents antimicrobiens et antinéoplasiques,” 2021.
- [7]. H. Chabane, “Synthèse et évaluation du potentiel anticancéreux d’hétérocycles apparentés aux thiazolocarbazoles.” Orléans, 2001.

Chapitre 1 : Le cancer et les médicaments antiprolifératifs

PARTIE 1 : généralités sur le cancer

1. Introduction

Le cancer est une pathologie métabolique qui pose un grand problème de santé publique engendrant, chaque année, 18,1 millions de nouveaux cas et 9,6 millions de décès. Un homme sur cinq et une femme sur six dans le monde développeront un cancer au cours de leur vie, et un homme sur huit et une femme sur 11 meurent de cette maladie. A l'échelle nationale, La maladie du siècle se transforme en épidémie en Algérie. 50.000 nouveaux cas de cancer et pas moins de 20.000 décès ont été enregistrés en 2019. La situation risque de s'aggraver à l'avenir si rien n'est fait pour enrayer l'épidémie [1-3].

La leucémie est la plus « connue » des cancers du sang car souvent associé à l'enfance. La leucémie est en effet le cancer pédiatrique le plus fréquent, mais elle peut aussi toucher des adolescents, des adultes et des personnes âgées [4].

Quelque 200 cas de leucémie sont enregistrés chaque année en Algérie, a indiqué le chef du service d'hématologie de l'établissement hospitalo-universitaire d'Oran, Pr. Amine Bekadja, précisant que ce type de cancer « n'est pas encore connu » de la société algérienne. Selon l'hématologue, ce type de cancer touche une tranche d'âge de 60 ans, dont l'homme est plus vulnérable à cette maladie que la femme, ajoutant dans ce sens que plusieurs cas ont une relation avec les facteurs héréditaires. La science « n'est pas parvenue à diagnostiquer d'autres facteurs de cette maladie », a-t-il-dit [5].

1.1. Définition d'un cancer :

Le cancer est une maladie qui résulte d'une accumulation de dérégulations induisant une cellule saine au sein d'un tissu à devenir une cellule précancéreuse qui va proliférer de manière incontrôlée et anarchique, donnant lieu à l'apparition d'une tumeur primaire localisée dans ce tissu. Une des caractéristiques critiques des cellules de carcinome est la capacité à quitter le site de la tumeur primaire pour coloniser, d'abord localement, le tissu avoisinant, puis, dans les stades les plus avancés de la maladie, à former des métastases via la circulation sanguine et/ou lymphatique dans des localisations Secondaires différentes et situées à distance de la tumeur primaire [6,7].

Le cancer se caractérise par la multiplication de façon désorganisée et la propagation anarchique des cellules anormales au sein d'un tissu normal de l'organisme ce qui peut nuire au bon fonctionnement des organes en formant une ou des tumeurs [8].

Normalement, les signaux que s'échangent entre les cellules normales maintiennent l'équilibre des tissus et assurent que chaque cellule est à sa place et accomplit son rôle. Autrement, ces cellules sont éliminées pour éviter de nuire à leur hôte. Dans le cas des cellules cancéreuses, celles-ci ne répondent plus aux signaux responsables de cet équilibre. Elles se mettent à se multiplier fortement, même à un endroit inapproprié. Cela a pour effet, à plus ou moins long terme selon le site de la tumeur, d'entraver le fonctionnement des organes envahis et donc, éventuellement, de causer la mort. [5]. Cette maladie peut être due à des facteurs externes ou internes (mutations héréditaires, hormones, etc.) [3]

1.2. . Classifications :

La classification des cancers s'est établie selon le type de cellule, de tissu ou de l'organe affecté initialement.. La grande majorité des tumeurs cancéreuses sont des carcinomes (tumeurs dérivées des cellules des tissus épithéliaux tels que la peau, diverses glandes, les seins et la muqueuse de la plupart des organes internes)

Dans les leucémies, qui sont des cancers de la moelle osseuse, un excès de leucocytes est produit. De même, les lymphocytes produits dans les ganglions lymphatiques et la rate prolifèrent de manière incontrôlable dans les lymphomes [9].

1.2.1. Les tumeurs solides : Une tumeur solide est un cancer formant une masse individualisée. La physiologie d'une tumeur diffère de celle d'un tissu sain sur de nombreux aspects [10].

Le terme « tumeur solide » s'applique par opposition au terme « tumeur circulante » Ces tumeurs sont classées en 3 grandes catégories en fonction du type cellulaire dont elles émergent :

- ✓ Les sarcomes se développent à partir du tissu conjonctif, osseux ou musculaire.
- ✓ Les carcinomes se développent au niveau des cellules glandulaires (adénocarcinome) et épithéliales (carcinome épidermoïde) [11].

1.2.2. Les tumeurs circulantes :

Au cours du développement tumoral, certaines cellules cancéreuses peuvent se détacher des tumeurs solides et infiltrer la circulation sanguine. On parle alors de cellules tumorales circulantes (CTC). Des cellules tumorales vont également mourir, se désagréger et libérer dans le sang des fragments de leur matériel génétique, de l'ADN tumoral circulant (ADNtc).

Les cellules cancéreuses peuvent aussi libérer des exosomes, contenant du matériel génétique et des protéines. ADNtc, CTC et exosomes sont des marqueurs de la présence de cellules cancéreuses, détectables par une simple prise de sang ou « biopsie liquide ». [12].

Les Exosomes : avec une gamme de tailles de 40 à 160 nanomètres de diamètre (moyenne de 100 nanomètres), sont un sous-ensemble de vésicules extracellulaires (EVs) entourées d'une membrane bicouche lipidique et sécrétées par la plupart des cellules eucaryotes. Identifiées dès la fin des années 1980, les exosomes à l'origine et simplement considérés comme des déchets cellulaires. Cependant, avec le développement des méthodologies de recherche et techniques, les gens ont maintenant réalisé que les exosomes représentent un nouveau mode de communication intercellulaire et contribuent à une large gamme de processus biologiques dans la santé et la maladie, y compris le cancer [13].

1.3. Les causes de cancer :

- l'exposition à des virus,
- les produits chimiques,
- les rayonnements. ...comme indiqué dans la figure I.1.

Cela a pour effet d'induire des mutations ou des expressions inappropriées de divers gènes appelés oncogènes impliqués dans la prolifération des cellules (→ division cellulaire), dans leur différenciation et dans la régulation de ces phénomènes [14].

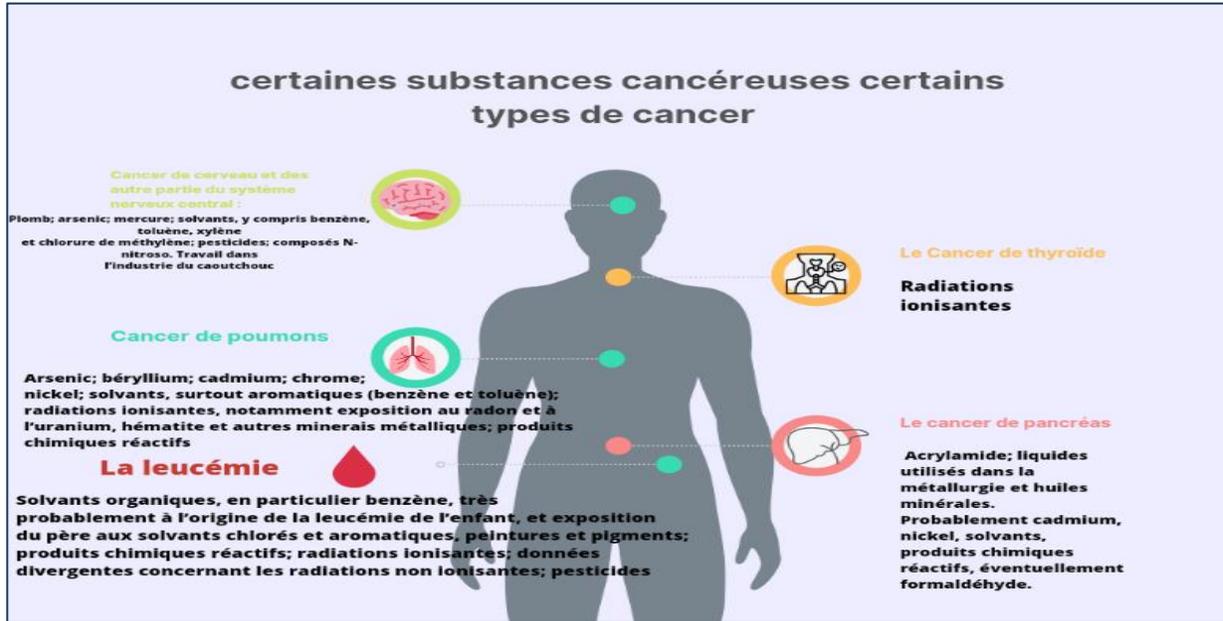


Figure I.1 : quelques causes de cancer

Un oncogène est un gène dont l'expression est susceptible de conférer un phénotype cancéreux à une cellule normale eucaryote. En effet, les oncogènes commandent la synthèse de protéines stimulant la division cellulaire (appelées oncoprotéines) ou inhibant la mort cellulaire programmée (ou apoptose). Les oncogènes sont responsables d'une prolifération cellulaire anarchique prédisposant au développement de cellules cancéreuses [15].

1.4. La cancérogénèse :

Chaque tumeur provient d'une seule cellule endommagée. En d'autres termes, une tumeur est un clone dérivé d'une cellule dans lequel des changements héréditaires se sont produits. Les dommages génétiques consistent en des mutations et des réarrangements ou des pertes chromosomiques, de tels changements entraînent la perte ou l'altération de la fonction des molécules impliquées dans la croissance ou la prolifération cellulaire. Les tumeurs se développent généralement sur une longue période et impliquent plusieurs types indépendants de dommages génétiques. Trois étapes peuvent transformer une cellule normale en une cellule maligne

1.4.1 .Phase d'initiation de la cancérogénèse :

Une modification permanente du génome d'une cellule lui confère un avantage de croissance par rapport à ses voisines. La plupart des mutations initiatrices affectent les protooncogènes ou les gènes suppresseurs de tumeurs. Les protooncogènes codent pour une variété des facteurs de croissance, les récepteurs du facteur de croissance, enzymes, ou les facteurs de transcription qui favorisent la croissance cellulaire et/ou la division cellulaire.

1.4.2. Phase de promotion :

Le développement de tumeurs peut également être favorisé par des produits chimiques qui n'altèrent pas la structure de l'ADN. Les promoteurs de tumeurs contribuent à la carcinogénèse par deux méthodes principales. 1-En activant des composants des voies de signalisation intracellulaires, Les effets de nombreuses autres tumeurs les promoteurs sont inconnus mais 2-peuvent impliquer des effets transitoires tels comme l'augmentation des niveaux cellulaires de Ca^{2+} ou l'augmentation de la synthèse des enzymes qui transforment les pro-carcinogènes en cancérigènes.

1.4.3. .Phase de progression :

Au cours de la progression, les cellules précancéreuses génétiquement vulnérables, qui possèdent déjà des avantages de croissance par rapport aux cellules normales, sont encore plus endommagées. Finalement, l'exposition continue aux carcinogènes et aux promoteurs rend inévitables d'autres mutations aléatoires .Si ces mutations affectent la capacité de prolifération ou de différenciation cellulaire, alors une cellule affectée peut devenir suffisamment maligne pour produire une tumeur. [16].

Un initiateur modifie l'information génétique et il est capable de transformer une cellule saine. Un promoteur de tumeur ne transforme pas une cellule, il stimule la progression de l'oncogénèse s'il exerce son action (dans cet exemple, une stimulation de la prolifération cellulaire) sur des cellules qui ont déjà initié l'oncogénèse, Figure.I.2. [17].

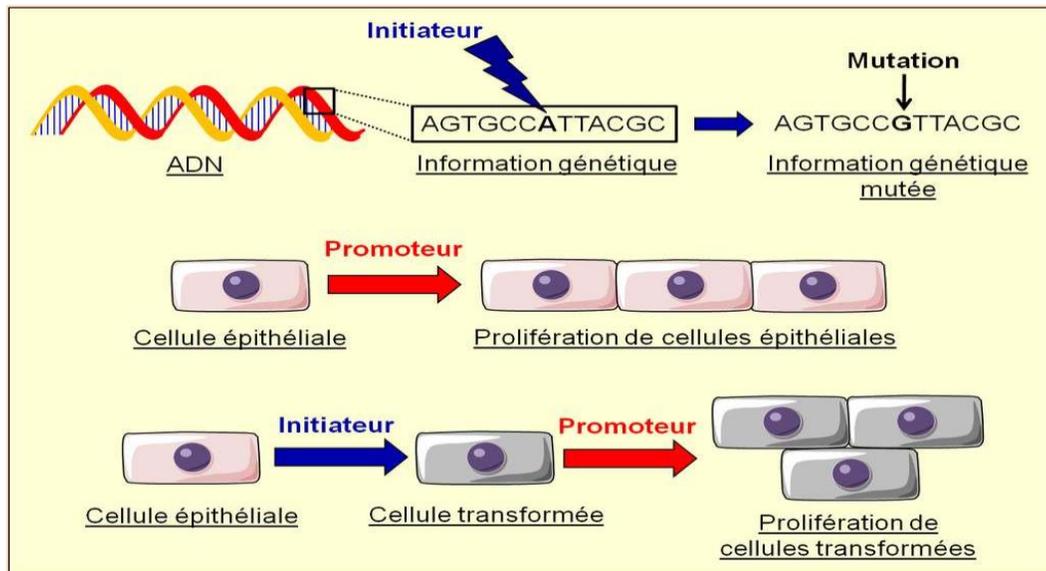


Figure.I.2 : Mode d'action schématique des initiateurs et des promoteurs de tumeurs

2. La leucémie :

La leucémie est un cancer des tissus hématopoïétiques caractérisé par une augmentation croissance incontrôlée de globules blancs immatures ou de leucocytes dans le sang, la rate et moelle osseuse Les quatre principaux types de leucémie sont leucémie myéloïde aiguë, leucémie myéloïde chronique, leucémie aiguë lymphoblastique et la leucémie lymphoïde chronique [18].

Leucémie aiguë : est une maladie à progression rapide qui produit des cellules qui ne sont pas complètement développées. Ces cellules ne peuvent pas remplir leurs fonctions normales.

Leucémie chronique : progresse généralement lentement et les patients ont un plus grand nombre de cellules matures. En général, ces cellules plus matures peuvent remplir certaines de leurs fonctions normales

La leucémie lymphoblastique : la transformation cancéreuse commence dans une cellule de la moelle qui forme normalement les lymphocytes (un type de globule blanc).

La leucémie myéloïde : la transformation cancéreuse commence dans une cellule de la moelle qui forme normalement les globules rouges, certains types de globules blancs et les plaquettes [19].

2.1. La leucémie lymphatique aiguë (LLA) :

La leucémie aiguë lymphoblastique LLA (en anglais acut lymphoblastic leukemia LAL) est une prolifération maligne des cellules immatures du système sanguin (on les appelle des blastes) LLA est un trouble biologiquement hétérogène, de sorte que morphologique, immunologique, cytogénétique, génétique biochimique et moléculaire.

Dans le système sanguin, plusieurs catégories de cellules se développent à partir d'un ancêtre commun (la cellule souche dite pluripotente qui se trouve dans la moelle). Le sang se développe par étapes, les cellules devenant de plus en plus matures. Ce n'est que dans les derniers stades de leur développement que ces cellules sont prêtes à jouer leur rôle dans nos défenses contre les agressions infectieuses ou autres (c'est ce qu'on appelle l'immunité) parfois, les mécanismes qui régulent ce système fonctionnent mal. Contrairement aux leucémies chroniques, les leucémies aiguës se développent habituellement en quelques semaines et entraînent rapidement l'apparition de symptômes, parfois graves [20-21].

2.2. Le Diagnostic :

Sang : numération globulaire complète :
faible taux de globules rouges, taux élevé
de globules blancs,

• ponction/biopsie de moelle osseuse :

- Mesurer le nombre/la structure des
chromosomes

- Déterminer les anomalies
chromosomiques

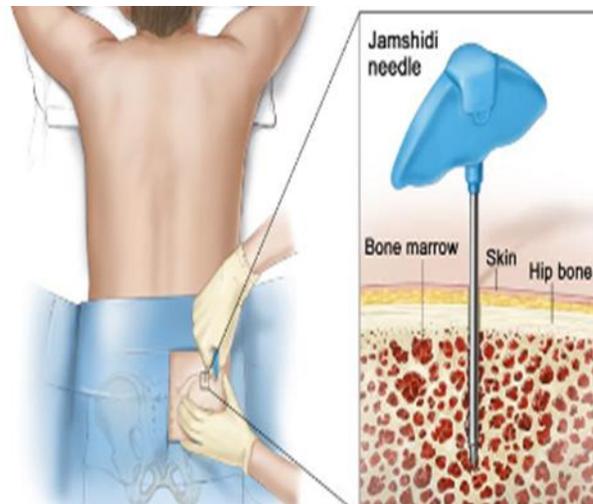


Figure I.3 Diagnostic de la leucémie LLA par la ponction de moelle osseuse

2.3. Les symptômes :

2.3.1. Des symptômes généraux :

Des symptômes musculo-squelettiques sont présents au diagnostic dans environ 40% des cas avec le plus souvent des douleurs ostéo-articulaires (21 à 59%), une boiterie (12,3%), des œdèmes péri-articulaires (10,6%), et des épanchements articulaires (5,7%). Ces manifestations sont principalement situées au niveau des extrémités (32.8% des cas) [23].

2.3.2. Des symptômes qui résultent de l'infiltration de la moelle osseuse par les blastes :

- ❖ Des hémorragies : elles résultent d'une diminution de la production de plaquettes
- ❖ Des infections : elles sont la conséquence de la diminution du nombre de globules blancs normaux.
- ❖ De l'anémie : elle résulte de la diminution de production des globules rouges. [24].

2.4. Les Causes de la leucémie LLA :

Les causes d'ALL ne sont pas claires. Quelques facteurs ont été associés à un risque accru de développer la maladie. L'exposition à de fortes doses de rayonnement est l'un de ces facteurs. ALL se produit à des rythmes différents dans divers contextes. Les taux de leucémie sont plus élevés dans les pays plus développés et dans les groupes socio-économiques supérieurs.

Certains cas de LAL sont liés à une mutation dans un lymphocyte qui survient pendant la période prénatale. Habituellement, la leucémie est diagnostiquée dans la petite enfance ou dans les premières années après la naissance. Cependant, dans certains cas, des années peuvent s'écouler avant que la maladie n'apparaisse. Avec la LAL, il semble que des anomalies génétiques supplémentaires puissent survenir après la naissance et permettre la croissance cellulaire non régulée qui est nécessaire pour déclencher la maladie, car il y a plus de mutations trouvées dans la période prénatale qu'il n'y a de cas de LAL [25].

- **Une origine prénatale** : réarrangements chromosomiques sont des causes importantes en ALL car sont les responsables des mutations génétiques.

Les modifications chromosomiques récurrentes sont une caractéristique de la LAL, avec des variations de fréquence selon l'âge. Dans la LAL pro-génitrice B de l'enfance, il s'agit notamment d'une hyper-diploïdie élevée avec >50 chromosomes hypo-diploïdie à <44 chromosomes; et réarrangements chromosomiques, y compris $t(12;21)(p13;q22)$ ETV6-RUNX1 (TEL-AML1), $t(1;19)(q23;p13)$ TCF3-PBX1 (E2A-PBX1) et $t(9;22)(q34;q11)$ BCR-ABL1, réarrangement de CRLF2 au niveau de la région pseudo-autosomique -1- à Xq21.3/Yp11.2, et réarrangements de MLL. [26].

Exemple figur04 :

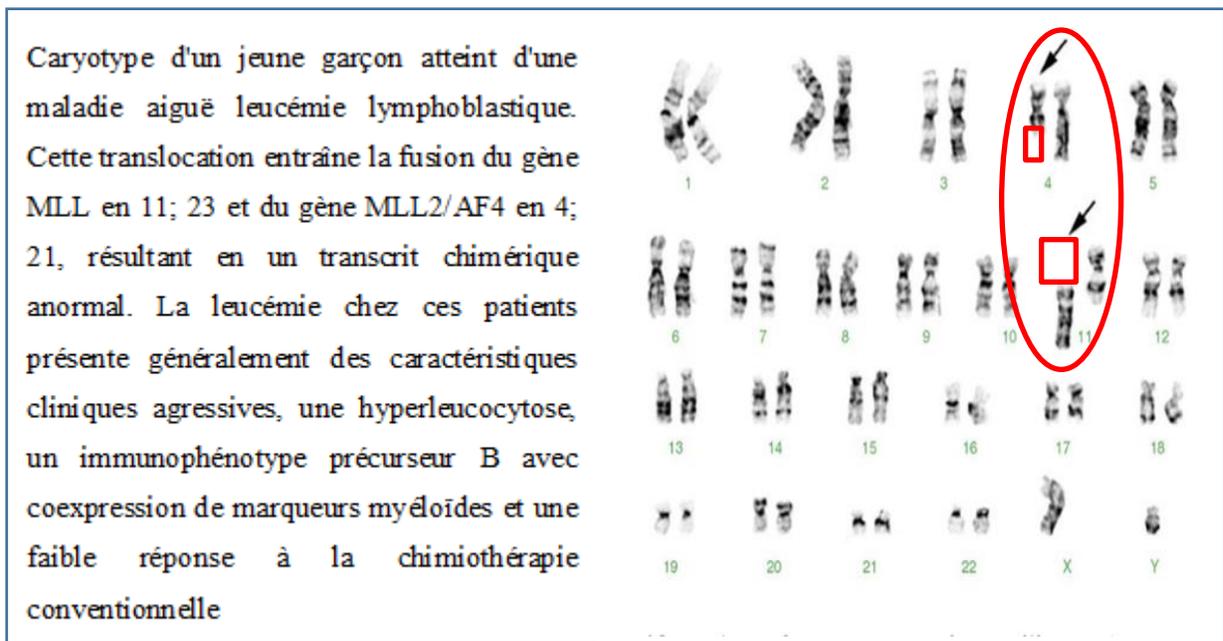


Figure I.3 : Caryotype d'un jeune garçon atteint d'une maladie LLA.

Il est important de noter qu'il reste beaucoup à apprendre concernant les sous-types génétiques de la LAL. Même dans la LAL infantile, qui a été la plus largement séquencée, au moins 11 % des cas n'ont pas de réarrangement chromosomique connu, initiant la leucémie. Cette proportion augmente à la fois dans la LAL à cellules T et à cellules B avec l'âge, et des études approfondies examinant la base génétique de la LAL chez les personnes âgées font défaut. [22].

2.5. Les classifications d'ALL :

2.5.1. Classification morphologique de ALL : (taille de la cellule, chromatine nucléaire, forme du noyau, importance du cytoplasme) Le groupe de travail coopératif Franco-Américain-Britannique (FAB), définit trois catégories de lymphoblastes :

- **Lymphoblastes L1 :** sont de petites cellules caractérisées par un rapport noyau/cytoplasme élevé .Le cytoplasme bleu pâle est peu abondant et limité à une petite partie du périmètre de la cellule. Les cellules ont des nucléoles et des membranes nucléaires distincts qui varient de ronds à fendus
- **Lymphoblastes L2 :** Les lymphoblastes L2 : sont plus gros, souvent dans une population plus hétérogène, avec un rapport noyau/cytoplasme plus faible, des nucléoles proéminents (souvent avec une condensation péri nucléaire de la chromatine) et les membranes nucléaires qui peuvent être irrégulières. Ils peuvent être indiscernables de la variante M1 de la leucémie myéloïde
- **Les lymphoblastes L3 :** sont un groupe hétérogène de cellules identiques à la leucémie de type Burkitt et caractérisés par un cytoplasme profondément basophile et une vacuolisation cytoplasmique importante. Environ 85 % des enfants atteints de LAL ont un L 1 prédominant morphologie, 14% ont L2, et 1% ont L3, tandis que le sous-type L 2 est plus fréquent chez les adultes. Alors que les lymphoblastes L3 représentent une population immuno-phénotypiquement distincte de cellules B matures, il n'y a pas de corrélation entre les différentes étapes de la différenciation des cellules pré-B ou immun phénotype et morphologie L1 ou L2. [27].

2.5.2. Classification immunophénotypique de la LAL :

C'est-à-dire la reconnaissance des protéines situées sur la membrane ou à l'intérieur des lymphoblastes par des anticorps

Les études de surface immunologique et de marqueurs cytoplasmiques sont d'une grande importance pour la classification des leucémies aiguës. En utilisant un panel sélectionné des anticorps monoclonaux des protéines. On peut distinguer deux grands groupes de LLA et deux autres groupes plus petits :

- **LLA B** : c'est le groupe le plus nombreux Il se distingue par la présence des marqueurs caractéristiques des lymphocytes dits « B ». 75% des LLA appartiennent à cette catégorie
- **LLA T** : ce groupe se distingue par la présence des marqueurs caractéristiques des lymphocytes dits « T ». 25% des LLA appartiennent à cette catégorie Selon la cellule d'origine, la LAL est classée comme une LAL précurseur des lymphocytes B (BCP-ALL) et une LAL des lymphocytes T (T-ALL). [12].
- **LLA avec chromosome de Philadelphie** (chromosome Ph) : un échange de fragments de chromosome survient entre les chromosomes 9 et 22, provoquant une fusion entre deux gènes (les gènes BCR et ABL) qui ne sont pas voisins à l'état naturel. Cet échange de matériel aboutit à la production de protéines anormales qui sont impliquées dans le mécanisme de la leucémie. La réponse aux traitements conventionnels n'est pas bonne mais, récemment, des médicaments spécifiques qui empêchent l'action des protéines anormales générées par la fusion des deux gènes ont été mis au point et ont amélioré les résultats du traitement et le pronostic de cette catégorie de LLA.
- **LLA de type Burkitt** correspond à une LLA dans laquelle il existe un échange de matériel entre les chromosomes 8 et 14. On l'appelle aussi LLA B mature. Elle représente moins de 5% de l'ensemble des LLA mais, contrairement à la catégorie précédente, sa réponse à la chimiothérapie est généralement bonne. [28].

2.6. Développement des leucémies lymphoblastiques aiguës :

Les lymphocytes B et les lymphocytes T comprennent plusieurs sous-types abritant des constellations distinctes de réarrangements structurels somatiques de l'ADN et de mutations de séquence qui perturbent généralement le développement lymphoïde, les récepteurs des cytokines, la signalisation des kinases et Ras, la suppression des tumeurs et la modification de la chromatine.

Des études récentes ont aidé à comprendre la base génétique de l'évolution clonale et de la rechute et le rôle des variantes génétiques héréditaires dans la leucémogénèse. Bon nombre de ces découvertes sont d'importance clinique, et les études en cours mettant en œuvre le séquençage clinique dans la prise en charge de la leucémie devraient améliorer le diagnostic, la surveillance de la maladie résiduelle et la détection précoce des rechutes et orienter des thérapies précises. [29].

2.6.1. Base moléculaire et génétique de la LAL :

Les premières études cytogénétiques et les progrès récents de la génomique, de la transcriptomique et de l'épigénomique nous offrent un excellent aperçu de la biologie de la LAL. Génétiquement, la LAL est une maladie hétérogène, avec un certain nombre de sous-types classés récemment. La plupart des cas présentent d'importantes altérations génétiques structurelles telles que l'aneuploïdie (gains ou pertes de chromosomes) et les translocations chromosomiques entraînant la dérégulation de l'expression de régulateurs hématopoïétiques, de suppresseurs de tumeurs ou d'oncogènes, ou l'expression de nouvelles protéines de fusion à potentiel leucémogène. Des hits génétiques coopérants supplémentaires sous la forme de mutations de séquence d'ADN sont également fréquemment observés. [30].

- **Dans B-ALL :** les altérations les plus courantes sont :

- ❖ hyper diploïdie (>50 chromosomes) : chez 25% des cas
- ❖ la translocation t (12 ; 21) (p13 ; q22) : qui code ETV6-RUNX1 dans 25% des cas
Ce réarrangement altère les activités des facteurs de transcription ETV6 et RUNX1 qui sont des régulateurs importants de l'hématopoïèse et prédisposent les cellules précurseurs B à la transformation leucémique
- ❖ le chromosome BCR-ABL1 Philadelphia (Ph) : (3 % des cas pédiatriques et 25 % des cas adultes) qui entraîne des signalisations constitutive de la tyrosine kinase
- ❖ TCF3-PBX1 (5%) : qui perturbe la différenciation hématopoïétique
- ❖ les translocations de MLL (KMT2A) avec différents partenaires (5%)
- ❖ amplification intra-chromosomique du chromosome 21 (iAMP21) : dans 2% des cas entraînant un gain d'au moins trois copies de RUNX1
- ❖ LAL hypo diploïde : (3 %) avec moins de 44 chromosomes

- ❖ délétions focales dans une partie du gène du facteur de transcription ERG : dans 3 % des cas [31].
 - **Dans T-ALL** : les altérations les plus importantes conduisant à la transformation des lymphocytes T impliquent l'activation constitutive de la signalisation NOTCH1. NOTCH1 est un récepteur hétéromérique activé par un ligand qui est un régulateur crucial de l'engagement de la lignée cellulaire au cours du développement hématopoïétique, étant absolument nécessaire au développement des lymphocytes T à partir de pro-géniteurs hématopoïétiques [32]. La première observation d'une signalisation NOTCH1 accrue de T-ALL récurrente.
- ❖ la translocation chromosomique t (7 ; 9) (q34;q34.3), qui a placé un allèle N-terminal tronqué de NOTCH1 à côté du locus TCRB (T-cell receptor beta) résultant en une expression aberrante d'une forme constitutivement active de NOTCH1
- ❖ Les T-ALL peuvent héberger d'autres réarrangements chromosomiques qui placent des oncogènes facteurs de transcription tels que TAL1, TAL2, LYL1, LMO1, LMO2, TLX1, TLX3, NKX2.1, NKX2.2, NKX2.5, MYC et MYB sous le contrôle de T- cellule spécifique activateurs dans les locus TCRB ou TCRA-TCRD, conduisant à une forte surexpression de ces oncogènes dans les pro-géniteurs des lymphocytes T .
- ❖ Enfin, les T-ALL portent également des altérations génétiques dans d'importantes voies de transduction du signal, telles que mutations par délétion du suppresseur de tumeur PTEN
- ❖ dans 5 à 10 % des cas ; les réarrangements ABL1 incluant EML1-ABL1, ETV6-ABL1 et le déjà mentionné NUP214-ABL1 dans 8% des cas et un rare réarrangement entraînant l'expression de un oncogène de fusion kinase ETV6-JAK2 constitutivement actif [33].

2.7.. Le traitement général d'ALL :

Il est important de détecter rapidement le cancer et de le traiter le plus tôt possible. Selon le type et le stade du cancer, les traitements peuvent être différents : la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. Cependant, lors de la chimiothérapie, les cellules cancéreuses acquièrent souvent la capacité de contourner les mécanismes d'action des médicaments et résistent aux traitements, à l'origine d'échec thérapeutique. Cette résistance peut être due à différents facteurs comme l'altération du métabolisme ou des paramètres pharmacocinétiques, des défauts de pénétration ou d'accumulation de médicaments dans les cellules tumorales. La plupart des cellules tumorales présentent une forte expression des gènes de résistance de la famille ABC dont les gènes Multi Drug Resistance [24].

Parmi les méthodes de traitement de la leucémie aiguë lymphoblastique :

- Chimiothérapie de la leucémie lymphoïde aiguë (LAL)
- Thérapie ciblée pour la leucémie lymphoïde aiguë (LAL)
- Immunothérapie pour la leucémie lymphoïde aiguë (LAL)
- Chirurgie de la leucémie lymphoïde aiguë (LAL)
- Radiothérapie pour la leucémie lymphoïde aiguë (LLA)
- Greffe de cellules souches pour la leucémie lymphoïde aiguë (ALL) (34)

La chimiothérapie fait appel à des médicaments qui visent à empêcher les cellules cancéreuses de se multiplier ou qui détruisent celles déjà présentes dans l'organisme. Elle tente ainsi d'inhiber la croissance de la maladie et d'obtenir une régression de la tumeur cancéreuse qui peut se traduire par une rémission partielle de quelques mois à plusieurs années. Plus du tiers des personnes atteintes de cancer peuvent maintenant bénéficier d'une rémission complète et d'une guérison éventuelle de leur maladie. [35].

En effet, les premières études ont montré que la LAL pharmaco-résistante peut émerger par l'acquisition d'altérations génétiques secondaires qui favorisent directement la résistance à la chimiothérapie. Dans ce contexte, Dans notre travail, nous mettons en évidence deux mutations importantes d'ALL Résultant d'altérations génétique par des substances oncogènes qui sont (Le gène de fusion BCR-ABL1 (T315I) et le gène (NT5C2) pour une étude détaillée et tentons de rechercher de nouveaux traitements qui peuvent inhiber leurs action défavorable

3. . Qu'est-ce que NT5C2 ! :

NT5C2 est une nucléotidase cytosolique hautement conservée et exprimée de manière ubiquitaire impliquée dans le maintien de la l'homéostasie du pool de nucléotides en favorisant la clairance des excès de nucléotides puriques des cellules [36].

Le gène humain NT5C2 est situé sur le chromosome 10q 24.32 et l'ADNc code pour 561 acides aminés avec un poids moléculaire prévu de 65 kDa (Oka, Matsumoto et al. 1994) NT5C2 existe sous forme d'homotétramère avec des études fonctionnelles récentes et des cristaux structures confirmant qu'il forme un tétramère composé d'un dimère de dimères

Notamment, NT5C2 est exprimé de manière ubiquitaire et hautement conservé, la séquence primaire de la protéine NT5C2 partageant 99 % d'identité avec d'autres protéines NT5C2 de mammifères (vache, chien, rat brun) [37].

3.1.Le rôle physiologique de la 5'-nucléotidase II cytosolique (NT5C2) dans la santé :

- Le maintien d'un pool de nucléotides équilibré est crucial pour l'homéostasie cellulaire et dépend d'une série de voies cataboliques et anaboliques des purines et des pyrimidines.
- Les nucléosides récupérés sont phosphorylés pour être incorporés dans les voies anaboliques par les nucléosides kinases, tandis que les nucléotides en excès sont déphosphorylés par les 5'-nucléotidases intracellulaires [38]. La 5'-nucléotidase II cytosolique (NT5C2, également connue sous le nom de cN-II) appartient à une famille de huit 5'-nucléotidases qui déphosphorylent toutes les 5'-nucléosides monophosphates, mais ont des spécificités de substrat de purine ou de pyrimidine et des localisations subcellulaires différentes.

3.2.L'activité aberrante de NT5C2 dans la maladie humaine :

Un pool de nucléosides équilibré est crucial pour le développement et la fonction de nombreux tissus, et la perturbation de l'homéostasie des nucléosides peut entraîner des maladies. En outre, plusieurs enzymes impliquées dans le métabolisme des nucléosides ont été impliquées dans la résistance aux médicaments contre les analogues de nucléosides utilisés dans le traitement du cancer, [39-40]

Les mutations NT5C2 gain de fonction sont très répandues dans la leucémie à rechute précoce à haut risque, faisant de NT5C2 la cible thérapeutique la plus répandue dans la leucémie aiguë lymphoblastique récidivante. Une importante série d'études a été identifiée ;des mécanismes distincts de régulation de NT5C2 ciblés par les mutations de NT5C2 associées à la leucémie en rechute .et les résultats soutiennent un rôle critique des régulateurs négatifs de l'activation allostérique dans le contrôle de l'activité de NT5C2 pointant vers le site effecteur allostérique comme cible thérapeutique potentielle pour le développement d'inhibiteurs de NT5C2 [41-42]

3.3.. Développement des inhibiteurs de NT5C2 :

Les preuves croissantes sur le rôle de NT5C2 dans le métabolisme des médicaments ont incité la recherche d'inhibiteurs de NT5C2, avec plusieurs tentatives signalées à ce jour.

- Skladanowski, Sala et al. 1989 : Les premiers inhibiteurs de NT5C2 décrits étaient deux analogues modifiés en 5' de l'adénosine et de l'inosine, conçus pour inhiber la libération de phosphate inorganique à partir de l'intermédiaire phosphoenzyme.
Les deux molécules : **5'-désoxy-5'-isobutylthioadénosine (IBTA)** et **5'-désoxy-5'-isobutylthioinosine (IBTI)** ont été caractérisés comme des inhibiteurs non compétitifs de l'IMP mais ont inhibé l'activité enzymatique à des concentrations millimolaires relativement élevées
- Gallier, Lallemand et al. 2011, Meurillon, Marton et al. 2014 : une série d'analogues de substrats non hydrolysables, avec l'identification de quelques composés ribonucléosides phosphonates qui présentent une inhibition compétitive de l'activité NT5C2 dans la gamme micro-molaire élevée à milli-molaire faible Cependant, ces inhibiteurs sont susceptibles d'avoir une faible spécificité et sont trop hydrophiles pour traverser la membrane cellulaire.

En conséquence, ces phosphonates n'ont pas encore été évalués dans des modèles cellulaires et toutes autres études avec eux nécessiterait leur développement dans prodrugs qui peuvent être absorbés dans la cellule.

- [Jordheim, Marton et al. 2013](#) : une autre série d'inhibiteurs de NT5C2 constitués de dérivés d'antraquinone a été identifiée à partir d'un criblage virtuel utilisant la structure cristalline de NT5C2. Ces composés ont montré une inhibition compétitive de NT5C2 *in vitro* et des cellules cancéreuses légèrement sensibilisées aux analogues de nucléosides puriques, mais ils devraient avoir une faible spécificité et, en raison des concentrations très élevées requises pour obtenir l'inhibition, n'ont pas été testés *in vivo* !

Par conséquent, le développement de nouveaux inhibiteurs de NT5C2 efficaces et spécifiques, capables de potentialiser les thérapies par analogues de nucléosides, reste un défi majeur.

La résistance aux médicaments et la rechute de la LAL restent les principales causes d'échec thérapeutique, avec 15 à 20 % des cas présentant une résistance primaire ou une rechute après rémission (40). De plus, les schémas thérapeutiques pour les patients atteints de LAL récidivante ou réfractaire sont encore très inefficaces et ne peuvent guérir que dans 40 % des cas. La LAL-T récidivante a un pronostic particulièrement sombre avec des taux de survie sans événement à 3 ans inférieurs à 15 % [43].

4. Le gène BCR-ABL / chromosome Ph1 :

Le gène de fusion BCR-ABL1 est un oncogène moteur dans la leucémie myéloïde chronique et 30 à 50 % des cas de leucémie aiguë lymphoblastique chez l'adulte, aussi appelé gène de Philadelphie ou chromosome Ph1, est le résultat d'une translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22. La translocation $t(9;22)(q34;q11)$ transpose un segment de l'oncogène ABL situé en position 9q34, à la place d'un segment du gène BCR situé en position 22q11, créant ainsi un gène hybride BCR-ABL (**Figure 06**). Le gène de fusion BCR-ABL code pour une protéine de fusion possédant une activité tyrosine kinase dérégulée. Cela est dû à l'absence de domaines responsables de l'auto-inhibition de la kinase, combinée à la présence de domaines responsables de l'auto-activation. La protéine BCRABL est active de manière constitutive entraînant ainsi l'activation de divers mécanismes qui entrent en jeu dans la multiplication cellulaire.[44-45].

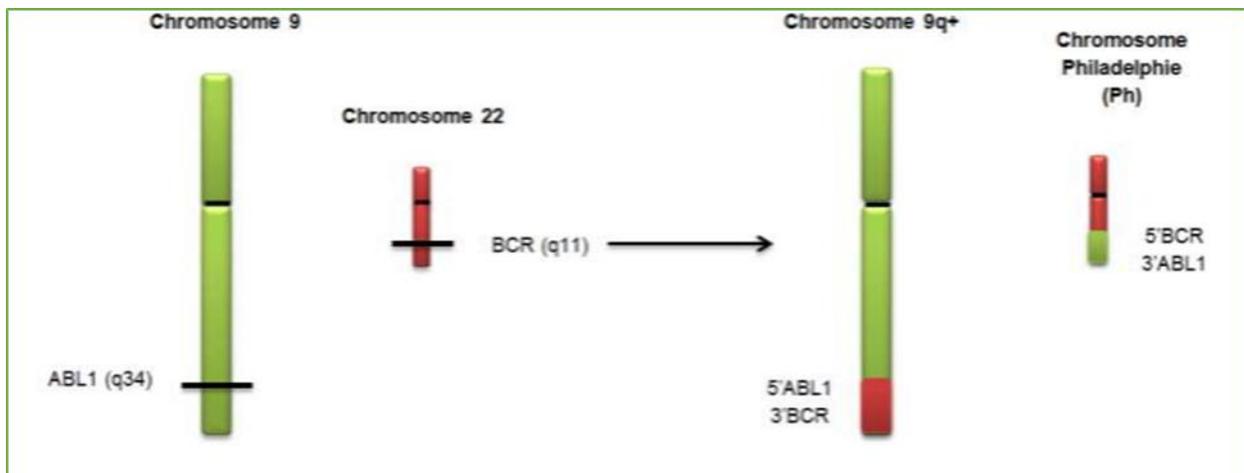


Figure I.4 : translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22.

Le gène de fusion BCR-ABL est l'anomalie chromosomique la plus fréquente dans les LAL d'adulte (30 % des cas) ; le chromosome de Philadelphie est retrouvé dans 3 à 5 % des LAL de l'enfant. L'existence d'un chromosome de Philadelphie (Ph) ou d'un transcrite de fusion BCR-ABL doit être connue dans les huit premiers jours du diagnostic car elle oriente précocement la prise en charge. Celle-ci se fait alors de façon spécifique avec un inhibiteur de tyrosine kinase associé à des chimiothérapies [46].

La mise en évidence du gène de fusion BCR-ABL peut être réalisée par analyse cytogénétique ou par les techniques de biologie moléculaire. Se faire sur un prélèvement sanguin. Cette technique peut être privilégiée dans le cas où l'analyse sur moelle osseuse n'est pas faisable [47].

4.1. Le développement des inhibiteurs de BCR-ABL :

Le seul inhibiteur cliniquement disponible qui a montré son efficacité contre la maladie induite par BCR – ABL1 (T315I) (T315I) : isoformes porteuses de mutations conférant une résistance au traitement par les inhibiteurs de tyrosine kinase existants, notamment la mutation T315I pour laquelle il n'existe aucun traitement efficace.) Est le ponatinib, un inhibiteur de la kinase à large spectre. Lors d'un récent essai clinique de phase III avec le ponatinib, de fréquents effets indésirables vasculaires graves ont été observés, entraînant l'arrêt de l'essai ainsi qu'un retrait temporaire du marché.

De plus, il a été rapporté que des mutations composées dans BCR – ABL1 (T315I) provoquent une résistance au ponatinib. Par conséquent, il existe un besoin important et non satisfait de thérapies sûres et efficaces pour la leucémie induite par BCR-ABL1 (T315I). [48].

PARTIE 2 : Généralités sur les dérivés de phthalimido-1,3-thiazole

1. Introduction :

La chimie des hétérocycles est une branche très importante de la chimie organique. Récemment, la synthèse de molécules hétérocyclique riches en azote est un point très intéressant dans le domaine pharmaceutique et agrochimique. Un large éventail d'activités biologiques est représenté par de nombreux composés qui contiennent des cycles à cinq chaînons dans leur structure. Les propriétés thérapeutiques élevées de ces hétérocycles ont encouragé les chimistes médicaux pour synthétiser un grand nombre de nouveaux agents thérapeutiques.[49]. L'étude de la littérature a souligné que le cycle de phthalimide convient pour interagir avec les différentes cibles biologiques Dans le but d'augmenter le profil multi-cibles des phthalimides, plusieurs approches d'hybridation moléculaire sont développées pour introduire différentes sous-unités pharmacophoriques telles que les hydrazones, les pyrazoles, les thiazoles, les groupements aryles, et des autres [50,51].

Les thiazoles sont une famille de composés organiques comportant un hétérocycle à cinq atomes, dont l'un est un atome d'azote, et un autre est un atome de soufre. Ce sont des dérivés sulfurés des azoles [52].ils ont fait l'objet d'un grand nombre de travaux et, de ce fait, diverses voies de préparation sont décrites dans la littérature. Et plusieurs produits naturels contiennent le motif thiazole. Comme la thiamine (vitamine B1), et les pénicillines qui sont également des produits naturels comportant une entité thiazole [53].

Les noyaux de phthalimide, de 1,3-thiazole et de thiazolidinone sont considérés comme des échafaudages privilégiés et représentent un point de départ attrayant pour concevoir de nouveaux composés bioactifs contre des variétés de maladies telles que l'activité anti-tumorale

Dans ce travail, nous mettrons en évidence les dérivées de **phthalimido-1,3-thiazole**. Ce dernier peut être trouvé comme constituant sous-unité (noyau de base) de plusieurs molécules naturelles et/ou synthétiques biologiquement actives. Cette classe de composés a un large spectre d'activités biologiques, telles que anticancéreuses, antibactériennes, antiparasitaires et l'activité anti-inflammatoires [54-56].

2. Les thiazoles :

Les thiazoles sont une classe importante de composés hétérocycliques, disponibles dans de nombreuses molécules biologiquement actives telles que Sulfathiazol (médicament antimicrobien), Ritonavir (antirétroviral médicament), Abafungin (médicament antifongique) avec le nom commercial Abasol crème et bléomycine et tiazofurine (médicament antinéoplasique). Il a été remarqué continuellement au fil des ans que des activités biologiques intéressantes [57-58] ont été associées aux dérivés du thiazole. Récemment, les applications des thiazoles ont été trouvées dans le développement de médicaments pour le traitement des allergies, hypertension, inflammation, schizophrénie [59].

2.1 L'activité anti-tumorale :

Ramla et al [60] ont synthétisé une variété des dérivés de thiazole et les ont évalués pour activité tumorale. L'effet anti-tumoral du composé a été jugé significatif.

Popsavin et al [61] ont rapporté un ensemble des dérivés de thiazole-4-carboxamide et les criblés pour leur activité anti-tumorale.

Gulsory et al [62] ont présentés une série d'hydrazides d'arylidène à partir de l'acide [6-(4-bromophényl)imidazol-3yl] acétique hydrazide. Les composés synthétisés ont été évalués avec un test de cytotoxicité primaire de dose. Ces composés sont des agents plus efficaces sur les lignées cellulaires du cancer de la prostate.

3 Les phtalimides :

Les phtalimides appartiennent au groupe des imides cycliques et ont comme caractéristique chimique commune deux carbonyles liés au même azote. De tels composés sont obtenus par divers procédés de synthèse organique, en utilisant généralement l'anhydride phtalique comme précurseur [63]. Parce qu'il présente diverses activités biologiques telles que, anti-inflammatoires, anti tumorales, anticonvulsives, antimicrobiennes, entre autres actions. Les caractéristiques structurelles de leurs activités sont : un cycle aryle hydrophobe, un domaine de liaison hydrogène, un groupe donneur d'électrons, un autre site hydrophobe distal [64].

Entrent également dans de nombreuses applications de synthèse de polymères industriels comme anticorrosion [65].

Le 1,3-thiazole est l'un des échafaudages les plus importants de la chimie hétérocyclique et de la conception et de la découverte de médicaments. On le trouve largement dans diverses substances pharmacologiquement actives et dans certains composés naturels. Le thiazole est un élément de base polyvalent pour la génération de leads, et il permet un accès facile à divers dérivés pour une optimisation ultérieure des leads.

Ces dernières années, de nombreux dérivés de thiazole ont été synthétisés et soumis à des tests biologiques variés Activités [66].

3.1. L'activité anti-tumorale :

La recherche sur les phtalimides à action anti tumorale s'est considérablement développée, principalement parce que certains types de cancer présentent une résistance aux médicaments déjà utilisés, ce qui renforce la nécessité de rechercher de nouvelles molécules antimitotiques. Le blocage de la croissance tumorale peut se produire dans un ou plusieurs des six phénotypes de la cellule cancéreuse qui confèrent une capacité proliférative indiscriminée. La perturbation de l'activité des voies de signalisation cellulaire pour la prolifération est l'une des principales voies thérapeutiques utilisées pour freiner la croissance tumorale. De nombreux phtalimides ont été proposés comme agents chimio thérapeutiques prometteurs pour bloquer les voies de signalisation de la croissance cellulaire [67].

Le travail de Marcos Veríssimo de Oliveira Cardoso et al, rapporte la synthèse et l'évaluation des propriétés anti tumorales et immun modulatrices de nouveaux dérivés de phtalimide conçus pour explorer les approches d'hybridation moléculaire entre les séries thalidomide, thiosemicarbazone, thiazolidinone et thiazole. Ce travail a en effet prouvé l'existence d'une efficacité anti-cancer [68].

1,3-thiazole :

Le 1,3-thiazole est présent comme constituant sous-unité (noyau de base) de plusieurs molécules naturelles et/ou synthétiques biologiquement actives [69]. Cette classe de composés d'un large spectre d'activités biologiques, telles que anticancéreuses antibactériennes antiparasitaires et l'activité anti-inflammatoires, Parmi les médicaments qui sont déjà connus par le noyau thiazole ou bis-thiazole [70].

Les épothilones : Ils représentent une nouvelle classe de médicaments contre le cancer avec une excellente activité anti tumorale de type Taxol [71].

La bléomycine : Ce médicament est une chimiothérapie anticancéreuse. Il est utilisé seul ou en association avec d'autres chimiothérapies dans le traitement de différents cancers, notamment les cancers du testicule, de la gorge, de la bouche et les lymphomes [72].

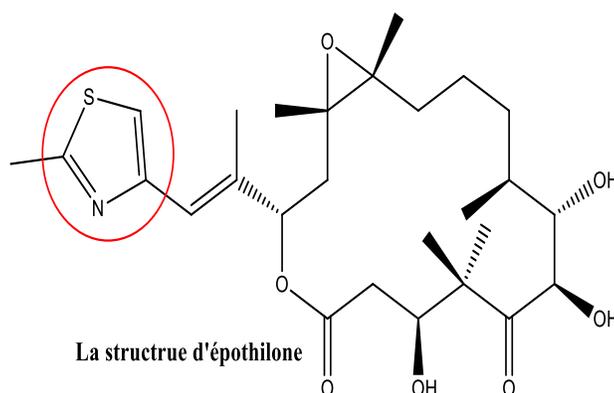
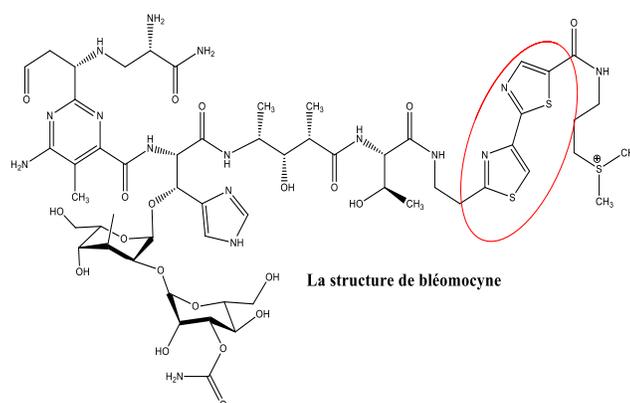


Figure : Les structures chimiques d'épothilones et bléomycine

Références bibliographiques :

- [1]. pour l'Avenir, Défis. "Fondation ARC pour la recherche sur le cancer ed." (2014). .:
- [2]. Coleman, C. N., Prasanna, P. G., Bernhard, E. J., Buchsbaum, J. C., Ahmed, M. M., Capala, J., ... & Dosanjh, M. (2018). Accurate, precision radiation medicine: a meta-strategy for impacting cancer care, global health, and nuclear policy and mitigating radiation injury from necessary medical use, space exploration, and potential terrorism. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 101(2), 250-253.
- [3]. Bortolato, A. (2008). Rational design of new protein kinases inhibitors of pharmaceutical interest (Doctoral dissertation, University of Geneva)..
- [4]. Gabellier, L. (2018). Comprendre les lymphomes. *L'Aide-Soignante*, 32(194), 12-14.
- [5]. Jiménez-Morales, S., Hidalgo-Miranda, A., & Ramírez-Bello, J. (2017). Leucemia linfoblástica aguda infantil: una aproximación genómica. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 74(1), 13-26.
- [6]. Gava, F. (2018). Etude des mécanismes d'agrégation cellulaire tumorale (Doctoral dissertation, Université Paul Sabatier-Toulouse III).
- [7]. *Cell*, Vol. 100, 57–70, January 7, 2000, Copyright .2000 by Cell Press the Hallmarks of Cancer.
- [8]. Hanahan and Weinberg 2000. *The Hallmarks of Cancer* .by Cell Press.
- [9]. Emile, J. F., Leteurtre, E., & Guyétant, S. (2021). *Pathologie générale: Enseignement thématique-Biopathologie tissulaire, cellulaire et moléculaire*. Elsevier Health Sciences.
- [10]. Brown, J. M., & Giaccia, A. J. (1998). The unique physiology of solid tumors: opportunities (and problems) for cancer therapy. *Cancer research*, 58(7), 1408-1416.
- [11]. Gaascht, F. J. A. (2013). Découverte, identification et caractérisation de molécules d'origine naturelle capables de cibler les voies de transduction, de prolifération, d'inflammation et de mort cellulaire dans des cellules cancéreuses (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- [12]. Franczak, C. (2019). Tumeurs solides et circulation sanguine: influence des composants sanguins dans le processus tumoral et optimisation de l'analyse des ADN tumoraux circulants (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

- [13]. Blandin, A., & Le Lay, S. (2020). Exosomes, vésicules extracellulaires et dialogue inter-organes. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 14(3), 250-257.
- [14]. Lemaire, J., Larrue, R., Perrais, M., Cauffiez, C., & Pottier, N. (2020). Aspects fondamentaux du développement tumoral. *Bulletin du Cancer*, 107(11), 1148-1160.
- [15]. DE, T. P. P. L. D. (1992). Réactions de patients à l'extension de la vaccination contre le papillomavirus aux deux sexes. Enquête qualitative (Doctoral dissertation, UNIVERSITÉ DE STRASBOURG).
- [16]. Bizzarri, M., & Cucina, A. (2014). Tumor and the microenvironment: a chance to reframe the paradigm of carcinogenesis?. *BioMed research international*, 2014.
- [17]. Grégory Ségala
- [18]. Boyer, B., Jouanneau, J., Tucker, G., Vallès, A. M., Sastre, X., Moens, G., & Thiéry, J. P. (1990). La métastase cancéreuse.
- [19]. Understanding Leukemia Ray, CML survivor.
- [20]. Faderl, S., O'Brien, S., Pui, C. H., Stock, W., Wetzler, M., Hoelzer, D., & Kantarjian, H. M. (2010). Adult acute lymphoblastic leukemia: concepts and strategies. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 116(5), 1165-1176.
- [21]. Leblanc, T., Baruchel, A., Auclerc, M. F., & Schaison, G. (1994). Leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant. *EMC Pédiatrie/Maladies infectieuses*, 4-080.
- [22]. Pham, H. T. T., Maurer, B., Prchal-Murphy, M., Grausenburger, R., Grundschober, E., Javaheri, T., ... & Moriggl, R. (2018). STAT5B N642H is a driver mutation for T cell neoplasia. *The Journal of clinical investigation*, 128(1), 387-401.
- [23]. ADJAOUD, D., AMER OUALI, O., & AZRAR, S. (2019). Surveillance de fibrinogène chez les patients atteints d'une leucémie aigue lymphoïde traités selon le protocole LINKER au service d'hématologie CHU Tizi Ouzou.
- [24]. Altounian, L. (2014). Identification du partenaire de RUNX1 dans une leucémie aiguë myéloïde avec translocation t (8; 21)(q22; q22) atypique n'impliquant pas le gène RUNX1T1 par utilisation de techniques cytogénétiques et de biologie moléculaire de Q-PCR, 3'RACE PCR et de séquençage (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

- [25]. Arnold, D. E., Maude, S. L., Callahan, C. A., DiNofia, A. M., Grupp, S. A., & Heimall, J. R. (2020). Subcutaneous immunoglobulin replacement following CD19-specific chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell acute lymphoblastic leukemia in pediatric patients. *Pediatric Blood & Cancer*, 67(3), e28092..
- [26]. Mullighan, C. G. (2014). The genomic landscape of acute lymphoblastic leukemia in children and young adults. *Hematology 2014, the American Society of Hematology Education Program Book*, 2014(1), 174-180..
- [27]. Mullighan, C. G., Su, X., Ma, J., Yang, W., Relling, M. V., Carroll, W. L., ... & Downing, J. R. (2007). Genome-Wide Profiling of High-Risk Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL): The ALL Pilot Project for the Therapeutically Applicable Research To Generate Effective Treatments (TARGET) Initiative. *Blood*, 110(11), 229.
- [28]. Pui, C. H., Relling, M. V., & Downing, J. R. (2004). Acute lymphoblastic leukemia. *New England Journal of Medicine*, 350(15), 1535-1548.
- [29]. Spinella, J. F. (2017). Paysage génomique de la leucémie aiguë lymphoblastique de l'enfant.
- [30]. Pastorczak, A., Domka, K., Fidy, K., Poprzeczko, M., & Firczuk, M. (2021). Mechanisms of immune evasion in acute lymphoblastic leukemia. *Cancers*, 13(07), 1536.
- [31]. Morrow, M., Horton, S., Kioussis, D., Brady, H. J., & Williams, O. (2004). TEL-AML1 promotes development of specific hematopoietic lineages consistent with preleukemic activity. *Blood*, 103(10), 3890-3896.
- [32]. Fryer, C. J., White, J. B., & Jones, K. A. (2004). Mastermind recruits CycC: CDK8 to phosphorylate the Notch ICD and coordinate activation with turnover. *Molecular cell*, 16(4), 509-520.
- [33]. Ntziachristos, P., Tsirigos, A., Vlierberghe, P. V., Nedjic, J., Trimarchi, T., Flaherty, M. S., ... & Aifantis, I. (2012). Genetic inactivation of the polycomb repressive complex 2 in T cell acute lymphoblastic leukemia. *Nature medicine*, 18(2), 298-302.
- [34]. Yan, L. E., Zhang, H., Wada, M., Fang, L., Feng, J., Zhang, W., ... & Tse, W. (2020). Targeting two antigens associated with B-ALL with CD19-CD123 compound CAR T cell therapy. *Stem Cell Reviews and Reports*, 16(2), 385-396.

- [35]. Seklab, S., & Rekab, A. (2020). L'Effet reprotoxique de la chimiothérapie et le rôle protecteur de la roquette (*Eruca Sativa*).
- [36]. Allegrini, S., Pesi, R., Tozzi, M. G., Fiol, J. C., Johnson, B. R., & Eriksson, S. (1997). Bovine cytosolic IMP/GMP-specific 5'-nucleotidase: cloning and expression of active enzyme in *Escherichia coli*. *Biochemical Journal*, 328(2), 483-487.
- [35]. Gazzola, C., Ferraro, P., Moras, M., Reichard, P., & Bianchi, V. (2001). Cytosolic high Km 5'-nucleotidase and 5'(3')-deoxyribonucleotidase in substrate cycles involved in nucleotide metabolism. *Journal of Biological Chemistry*, 276(9), 6185-6190.
- [38]. Dieck, C. L., Tzoneva, G., Forouhar, F., Carpenter, Z., Ambesi-Impiombato, A., Sánchez-Martín, M., ... & Ferrando, A. A. (2018). Structure and mechanisms of NT5C2 mutations driving thiopurine resistance in relapsed lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell*, 34(1), 136-147.
- [39]. Tzoneva, G. V. (2016). The role of cytosolic 5'-nucleotidase II (NT5C2) in drug resistance and relapse of acute lymphoblastic leukemia (Doctoral dissertation, Columbia University).
- [40]. Wolf, S. (2020). Vorkommen und Bedeutung von Mutationen im NT5C2-Gen in der rezidivierten T-ALL des Erwachsenen (Doctoral dissertation).
- [41]. Moriyama, T., Liu, S., Li, J., Meyer, J., Zhao, X., Yang, W., ... & Yang, J. J. (2019). Mechanisms of NT5C2-Mediated Thiopurine Resistance in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Molecular Mechanisms of NT5C2-Mediated Thiopurine Resistance. Molecular cancer therapeutics*, 18(10), 1887-1895.
- [42]. Bhojwani, D., & Pui, C. H. (2013). Relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia. *The lancet oncology*, 14(6), e205-e217.
- [43]. Berrazouane, S. (2021). Étude du rôle et des mécanismes régulés par les intégrines bêta1 dans la chimiorésistance de la leucémie lymphoblastique aiguë de type T.
- [44]. Rea D, Cayuela JM. Leucémie myéloïde chronique. *Encycl Méd Chir Hématologie* 2014;13-011-B-10
- [45]. Faderl, S., Talpaz, M., Estrov, Z., O'Brien, S., Kurzrock, R., & Kantarjian, H. M. (1999). The biology of chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, 341(3), 164-172.
- [46]. O'Brien, S., Berman, E., & Devetten, M. P. (2008). Chronic myelogenous leukemia. *NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology*. V 2.2009.

- [47]. Iacobucci, I., Iraci, N., Messina, M., Lonetti, A., Chiaretti, S., Valli, E., ... & Martinelli, G. (2012). IKAROS deletions dictate a unique gene expression signature in patients with adult B-cell acute lymphoblastic leukemia. *PloS one*, 7(7), e40934.
- [48]. Pemovska, T., Johnson, E., Kontro, M., Repasky, G. A., Chen, J., Wells, P., ... & Wennerberg, K. (2015). Axitinib effectively inhibits BCR-ABL1 (T315I) with a distinct binding conformation. *Nature*, 519(7541), 102-105.
- [49]. BOUNEMALA, S., & LAHLOU, C. (2020). Étude bibliographique sur les dérivés de thiazoles (Doctoral dissertation, University of Jijel).
- [50]. Almeida, M. L., Oliveira, M. C., Pitta, I. R., & Pitta, M. G. (2020). Advances in synthesis and medicinal applications of compounds derived from phthalimide. *Current Organic Synthesis*, 17(4), 252-270.
- [51]. Jamel, N. M., Al-Hammed, K. A., & j Ahmed, B. (2019). Methods of Synthesis Phthalimide Derivatives and Biological Activity-Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(9), 3348-3354.
- [52]. MAZRI, R. (2015). Nouvelle approche des relations structures-activités dans des molécules antibiotiques (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider-Biskra).
- [53]. El Kazzouli, S., Berteina-Raboin, S., Mouaddib, A., & Guillaumet, G. (2004). NOUVELLE SYNTHÈSE DE THIAZOLES SUR RESINE CLIVABLE PAR TRANSESTERIFICATION. *Moroccan Journal of Heterocyclic Chemistry*, 3(1)..
- [54]. Borcea, A. M., Ionuț, I., Crișan, O., & Oniga, O. (2021). An overview of the synthesis and antimicrobial, antiprotozoal, and antitumor activity of thiazole and bithiazole derivatives. *Molecules*, 26(3), 624.
- [55]. Das, D., Sikdar, P., & Bairagi, M. (2016). Recent developments of 2-aminothiazoles in medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 109, 89-98.
- [56]. Nural, Y., Gemili, M., Ulger, M., Sari, H., De Coen, L. M., & Sahin, E. (2018). Synthesis, antimicrobial activity and acid dissociation constants of methyl 5, 5-diphenyl-1-(thiazol-2-yl) pyrrolidine-2-carboxylate derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 28(5), 942-946

- [57]. BOUNEMALA, S., & LAHLOU, C. (2020). Étude bibliographique sur les dérivés de thiazoles (Doctoral dissertation, University of Jijel).
- [58]. Júnior, J., Holanda, V. N., Gambôa, D. S. R., Monte, T. V. S., Araújo, H. D. A., Araújo, J. A. A. N. J. V. F. S., ... & Lima, V. L. M. (2019). Therapeutic potential of phthalimide derivatives: A Review. *Am. J. Biomed. Sci*, 3, 378-384.
- [59]. Siddiqui, N., Arshad, M. F., Ahsan, W., & Alam, M. S. (2009). Thiazoles: a valuable insight into the recent advances and biological activities. *Int. J. Pharm. Sci. Drug Res*, 1(3), 136-143.
- [60]. Ramla, M. M., Omar, M. A., El-Khamry, A. M. M., & El-Diwani, H. I. (2006). Synthesis and antitumor activity of 1-substituted-2-methyl-5-nitrobenzimidazoles. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 14(21), 7324-7332.
- [61]. Popsavin, M., Spaić, S., Svirčev, M., Kojić, V., Bogdanović, G., & Popsavin, V. (2007). Synthesis and antitumour activity of new tiazofurin analogues bearing a 2, 3-anhydro functionality in the furanose ring. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 17(15), 4123-4127.
- [62]. Gürsoy, E., & Güzeldemirci, N. U. (2007). Synthesis and primary cytotoxicity evaluation of new imidazo [2, 1-b] thiazole derivatives. *European journal of medicinal chemistry*, 42(3), 320-326.
- [63]. G SilvaJunior Jose. Therapeutic Potential of Phthalimide Derivatives: A Review. *Am J Biomed Sci & Res*. 2019 - 3(4). AJBSR. MS.ID.000699
- [64]. Alaa, A. M. (2007). Novel and versatile methodology for synthesis of cyclic imides and evaluation of their cytotoxic, DNA binding, apoptotic inducing activities and molecular modeling study. *European journal of medicinal chemistry*, 42(5), 614-626.
- [65]. Jamel, N. M., Al-Hammed, K. A., & j Ahmed, B. (2019). Methods of Synthesis Phthalimide Derivatives and Biological Activity-Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(9), 3348-3354.
- [66]. Ayati, A., Emami, S., Asadipour, A., Shafiee, A., & Foroumadi, A. (2015). Recent applications of 1, 3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug discovery. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 699-718.
- [67]. SILVA JÚNIOR, J. G. D. (2015). Estudo do potencial antitumoral de derivados químicos de ftalimidias glicoconjugadas (Master's thesis, Universidade Federal de Pernambuco).

- [68]. is supported by FACEPE, P. A. T. M. G. (2016). microplate reader Synergy 2 (Biotek®) from the Center of Flow Cytometry and Fluorimetry at the Biochemistry and Immunology Department (UFMG). Fluorescence was measured at 25 C, for five minutes at 12 s intervals, using. Centro de Ciências da Saúde Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 184, 156.
- [69]. Ali, S. H., & Sayed, A. R. (2021). Review of the synthesis and biological activity of thiazoles. *Synthetic Communications*, 51(5), 670-700.
- [70]. G. Turan-Zitouni, M.D. Altıntop, A. Özdemir, Z.A. Kaplanlı, G.A. Çiftçi, H.E. Temel, Synthesis and evaluation of bis-thiazole derivatives as new anticancer
- [71]. Balog, A., Meng, D., Kamenecka, T., Bertinato, P., Su, D. S., Sorensen, E. J., & Danishefsky, S. J. (1996). Total Synthesis of (-)-Epothilone A. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 35(23-24), 2801-2803.
- [72]. Özyurt, H., Söğüt, S., Yıldırım, Z., Kart, L., Iraz, M., Armutçu, F., ... & Akyol, Ö. (2004). Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on bleomycine-induced lung fibrosis in rats. *Clinica Chimica Acta*, 339(1-2), 65-75.

CHAPITRE.II. Méthodes de chimie computationnelle utilisées

1. Introduction

La chimie computationnelle est un domaine de la chimie qui développe des outils et les méthodes informatiques basés sur des approches de la chimie théorique, dont l'objectif est le développement des modèles prédictifs utilisés pour comprendre les structures, les propriétés et les interactions moléculaires et modélisation de la structure et prédiction des réactivités chimiques des molécules [1]. Elle aide également les chimistes de faire des prédictions avant d'exécuter les expériences réelles afin qu'ils puissent être mieux préparés pour le bon déroulement de ces expériences. A l'aide d'un logiciel de chimie computationnelle, vous pouvez notamment effectuer :

- déterminations de structure électronique,
- optimisations de la géométrie.
- calculs de surfaces d'énergie potentielle (PES),
- calculs des constantes de vitesse pour les réactions chimiques (cinétique)
- calculs thermodynamiques - chaleur des réactions, énergie d'activation, etc.
- calcul de nombreuses propriétés physicochimiques...

La modélisation moléculaire utilise des algorithmes très précis pour minimiser l'énergie totale en fonction des paramètres structuraux et pour trouver la structure la plus stable des composés étudiés [2-4]. Ces méthodes peuvent être relativement simples et utilisables rapidement ou au contraire, elles peuvent être extrêmement complexes et demandent de centaines d'heures de calcul sur un ordinateur même sur un superordinateur [5].

La modélisation moléculaire relie entre l'expérience et la théorie dont les objectifs sont :

La comparaison entre les prédictions théoriques du modèle et les résultats expérimentaux du système, Faire une interprétation des observations expérimentales

Corrélation entre les détails microscopiques au niveau atomique, moléculaire et caractéristiques macroscopiques.

Les méthodes du calcul les plus importantes dans la modélisation moléculaire sont :

Les méthodes quantiques (ab-initio, DFT), les méthodes semi-empirique, les méthodes empiriques (mécanique moléculaire) [6,7].

2. Les méthodes de calcul semi-empiriques :

Les méthodes semi-empiriques de chimie quantique sont des outils permettant aux chimistes d'étudier la structure, la stabilité et la spectroscopie des molécules ainsi que les réactions chimiques. Elles sont basées sur la méthode Hartree-Fock couramment utilisée dans les orbitales moléculaires ab-initio théorie des (MO). Les différents modèles semi-empiriques simplifient la procédure Hartree-Fock en introduisant les approximations distinctes de l'hamiltonien, en négligeant de nombreuses intégrales pour accélérer les calculs en plusieurs ordres de grandeur. Les intégrales restantes sont modélisées à l'aide de fonctions empiriques avec des paramètres ajustables qui sont calibrés par rapport à un grand nombre de paramètres expérimentaux pour rendre les méthodes semi-empiriques aussi fiables et générales que possible. Celles-ci caractéristiques rendent les modèles semi-empiriques bien adaptés à de nombreux domaines de recherche en chimie, Cependant, les méthodes semi-empiriques sont $\sim 1000 \times$ plus rapides que les approches DFT standard [8-13].

Les traitements semi-empiriques de chimie quantique sont définis par les spécifications suivantes :

- ZDO (Zero Differential Overlap)
- CNDO (Complete Neglect of Differential Overlap)
- INDO (Intermediate Neglect of Differential Overlap)

INDO et CNDO s'exécutent à la même vitesse. La méthode INDO qui tient compte de quelques intégrales négligées dans CNDO donnera des résultats plus précis en particulier dans la prédiction des propriétés spectrales.

La méthode CNDO ne considérait que les intégrales biélectroniques mono-centriques comme égaux. Cette contrainte est supprimée dans INDO

- NDDO (Neglect of Diatomic Differential Overlap). Est le meilleur de ces approximations puisqu'il retient les multi-pôles supérieurs de distribution de charge.

- Dans les interactions à deux centres (contrairement à CNDO et INDO qui tronquent après le monopole) .Il existe d'autres méthodes qui diffèrent et varient selon la rapidité du calcul...
- MDDO : une méthode modifiée connue sous l'abréviation de MNDO (NDDO modifié) est assez populaire pour les molécules organiques. [13-18].

3. Les méthodes de calcul empiriques :

3.1. Mécanique moléculaire :

La mécanique moléculaire (MM) ou les méthodes empiriques de champ de force (empirical force field methods (EFF)) utilisent le type classique de modèles pour prédire l'énergie d'une molécule en fonction de sa conformation. Cela permet des prédictions de :

- Géométries d'équilibre et les états de transition
- Énergies relatives entre les conformères ou entre différents molécules.

La mécanique moléculaire peut être utilisée pour fournir l'énergie potentielle pour les calculs de dynamique moléculaire sur les grosses molécules. Cependant, ils ne sont pas appropriés pour les réactions de rupture de liaison. [19].L'énergie de la molécule s'écrit sous la forme d'une somme des contributions rendant compte des interactions intra et intermoléculaire et entre les atomes liés (torsion, étirement, flexion...) ou non liés (électrostatiques, van der Waals) L'ensemble de ces termes destinés à décrire chaque type d'atome rencontré constitue un champ de forces qui comporte généralement cinq contributions principales [20] :

$$E_{\text{stériq}} = E_{\text{stretch}} + E_{\text{bending}} + E_{\text{torsion}} + E_{\text{van der Waals}} + E_{\text{électro}}$$

3.1.1. Champ de force en mécanique moléculaire :

Dans un calcul de champ de force, une molécule en trois dimensions est construite en utilisant soit les coordonnées cartésiennes x, y et z, soit via une matrice de coordonnées interne composée de : élongation des liaisons, variation des angles de valence, des dièdres (rotation autour d'une liaison) pour spécifier les positions uniques des atomes

Ensuite, la structure initiale est évaluée pour déterminer dans quelle mesure chaque degré de liberté (liaisons, angles, etc.) s'écarte de l'idéal (la valeur d'énergie zéro) pour l'élément particulier et son hybridation. Un processus de minimisation de l'énergie s'ensuit dans lequel l'énergie associée avec les distorsions de l'idéal est minimisée car les positions atomiques individuelles ou degrés de liberté sont ajustés. [21].

*Différents champs de force utilisent le même type de termes énergétiques mais de manières différentes. Les champs de forces en MM peuvent être regroupés en trois classes principales :

- Champs de force contenant uniquement les termes harmoniques.
- Champs de force utilisant les termes d'ordre supérieur (cubique, quadratique,...).
- Champ de force suggéré par Allinger et col. ne considérant pas que les termes de la mécanique moléculaire classique mais aussi les effets chimiques comme l'électronégativité [22].

Par exemple : parmi les nombreux des champs de force :

MM2/MM3/MM4 :

MM2 est le premier champ de force développé par Allinger et col. Il permet de traiter que les molécules simples (alcane, alcène, alcyne non conjugués, amines...), mais ses versions améliorées en MM3 et MM4 lui permettent de traiter des molécules organiques les plus complexes.

3.2. La dynamique moléculaire :

La dynamique moléculaire est une technique de simulation informatique de systèmes complexes modélisés au niveau atomique. Les équations du mouvement sont résolues numériquement pour suivre l'évolution temporelle du système permettant la dérivation des propriétés cinétiques et thermodynamiques d'intérêt au moyen d'expériences informatiques. Macromolécules biologiquement importantes et leurs environnements sont systématiquement étudiés à l'aide de simulations de dynamique moléculaire [22].

L'objectif de la dynamique moléculaire est de simuler les changements réels d'une molécule en fonction du temps après qu'un apport d'énergie (application de chaleur à une température

Plus élevée) est ajouté à une molécule à l'équilibre. Pour rendre la simulation réaliste, la structure est placée dans un "bain" de milliers de molécules d'eau. Comme décrit ci-dessous, si les énergies des atomes d'une grande molécule sont connues, les forces agissant sur ces atomes peuvent être déduites. À partir de la deuxième loi de Newton ($F = ma$)

La vitesse ou le changement de position d'un atome dans la structure avec le temps peut être déterminé. Si la simulation dynamique peut être exécutée pendant une période de temps suffisamment longue, elle donne cependant des informations très importantes, car les changements conformationnels des protéines sont souvent associés à la liaison d'une molécule biologique à un partenaire de liaison. Les expériences in silico offrent des indices importants et un soutien aux résultats obtenus en utilisant d'autres méthodes d'étude.

[23-24]

3.2.1. Calcul de la Dynamique Moléculaire :

Le calcul de la dynamique moléculaire se compose de quatre phases distinctes :

- **Initialisation :**

La dynamique moléculaire requiert un jeu de coordonnées et vitesses initiales. La géométrie de départ utilisée provient d'une structure établie expérimentalement lorsque c'est possible, sinon elle est générée à partir du champ de force utilisé.

- **Thermalisation :**

Il s'agit de chauffer le système pour l'amener à la température souhaitée. On utilise comme structure initiale la structure minimisée.

- **Equilibration :**

C'est une phase importante au cours de laquelle on stabilise la température du système, il y a alors un échange important entre l'énergie potentielle et l'énergie cinétique. C'est une phase où on contrôle régulièrement la température que l'on ramène dans la fenêtre souhaitée. La température de déviation se fait suivant un processus de relaxation où la température est recalculée après chaque étape et ramenée à la température de référence [5].

4. APPLICATION AUX ETUDES STRUCTURE-ACTIVITE

4.1. Docking moléculaire :

Le Docking moléculaire (ou l'amarrage moléculaire) est l'une des méthodes les plus fréquemment utilisées en SBDD (Structure-Based Drug Design) vise à prédire (in silico) la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules (ligand-protéine) ou (protéine-protéine) à une époque où les méthodes expérimentales ont chacune leurs limitations et restent difficiles et coûteuses à mettre en place (in vitro). Le Docking est globalement utilisé pour générer des modèles permettant de prédire le mode d'interaction entre deux molécules à partir de leurs coordonnées atomiques et les structures tridimensionnel (3D) et de suggérer les modes de liaison responsables de l'inhibition de la protéine réaliser avec précision des études d'amarrage on a besoin de la structure modélisée par rayons X, RMN à haute résolution avec un site de liaison connu/prédit dans la biomolécule. A ce jour, 148 827 protéines sont disponibles dans la base de données (PDB) Protein Data Bank » [25].

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique. Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme Docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand » [26-27].

4.1.1. Le Principe de docking :

Le Docking moléculaire peut se rapporter à un problème d'optimisation selon une valeur numérique qui rendrait compte de la conformation plus ou moins favorable de deux entités (l'énergie libre totale du système protéine-ligand). Cette valeur numérique sera appelée score de docking (ou simplement score) par la suite. Sa définition est essentielle à tout programme de docking moléculaire car elle détermine le résultat de la prédiction.

En fait, il existe différentes manières d'obtenir ce score en fonction de la qualité du docking moléculaire que l'on souhaite à réaliser [28].

4.1.2. Les types de Docking :

Le cas de docking rigide : consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéine-ligand en considérant que chacune des deux molécules étant une entité rigide tout en conservant une géométrie interne fixe

Le Docking flexible : dans ce cas : il est tout à fait concevable que les structures de la protéine et du ligand soient modifiées durant le processus de Docking moléculaire afin d'optimiser au mieux l'interaction entre les deux entités

Docking semi-flexible : où les partenaires d'interaction sont partiellement déformables. En général, le récepteur est traité comme étant rigide et le ligand comme étant totalement flexible, se sont imposés, car elles permettent d'obtenir des résultats plus précis [29].

4.1.3. Les algorithmes de Docking :

Un algorithme est une méthode utilisée pour résoudre un problème particulier qui est sûr de trouver toujours une réponse en un temps d'exécution fini .Les algorithmes peuvent être sous-divisés en algorithmes de simulation de **la mécanique moléculaire** et ceux de **la dynamique moléculaire** de forme systématique et aléatoire [30]. Il existe deux composants de base qui distinguent la variété des logiciels d'amarrage disponibles parmi lesquels choisir - l'un est l'algorithme d'échantillonnage et l'autre est la fonction de score :

- **Les Algorithmes d'échantillonnage (Sampling) :**

Divers algorithmes ont été développés à cet égard et peuvent être classés selon le nombre de degrés de liberté qu'ils ignorent :

.a. L'algorithme MA (Matching algorithm) : qui a traité les molécules comme deux corps rigides, réduisant ainsi le degré de liberté à seulement six (trois en translation et trois en rotation), [31]. Parmi le programme utilisant cet algorithme LibDock [32], LIDAEUS [33]

b. L'algorithme de construction incrémentale (IC) : où le ligand est fragmenté à partir des liaisons rotatives en divers segments, on considère généralement les segments possédant un nombre maximum des interactions et minimum des conformations avec le récepteur [34]. IC a été utilisé dans des programmes comme : DOCK 4.0 [35], FlexX [34], etc.

.c. L'algorithme de Monte Carlo (MC) : Dans cette approche, un ligand est modifié progressivement en utilisant la rotation de liaison et la translation ou/ la rotation de l'ensemble du ligand. Plusieurs paramètres peuvent également être modifiés à la fois pour obtenir une conformation particulière. Cette conformation est ensuite évaluée au site de liaison sur la base d'un calcul d'énergie utilisant la mécanique moléculaire, puis rejetée ou acceptée pour l'itération suivante en fonction de la constante de probabilité de Boltzmann. L'acceptation ou le rejet de la conformation est fonction du changement d'énergie par rapport à la température T[36].

Ce critère d'acceptation ou de rejet rend cette méthode remarquablement différente des autres. Alors que l'autre algorithme favorise la diminution de l'énergie, mais dans la méthode MC, des augmentations sont également possibles avec une augmentation de T. L'approche MC a été utilisée dans des programmes tels que Dock Vision 1.0.3 [36], FDS [37].

d. L'Algorithme génétique (AG) : assez similaire à la méthode MC et est essentiellement utilisé pour trouver les minima globaux. Celles-ci sont très inspirées de la théorie de l'évolution de Darwin. AG maintient une population de ligands avec une forme physique associée déterminée par la fonction de score. [38]. AG a été incorporée dans des programmes comme Auto dock 4.0 [39], DAR-WIN [40]. AG a une limitation similaire à celle de MC méthode dans laquelle l'incertitude de convergence est un inconvénient majeur.

e La méthode hiérarchique : Dans cette approche, les conformations à basse énergie du ligand sont pré-calculées et alignées. Les populations des conformations de ligand pré-générées sont fusionnées dans une hiérarchie de sorte que des conformations similaires sont positionnées adjacentes les unes aux autres dans la hiérarchie. Le logiciel GLIDE [41-42], utilise la méthode hiérarchique

- **. La notion de fonction de score :**

De manière générale, les fonctions de score utilisées dans le docking donnent une estimation de l'affinité de liaison entre un ligand (L) et son récepteur (R). L'affinité peut être mesurée expérimentalement en déterminant la constante d'association à l'équilibre (K_{eq}) qui représente le rapport des concentrations entre le complexe récepteur-ligand (RL) et les formes libres de R et L lorsque la réaction a atteint l'équilibre. Par ailleurs, la constante K_{eq} est directement reliée à la variation d'énergie libre de Gibbs (ΔG) qui peut aussi être décrite par les variations des contributions enthalpique (ΔH) et entropique (ΔS)

$$\Delta G = -RT \ln K_{eq} = \Delta H - T \Delta S$$

R : est la constante universelle des gaz parfaits / T : la température.

Concrètement les fonctions de score, sont des méthodes mathématiques et des fonctions discriminant les poses de Docking correctes de celles incorrectes. Ce score permettra non seulement 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 [43].

4.2. La relation quantitative structure /activité (QSAR) :

Les relations structure-activité (SAR) sont les pratiques traditionnelles de la chimie médicinale qui tentent de modifier l'activité des composés chimiques bioactifs en modifiant leur structure chimique. L'hypothèse de base de la SAR est que les molécules similaires ont des activités similaires. Pratiquement le paradoxe fait référence au fait que ce n'est toutes les molécules similaires ont des activités similaires, puisque la similarité est un terme subjectif, et qu'il existe une grande diversité dans le type et l'étendue des similarités [44].

Le problème sous-jacent est donc de savoir comment définir une petite différence au niveau moléculaire, puisque chaque type d'activité (La capacité de réaction, la capacité de biotransformation, la solubilité, l'activité cible...) peut dépendre de cette différence. Des relations mathématiques entre une structure chimique surtout aux propriétés physico-chimiques et son activité biologique ont été établies pour uniformiser la signification du terme « similarité », elles sont connues sous le nom de relation quantitative structure

Activité (QSAR) se rapporte à la construction de modèles prédictifs d'activités biologiques, en fonction de l'information de structure moléculaire d'une série de composés. Cette information dépend des propriétés moléculaires aussi bien électroniques que géométriques, appelées descripteurs suivant un modèle mathématique.

$$[\text{Activité biologique}] = f[\text{Descripteurs}]$$

L'activité biologique est normalement exprimée par $\log [1/C]$, où C : est généralement la concentration minimum requise pour causer une réponse biologique qui définit l'utilisation de ce modèle pour corréler l'information moléculaire avec d'autres propriétés physico-chimiques, qui a donc été appelées relations quantitatives structure-propriété (QSPR) [45].

4.2.1. . Les descripteurs :

Sont une quantification des diverses propriétés moléculaires d'un composé chimique. L'information codée d'un descripteur moléculaire dépend du type de représentation moléculaire employée et de l'algorithme défini pour son calcul. Il existe :

a. des descripteurs moléculaires simples :

dérivés du nombre d'atome-type ou de fragments structuraux de la molécule,

b. Les descripteurs topologiques (2D)

Les descripteurs 2D sont des propriétés numériques qui peuvent être calculées par une représentation planaire (2D) d'une molécule. Ils sont basés sur les éléments présents, les charges partielles, la nature des liaisons, etc. mais n'exploitent pas les coordonnées atomiques spatiales. On peut calculer ainsi :

- les propriétés physiques : polarisabilité, charge totale, réfractivité moléculaire, masse, densité, coefficient de partage (eau/octanol) ($\log P$) ...
- des approximations d'aires de surfaces : surface de Van der Waals, surface accessible au solvant de chaque atome en relation éventuellement avec une autre propriété atomique comme la réfractivité ou la contribution au $\log P$;
- des descripteurs topologiques : matrices de distance et de connectivité

- les dénombrements de fonctions pharmacophoriques : donneurs, accepteurs de liaison hydrogène, polaire (donneur et accepteur), positif, négatif, hydrophobe et autres [46].

c. Les descripteurs géométriques (3D/4D)

Les descripteurs géométriques concernent l'arrangement en 3D des atomes. Les descripteurs conformationnels (4D) représentent l'arrangement spatial thermodynamique stable des atomes dans une molécule. Les descripteurs géométriques sont utilisés pour prédire l'affinité de liaison et assigner la similarité moléculaire ainsi que pour prédire les propriétés pharmacodynamiques, pharmacocinétiques et toxicologiques particulières. [47].

4.2.2. Méthodes d'analyse des données :

Pour élaborer un modèle QSAR il faut suivre une méthode d'analyse des données. Il existe plusieurs méthodes pour élaborer et analyser les données statistiques d'un modèle, on peut obtenir ces méthodes dans des logiciels tels que, Excel, OriginMicrocal ; SPSS [48].

Parmi ces techniques statistiques : la régression linéaire, non linéaire, ACP, PLS, et les réseaux de neurones artificiels (ANN) sont utilisées pour mettre en place des modèles pour la prédiction des activités biologiques. Dans les sections suivantes nous avons mis en évidence, la régression multilinéaire (MLR) car c'est la méthode la plus simple [47].

4.2.2.1. La Régression linéaire multiple :

Un modèle de régression linéaire qui contient plus qu'une variable prédictive est appelé un modèle de régression multiple, notée par RLM, elle est définie par la dépendance linéaire d'une variable dépendante Y et plusieurs variables indépendantes X_p par une équation mathématique. Elle représente la déviation entre ce que le modèle prédit et la réalité

$$y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \dots + \beta_px_p + \varepsilon$$

Où :

– $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_p$ sont appelés les paramètres ou les coefficients de régression du modèle que l'on veut estimer à partir des données.

– ε est l'erreur du modèle (bruit). [48].

4.2.2.2. . Notation matricielle

Les observations y_1, y_2, \dots, y_n enregistrées pour chacun des n niveaux peuvent être exprimées sous la forme d'équation comme suit ($y = \beta X$) n , Ce système de n équations peut être représenté en notation matricielle comme suit :

$$y = \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix} \quad X = \begin{bmatrix} 1 & x_{11} & x_{12} & \dots & x_{1p} \\ 1 & x_{21} & x_{22} & \dots & x_{2p} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \dots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \dots & \vdots \\ 1 & x_{n1} & x_{n2} & \dots & x_{np} \end{bmatrix} \quad \beta = \begin{bmatrix} \beta_0 \\ \beta_1 \\ \vdots \\ \beta_n \end{bmatrix} \quad \varepsilon = \begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \vdots \\ \varepsilon_n \end{bmatrix}$$

Avec :

- X est la matrice de taille $(n, p + 1)$ contenant l'ensemble des variables explicatives observées avec la première colonne formée par la valeur 1 permettant d'intégrer la constante du modèle.
- Y est la matrice colonne de taille $(n, 1)$ contenant l'ensemble des variables à expliquées observées.
- ε représente la vectrice colonne de taille $(n, 1)$ contenant tous les résidus.
- β représente la vectrice colonne de taille $(p + 1, 1)$ contenant les coefficients de régression. [49].

4.2.2.3. Confiance accordée aux résultats :

- **Test statistique F (test Fischer) :** Le test (F) est utilisé pour justifier la liaison globale entre Y et n X . Il existe une relation significative entre la variable dépendante (Y) et les variables expliquées X_1, X_2, \dots, X_n [50]. On peut définir quelques paramètres utilisés dans la régression multilinéaire.

Somme des carrés totaux : $TSS = \sum (Y_{obs} - \bar{Y})^2$

Somme des carrés expliqués : $ESS = \sum (Y_{cal} - \bar{Y})^2$

Somme des carrés résiduels : $RSS = \sum (Y_{obs} - Y_{cal})^2$

$$TSS = ESS + RSS \quad \text{et} \quad F = \frac{ESS}{P} \frac{n-p-1}{RSS}$$

Le ESS associé avec p degrés de liberté et le RSS associé n-p-1 degrés de liberté.

4.2.2.4... Validation du modèle QSAR :

Quel que soit le but ultime du modèle QSAR, il doit être obligatoirement validé avant d'être interprété ou utilisé à des fins prédictives

- **Validation croisée :**

La validation croisée LOO (leave-one-out) consiste à retirer à chaque fois molécule de la série d'apprentissage et élaborer le modèle avec les molécules restantes, ensuite faire la prédiction de l'activité de la molécule retirée. Ce procédé est répété pour retirer et prédire toutes les molécules de la série d'apprentissage. Cette méthode est quantifiée par R^2_{cv} (LOO). [51].

Cette méthode basée, sur le calcul de quelques paramètres statistiques tels que : la somme des carrés résiduels RSS (PRESS), Somme des carrés totaux TSS, qualité d'ajustement R^2_{adj} , coefficient de corrélation de validation croisée R^2_{CV} , la validation standard des erreurs de prédiction (SPRESS) [52].

4.3. Etude des propriétés ADME d'une molécule désignée comme un médicament :

L'ADME vise à décrire le comportement d'un médicament dans le corps humain. Il peut améliorer les propriétés d'un composé Lead, prédire de bons composés d'affinité de liaison et sélectionner des candidats hautement développables avec une bonne biodisponibilité et sécurité [53]. Le terme ADME faisant référence à l'absorption, distribution, métabolisme et excrétion ou l'élimination

Les propriétés physicochimiques des médicaments comprennent les aspects d'ionisation, de stabilité, de lipophilie, de solubilité, de liaison hydrogène, de taille moléculaire, etc. La compréhension et l'optimisation des propriétés physicochimiques des composés sont fondamentales pour le développement de formulations de médicaments [53].

Les mauvaises propriétés de l'ADME sont la raison la plus importante de l'échec des médicaments dans le développement clinique. [54].

L'étape d'absorption est directement liée au mode d'administration choisi pour que la molécule atteigne sa cible via la circulation générale. Il est aisé de comprendre que l'étape d'absorption peut être directe et complète en cas d'administration intraveineuse, ou plus longue voire incomplète (notion de biodisponibilité) notamment en cas d'administration orale où le médicament doit d'abord franchir la lumière intestinale, le système porte, puis le foie avant d'atteindre la circulation générale.[55].

L'absorption intestinale humaine (HIA) est un obstacle important dans la formulation de nouvelles substances médicamenteuses. Des modèles *in silico* pour prédire le pourcentage de HIA basés sur des descripteurs moléculaires calculés sont très nécessaires pour l'estimation rapide de cette propriété. [56].

Plusieurs facteurs qui influencent sur l'absorption ou la résorption d'un médicament par l'organisme : Alimentation (augmentation pH gastrique, modification de la motilité intestinale, nature du repas.) Âge, Interactions médicamenteuses (médicament augmentant vidange gastrique ou le pH, chélation...), Pathologie (résection du grêle.) [57].

L'étape suivante de distribution dans l'organisme, Après son entrée dans la circulation générale, le médicament est distribué dans les tissus de l'organisme. La distribution est généralement inégale compte tenu du fait : de différences en termes de débit sanguin irriguant les tissus, de fixation aux tissus, du pH local et de la perméabilité des membranes cellulaires.[58].

Il existe de grandes variations, à la fois en intensité et en vitesse, dans la répartition des différents médicaments dans l'organisme. Le volume de distribution (Vd) se définit comme le volume fictif dans lequel se distribue une quantité de médicament (M) pour être en équilibre avec la concentration plasmatique (Cm)

Le métabolisme d'un médicament correspond à la transformation enzymatique d'un médicament en un ou plusieurs composés, dits métabolites qui peuvent être aussi actifs que la molécule originale (diazépam), inactifs jusqu'à ce qu'ils soient métabolisés en médicament actif dans l'organisme (la levodopa), ou parfois toxiques (paracétamol)

L'objectif des différentes étapes du métabolisme est de conduire à la formation de substances hydrosolubles plus facilement éliminées par les milieux aqueux tels que l'urine, la bile, la salive

Le métabolisme des médicaments se fait essentiellement dans le foie, mais également dans les reins, poumons, intestins, etc. Il fait intervenir deux types de réactions (phase I : oxydation phase II : conjugaison)

Enfin le médicament est éliminé de l'organisme soit sous forme inchangée soit après biotransformation. Cette étape d'excrétion, irréversible, se fait dans les urines le plus souvent (voie rénale). Certaines molécules peuvent être réabsorbées, ce qui définit un cycle entéro-hépatique. [59].

Références bibliographiques :

- [1]. Wieber, F., & Hocquet, A. (2020). Méthodes de modélisation en chimie computationnelle : pluralisme et pragmatisme, software et benchmarking.
- [2]. Tetko, I. V., Gasteiger, J., Todeschini, R., Mauri, A., Livingstone, D., Ertl, P., ... & Prokopenko, V. V. (2005). Virtual computational chemistry laboratory—design and description. *Journal of computer-aided molecular design*, 19(6), 453-463
- [3]. Zighmi, S. (2006). Caractérisation physico-chimique des conducteurs moléculaires à base de TTF-TCNQ (Doctoral dissertation, Ouargla, Université Kasdi Merbah. Faculté des Sciences et Sciences de l'Ingénieur).
- [4]. Badri, M. Étude expérimentale et par modélisation moléculaire de l'effet de solvant sur l'équilibre céto-énolique de certains composés carbonylés.
- [5]. YAGOUB OUM HANI, R. A. I. Modélisation moléculaire pour la découverte de nouveaux inhibiteurs de caspase-3.
- [6]. Tsai, C. S. (2003). *An introduction to computational biochemistry*. John Wiley & Sons.
- [7]. Melkemi, N. (2019). Etude des corrélations entre les paramètres structuraux et les propriétés bioactives de quelques composés organiques (Doctoral dissertation, Université de mohamed kheider biskra). bioactives de quelques composés organiques thèse de doctorat 2013
- [8]. Wu, X., Koslowski, A., & Thiel, W. (2016). *Semiempirical Quantum Chemistry. Electronic Structure Calculations on Graphics Processing Units: From Quantum Chemistry to Condensed Matter Physics*, 239-253.
- [9]. Thiel, W. (2014). *Semiempirical quantum–chemical methods*. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 4(2), 145-157. [22]. Hehre, W.J., Radom, L., Schleyer, P.v.R. and Pople, J.A. (1986) *Ab Initio Molecular Orbital Theory*, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- [10]. Pople, J. A., Santry, D. P., & Segal, G. A. (1965). Approximate self-consistent molecular orbital theory. I. Invariant procedures. *The Journal of Chemical Physics*, 43(10), S129-S135.
- [11]. Rodríguez, J. I., Ayers, P. W., Götz, A. W., & Castillo-Alvarado, F. D. L. (2009). Virial theorem in the Kohn–Sham density-functional theory formalism: Accurate calculation of the atomic quantum theory of atoms in molecules energies. *The Journal of chemical physics*, 131(2), 021101.
- [12]. Thiel, W. (1996). Perspectives on semiempirical molecular orbital theory. *Advances in Chemical Physics*, 93, 703-758.
- [13]. Ulm, E. N. S., Garavelli, M., Lyon, E. N. S., & DUMONT, É. (2012). Hybrid simulation of biomolecular environment effects: reactivity, structure and spectroscopy.

- [14]. Dewar, M. J., & Thiel, W. (1977). Ground states of molecules. 38. The MNDO method. Approximations and parameters. *Journal of the American Chemical Society*, 99(15), 4899-4907.
- [15]. Thiel, W. (2000). Semiempirical methods. *Modern methods and algorithms of quantum chemistry*, 261-283.
- [16]. Maciel, G. E., McIver Jr, J. W., Ostlund, N. S., & Pople, J. A. (1970). Approximate self-consistent molecular orbital theory of nuclear spin coupling. I. Directly bonded carbon-hydrogen coupling constants. *Journal of the American Chemical Society*, 92(1), 1-11
- [17]. ZEUDMI SAHRAOUI, D. (2008). Etude quanto-chimique: Corrélation structure-réactivité de l'acétate de cholestéryle en phase condensée (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).
- [18]. Tauer, A. P. (2005). Theoretical Investigations of Pi-Pi and Sulfur-Pi Interactions and their Roles in Biomolecular Systems (Doctoral dissertation, Georgia Institute of Technology)..
- [19]. Harkati, D. (2015). Etude de la structure et des propriétés physico-chimiques associées, de quelques molécules bioactives à intérêt pharmaceutique (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider-Biskra).
- [20]. Salvatore Profeta .Molecular Modeling. . Jr Florida-State-University-College-of-Medicine. March 2005
- [21]. MOSTEFAOUI, L. (2011). Contribution à la description et à la compréhension de la solvation des biomolécules (Doctoral dissertation, Université de Tlemcen-Abou Bekr Belkaid).
- [22]. Jarosaw, M. Molecular Dynamics, Cornell University, Ithaca, New York, USA
Nicholas Copernicus University Toruń, Poland
- [23]. Henry Jakubowski A. Benedict/St. John's. Introduction to Molecular Mechanics and Molecular Dynamic Text. University Mar 6, 2021
- [24]. <https://www.rcsb.org>
- [25]. Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20(7), 13384-13421
- [26]. Pinzi, L., & Rastelli, G. (2019). Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery. *International journal of molecular sciences*, 20(18), 4331.

- [27]. Thiriote, E. (2009). Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques: Développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Méthionine Sulfoxyde Réductases de classe A (Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré-Nancy 1).
- [28]. GHADHAB, E. SOUFI, M. Application du Docking moléculaire par SURFLEX Pour la mise en évidence des nouveaux inhibiteurs de la Kinase dépendante de la cycline 2 (CDK2) mémoire de master
- [29]. Chevrollier, N. (2019). Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay (ComUE)).
- [30]. Sethi, A., Joshi, K., Sasikala, K., & Alvala, M. (2019). Molecular docking in modern drug discovery: Principles and recent applications. *Drug discovery and development-new advances*, 2, 1-21.
- [31]. Sahoo, B. M., & Banik, B. K. (2020). Therapeutic Potentials of β -Lactam: A Scaffold for New Drug Development. *Synthetic Approaches to Nonaromatic Nitrogen Heterocycles*, 59-88.
- [32]. Diller, D. J., & Merz Jr, K. M. (2001). High throughput docking for library design and library prioritization. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 43(2), 113-124.
- [33]. Wu, S. Y., McNae, I., Kontopidis, G., McClue, S. J., McInnes, C., Stewart, K. J., ... & Walkinshaw, M. D. (2003). Discovery of a novel family of CDK inhibitors with the program LIDAEUS: structural basis for ligand-induced disordering of the activation loop. *Structure*, 11(4), 399-410.
- [34]. Rarey, M., Kramer, B., Lengauer, T., & Klebe, G. (1996). A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm. *Journal of molecular biology*, 261(3), 470-489.
- [35]. Ewing, T. J., Makino, S., Skillman, A. G., & Kuntz, I. D. (2001). DOCK 4.0: search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases. *Journal of computer-aided molecular design*, 15(5), 411-428.
- [36]. Hart, T. N., & Read, R. J. (1992). A multiple-start Monte Carlo docking method. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 13(3), 206-222. [50]. Taylor RD,

- [37]. Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K., & Olson, A. J. (1998). Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of computational chemistry*, 19(14), 1639-1662.
- [38]. Österberg, F., Morris, G. M., Sanner, M. F., Olson, A. J., & Goodsell, D. S. (2002). Automated docking to multiple target structures: incorporation of protein mobility and structural water heterogeneity in AutoDock. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 46(1), 34-40.
- [39]. Taylor, J. S., & Burnett, R. M. (2000). DARWIN: a program for docking flexible molecules. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 41(2), 173-191.
- [40]. Friesner RA, Banks JL, Murphy RB, Halgren TA, Klicic JJ, Mainz DT, et al. Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2004;
- [41]. Halgren, T. A., Murphy, R. B., Friesner, R. A., Beard, H. S., Frye, L. L., Pollard, W. T., & Banks, J. L. (2004). Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 2. Enrichment factors in database screening. *Journal of medicinal chemistry*, 47(7), 1750-1759.
- [42]. Hulzebos E, Janssen P, Maslankiewicz L, Meijerink M, Muller J, Pelgrom S, et al. The application of structure-activity relationships in human hazard assessment: a first approach. RIVM Rapport 601516008. 2001
- [43]. Netzeva, T. I., Worth, A. P., Aldenberg, T., Benigni, R., Cronin, M. T., Gramatica, P., ... & Yang, C. (2005). Current status of methods for defining the applicability domain of (quantitative) structure-activity relationships: The report and recommendations of ecvam workshop 52. *Alternatives to Laboratory Animals*, 33(2), 155-173.
- [44]. Nikolova, N., & Jaworska, J. (2003). Approaches to measure chemical similarity—a review. *QSAR & Combinatorial Science*, 22(9-10), 1006-1026.
- [45]. Fortuné, A. (2006). Techniques de Modélisation Moléculaire appliquées à l'Etude et à l'Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).

- [46]. Ghemtio, L. (2010). Simulation numérique et approche orientée connaissance pour la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques (Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré-Nancy 1).
- [47]. Azizi, S., Hamidache, N., & Aissaoui, S. E. (2019). Evaluation de la biodégradation de l'ibuprofène et triméthoprime par des microorganismes isolés de différentes origines en utilisant l'HPLC (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
- [48]. Hmamouchi, R., Bouachrine, M., & Lakhlifi, T. (2016). Tentative Pratique du Relation Quantitatives Structure-Activité/Propriété (QSAR/QSPR). *Revue Interdisciplinaire*, 1(1).
- [49]. Berkani, F. « Application de la Régression Linéaire Multiples sur la Balance Commerciale Algérien
- [50]. Bougrine. M. « Analyse et prévision du Best Estimate dans le cadre de l'ORSA en assurance vie par régression linéaire multiple ».
- [51]. Tropsha, A., Gramatica, P., & Gombar, V. K. (2003). The importance of being earnest: validation is the absolute essential for successful application and interpretation of QSPR models. *QSAR & Combinatorial Science*, 22(1), 69-77.
- [52]. Melkemi, N. (2019). Etude des corrélations entre les paramètres structuraux et les propriétés bioactives de quelques composés organiques (Doctoral dissertation, Université de mohamed kheider biskra).
- [53]. Paul Gleeson, M., Hersey, A., & Hannongbua, S. (2011). In-silico ADME models: a general assessment of their utility in drug discovery applications. *Current topics in medicinal chemistry*, 11(4), 358-381..
- [54]. Klopman, G., Stefan, L. R., & Saiakhov, R. D. (2002). ADME evaluation: 2. A computer model for the prediction of intestinal absorption in humans. *European journal of pharmaceutical sciences*, 17(4-5), 253-263.

- [55]. Bernard, C. (2002). Pharmacocinétique: le devenir des médicaments dans l'organisme. *Les psychotropes: pharmacologie et toxicomanie*, 53.
- [56]. Hou, T., Wang, J., & Li, Y. (2007). ADME evaluation in drug discovery. 8. The prediction of human intestinal absorption by a support vector machine. *Journal of chemical information and modeling*, 47(6), 2408-2415.
- [57]. Tillement, J. P., Zini, R., Glasson, S., & Jacotot, B. (1982). Fixation plasmatique et pharmacocinétique des médicaments. *La Revue de Médecine Interne*, 3(1), 75-80.
- [58]. Gueguen, Y., Mouzat, K., Ferrari, L., Tissandie, E., Lobaccaro, J. M. A., Batt, A. M., ... & Souidi, M. (2006, November). Cytochromes P450: xenobiotic metabolism, regulation and clinical importance. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 64, No. 6, pp. 535-548).
- [59]. De Chaisemartin, L., & Lorient, M. A. (2005). Pharmacogénétique des médicaments anticancéreux. *Pathologie Biologie*, 53(2), 116-124.
- .

Chapitre. III : résultats et discussion

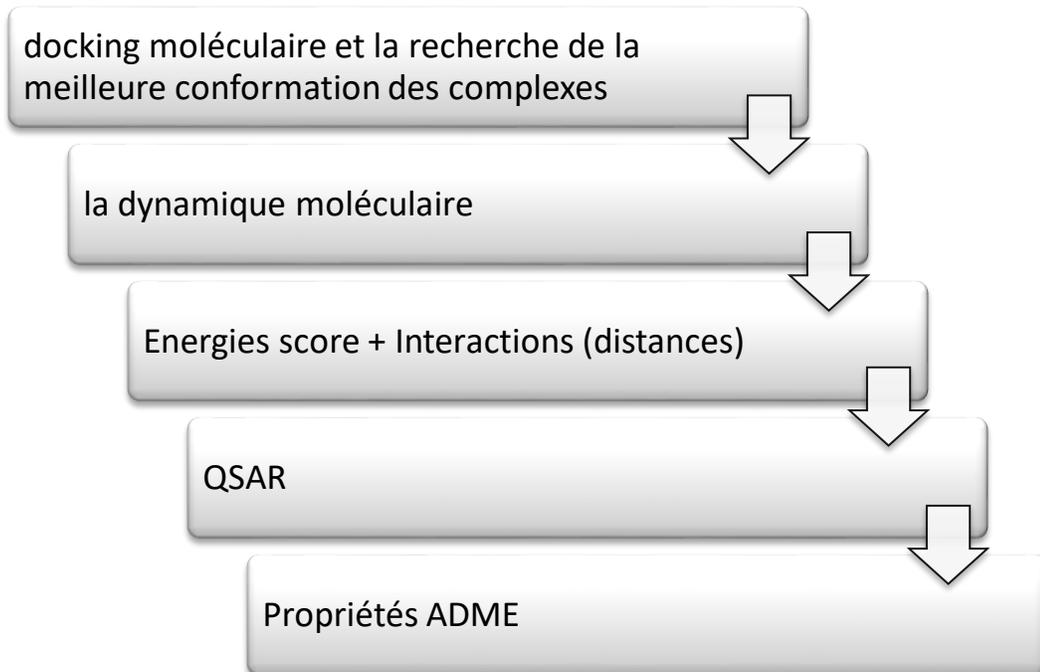
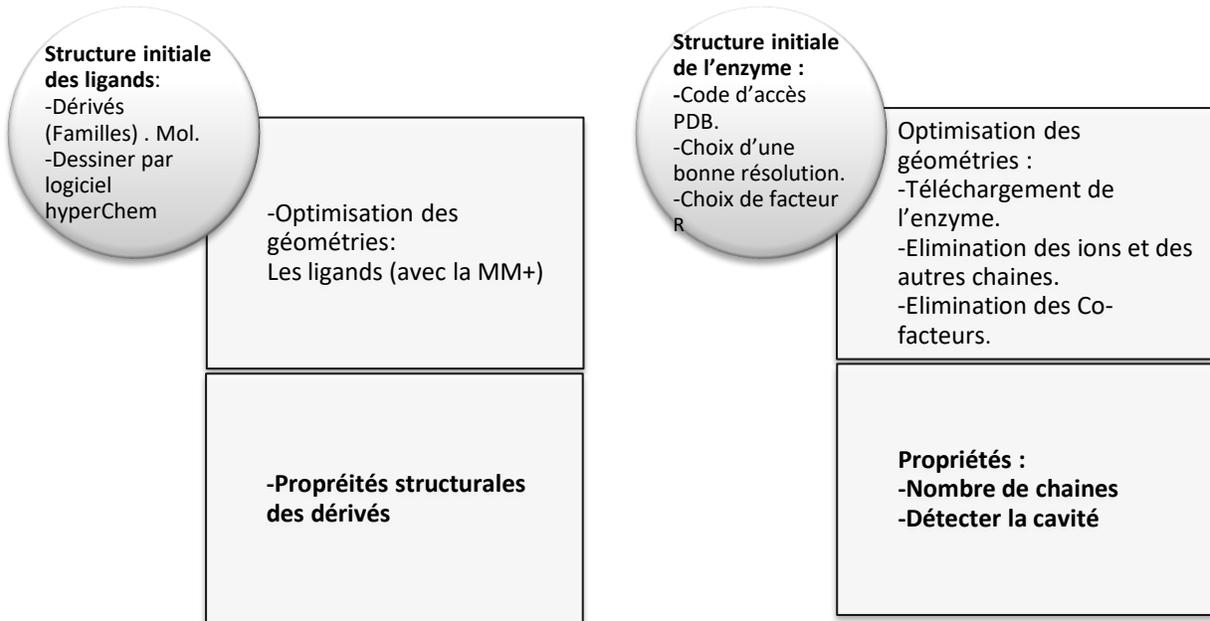
1. Introduction :

La chimie computationnelle occupe une place primordiale dans la chimie médicinale moderne dont l'objectif est la découverte et le développement de nouveaux médicaments. En effet, l'intervention de chimie computationnelle dans les sciences biologiques a permis de comprendre les mécanismes d'action des médicaments et les fonctions de l'organisme aux niveaux cellulaire et moléculaire. Par conséquent, la plupart des projets de recherche dans l'industrie pharmaceutique commencent par l'identification de cible appropriée dans le corps et concevoir des médicaments capables d'interagir avec elle. La connaissance de la structure et de la fonction de la cible, ainsi que les mécanismes par lesquels elle interagit avec les molécules médicamenteuses, est crucial pour cette approche [1].

À cet égard, le Docking et la dynamique moléculaire sont utilisés pour analyser les complexes récepteur/ligand, pour identifier les différents types d'interactions présentes entre certains résidus d'acides aminés de récepteur et celle de ligands, et pour vérifier la stabilité des complexes dans des conditions physiologiques [2]

L'approche de la relation Quantitative Structure-Activité [QSAR] permet d'étudier les corrélations entre les propriétés physico-chimiques et les paramètres structuraux avec les propriétés pharmacologiques d'une série homologue de molécules bioactives. Ainsi, il permet de concevoir des molécules médicamenteuses aux propriétés pharmacocinétiques améliorées, réduisant le nombre de composés à tester et limitant les échecs de développement [1].

En fin pour diminuer le taux d'échec des candidats-médicaments la mise en place des filtres ADME [Absorption Distribution Métabolisme et Elimination] pour donner de bonnes performances pharmacocinétiques et de biodisponibilité [3].



2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Base de données biologiques :

Une série cytotoxique de vingt-deux dérivés de phtalimide-1,3-thiazole, a été collectée à partir des travaux antérieurs publiés par *Arsenio Rodrigues Oliveira et al* [4].

Les composés étudiés sont caractérisés par leur activité cytotoxique envers des lignées cellulaires tumorales MOLT-4 et TOLEDO à 10 µM. Le tableau III.01 représente les données expérimentales de l'activité cytotoxiques des molécules étudiées.

Tableau III.1 :L'activité cytotoxique *in vitro* des dérivés de phtalimido-1,3-thiazole (10 µM) envers les lignées cellulaires tumorales MOLT-4 et TOLEDO.

Composé	MOLT-4	TOLEDO	pAct1 ^a	pAct2 ^b
L1	86	65	3,065	3,187
L2	77	66	3,11	3,18
L3	90	88	3,04	3,05
L4	92	100	3,03	3
L5	100	86	3	3,06
L6	68	46	3,167	3,337
L7	66	100	3,18	3
L8	67	72	3,173	3,142
L9	100	100	3	3
L10	100	54	3	3,267
L11	98	100	3,008	3
L12	90	81	3,045	3,09
L13	93	74	3,031	3,13
L14	30	1	3,52	5
L15	88	100	3,05	3
L16	9	70	4,04	3,15

L17	5	27	4,3	3,5
L18	28	79	3,55	3,1
L19	42	30	3,37	3,52
L20	23	15	3,63	3,82
L21	13	2	3,88	4,69
L22	89	90	3,05	3,045
DOXO	1	30	5	3.522

Act1 : Activité cytotoxique envers les lignées cellulaires tumorales MOLT-4

Act2 : Activité cytotoxique envers les lignées cellulaires tumorales TOLEDO

pAct1 = -Log Act1; pAct2 = -Log Act2

DOXO : Doxorubicine, utilisée comme un témoin positif

MOLT-4 : est une lignée cellulaire de lymphoblastes T dérivée du même patient que la lignée cellulaire MOLT-3 (ATCC CRL-1552). La lignée a été établie à partir de cellules prélevées sur un patient de sexe masculin de 19 ans atteint de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) en rechute. Cette lignée cellulaire peut être utilisée dans la recherche sur l'immunologie et les troubles du système immunitaire [7].

TOLEDO : a été créé en 1990 à partir de leucocytes du sang périphérique (PBL) d'un patient initialement atteint d'un lymphome diffus à grandes cellules (DLCL). Après une chimiothérapie à haute dose et une greffe de moelle osseuse, le patient a ensuite développé un lymphome cérébral. Bien que la morphologie des cellules ressemble au lymphome de Burkitt, les cellules sont dépourvues des translocations chromosomiques typiques du lymphome de Burkitt. Le caryotype présente de multiples aberrations chromosomique .Les cellules n'expriment pas d'immunoglobuline de surface ou cytoplasmique [8].

Les deux lignées cellulaires sont dépendantes de la maladie de leucémie lymphoblastique aigue.

2.2. Etude de docking moléculaire :

2.2.1. . Préparation des ligands :

Les 22 inhibiteurs utilisés dans notre travail sont des dérivés de phtalimido-1.3-thiazoles [4], voire le tableau II.02. L'optimisation des structures a été effectuée par la mécanique moléculaire avec le champ des forces (MM+) implanté dans le logiciel Hyperchem [9].

Les structures des dérivés de phtalimido-1.3-thiazole utilisées dans notre étude sont représentées dans le tableau III-2 :

Tableau III.2 : Structures chimique des dérivés de phtalimido-1.3-thiazole et leurs valeurs d'activités biologiques.

Composé	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
L1	-Ph	/	/	/
L2	4-MeO-Ph	/	/	/
L3	4-F-Ph	/	/	/
L4	4-Cl-Ph	/	/	/
L5	4-NO ₂ -Ph	/	/	/
L6	4-Ph-Ph	/	/	/
L7	2-Naph	/	/	/
L8	3,4-diCl-Ph	/	/	/
L9	2,4-diCl-Ph	/	/	/

L10	/	/	/	/
L11	/	/	Me	/
L12	/	/	H	/
L13	/	Me	H	/
L14	/	/	Me	/
L15	/	Me	Me	/
L16	/	/	/	Ph
L17	/	/	/	4-Cl-Ph
L18	/	/	/	4-NO ₂ -Ph
L19	/	/	/	4-MeO-Ph
L20	/	/	/	2-Naph
L21	/	/	/	4-Ph-Ph
L22	/	/	Me	Ph

2.2.2. . Propriétés des ligands

Les calculs effectués à l'aide de MOE 2014 (Molecular Operating Environment MOE) [13] donnent les propriétés suivantes (tableau **III.3**) en utilisant l'option ligand-propriétés :

Tableau **III.3** : Quelques propriétés des dérivés de phtalimido-1.3-thiazole.

Ligand	Toxicité	Rsynth (%)	Ligand	Toxicité	Rsynth (%)
L1	No	100	L12	No	100
L2	No	100	L13	No	100
L3	No	100	L14	No	100
L4	No	100	L15	No	100
L5	No	100	L16	No	100

L6	No	100	L17	No	100
L7	No	100	L18	No	100
L8	No	100	L19	No	100
L9	No	100	L20	No	100
L10	No	100	L21	No	100
L11	No	100	L22	No	100

On peut noter à l'aide de tableau ci-dessus que tous les ligands ne sont pas toxiques, donc on peut dire qu'ils sont validés pour devenir des médicaments.

2.2.3. Préparation des cibles biologiques (enzymes) :

Les deux structures des enzymes cristallisées (enzyme 01 : structure cristalline de la NT5C2 (5'-nucléotidase cytosolique II) **ID PDB : 6DDQ** ; enzyme 02 : structure cristalline de domaine kinase ABL1 humaine **ID PDB : 4WA9**), Ont été téléchargés à partir de la base de données Brookhaven Protein Data Bank (PDB) (www.rcsb.org/pdb), l'une des bases de données les plus connues est la base de données des protéines qui est une référence en ligne gratuite donne des informations sur les structures 3D des grandes molécules biologiques, y compris les protéines et les acides nucléiques ; le PDB a été créé en 1971 à la bibliothèque nationale de brookhaven, il contient déjà plus de 100 000 structures et le référentiel est mis à jour chaque semaine ; il permet aux utilisateurs d'effectuer des requêtes simples et complexes sur les données, de les analyser et de visualiser les résultats [10].

Plusieurs méthodes sont actuellement utilisées pour déterminer la structure d'une protéine en PDB. Dans chacune de ces méthodes, les chercheurs utilisent de nombreuses informations pour créer le modèle atomique final des enzymes ou des protéines.

- La cristallographie aux rayons X, il s'agit du diagramme de diffraction des rayons X.
- La spectroscopie RMN, il s'agit des informations sur la conformation locale et la distance entre des atomes proches les uns des autres.
- En microscopie électronique, c'est une image de la forme générale de la molécule

Le choix de ces deux enzymes (**6DDQ** et **4WA9**) est basé sur les méthodes de la cristallographie aux rayons X, parce qu'elle peut fournir des informations atomiques très détaillées, montrant chaque atome d'une protéine ou d'un acide nucléique ainsi que des détails atomiques sur les ligands, les inhibiteurs, les ions et d'autres molécules incorporées dans le cristal. La précision de la structure atomique qui est déterminée dépend de la qualité de ces cristaux.

Dans les cristaux parfaits, il y a deux mesures importantes de la précision d'une structure cristallographique sont :

- **La résolution**, qui mesure la quantité de détails qui peuvent être vus dans les données expérimentales des structures protéiques. Elle est considérée comme de bonne qualité pour les études d'amarrage dans le domaine de 1,5 Å et 2,5 Å (*Suggéré par Clément et al*) [11]. En effet, les valeurs de résolution des deux structures **6DDQ** et **4WA9** appartiennent à cet intervalle.
- **La valeur R**, qui mesure à quel point le modèle atomique est pris en charge par les données expérimentales trouvées dans le fichier des facteurs de structure. *Morris et al.* [12] ont démontré que la structure raffinée à $R \leq 0,2$ indique généralement que la protéine a la bonne topologie. Dans notre travail, les enzymes choisies ont des valeurs R inférieures à 0,2 pour les deux structures cibles, ce qui souligne la fiabilité du modèle.

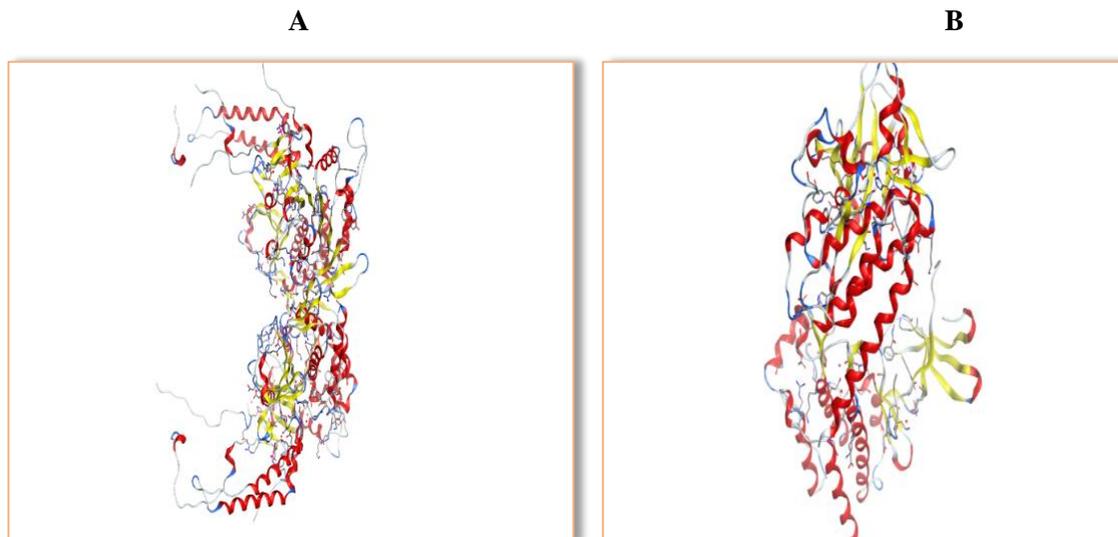


Figure III-1 : Structure 3D des deux enzymes utilisées dans notre étude.

A : Enzyme 01 : code PDB : 6DDQ, B : Enzyme02 : code PDB : 4WA9

Les propriétés des enzymes et les valeurs du score énergétique sont représentées dans le Tableau III.04.

Tableau III.4 : Propriétés des enzymes, score énergétique et valeurs RMSD.

Enzymes ID PDB	Chaînes	Résolution Å	Valeur de R	Ligand Co-cristallisé	E score (Kcal/mol)	RMSD
6DDQ	A, B	2.50 Å	0.162	EDO	-3.576	1.370
4WA9	<u>B (auth A),</u> <u>A (auth B)</u>	2.20 Å	0.173	AXI	-8.536	0.828

La structure des deux enzymes utilisées dans notre étude est représentée dans la figure III-1. Avant de procéder au docking moléculaire nous avons préparé initialement la structure des enzymes et nous avons choisis les chaînes A pour les deux enzymes, en suivant le protocole suivant :

Après le téléchargement des enzymes, premièrement on élimine les molécules d'eau, les ions et les cofacteurs, ensuite on ajoute les hydrogènes (protonate 3D) et finalement l'attribution des charges.

Une fois la structure des enzymes est préparée, on cherche le site actif par le module (Site Finder) dans le logiciel MOE [13].

Plusieurs cavités ont été détectées. On choisit les cavités où se trouve le ligand de références l'alcool 1,2-ETHANEDIOL (EDO) pour la première enzyme et N-méthyl-2-((3-((E)-2-pyridin-2-ylethenyl)-2H-indazol-6-yl) sulfanyl) benzamide (axitinib AXI) pour la deuxième enzyme.

Les deux cavités détectées sont formées de 26 et 37 résidus d'acides aminés pour les enzymes 6DDQ et 4WA9, respectivement.

Pour valider les résultats de docking, il faut faire un **re-docking** des ligands natifs dans leurs cavités. La déviation de la racine de la moyenne des carrés (root-mean-square deviation **RMSD**) entre la conformation amarrée et Co-cristallisée a été calculée ainsi que l'énergie libre de liaison (score S), comme indiqué dans tableau III-4.

Les valeurs prédites de RMSD des deux complexes 6DDQ-EDO et 4WA9-AXI sont données, respectivement par 1.37 Å et 1.358 Å, Ces valeurs sont inférieures à 2 Å confirmant la précision de cette méthode [14].

Nous avons utilisé l'option "Ligands interactions" implémentée dans le programme MOE pour visualiser les modes d'interactions entre les ligands de références et les résidus de site actif des enzymes étudiées (voir les figures A jusqu'à D).

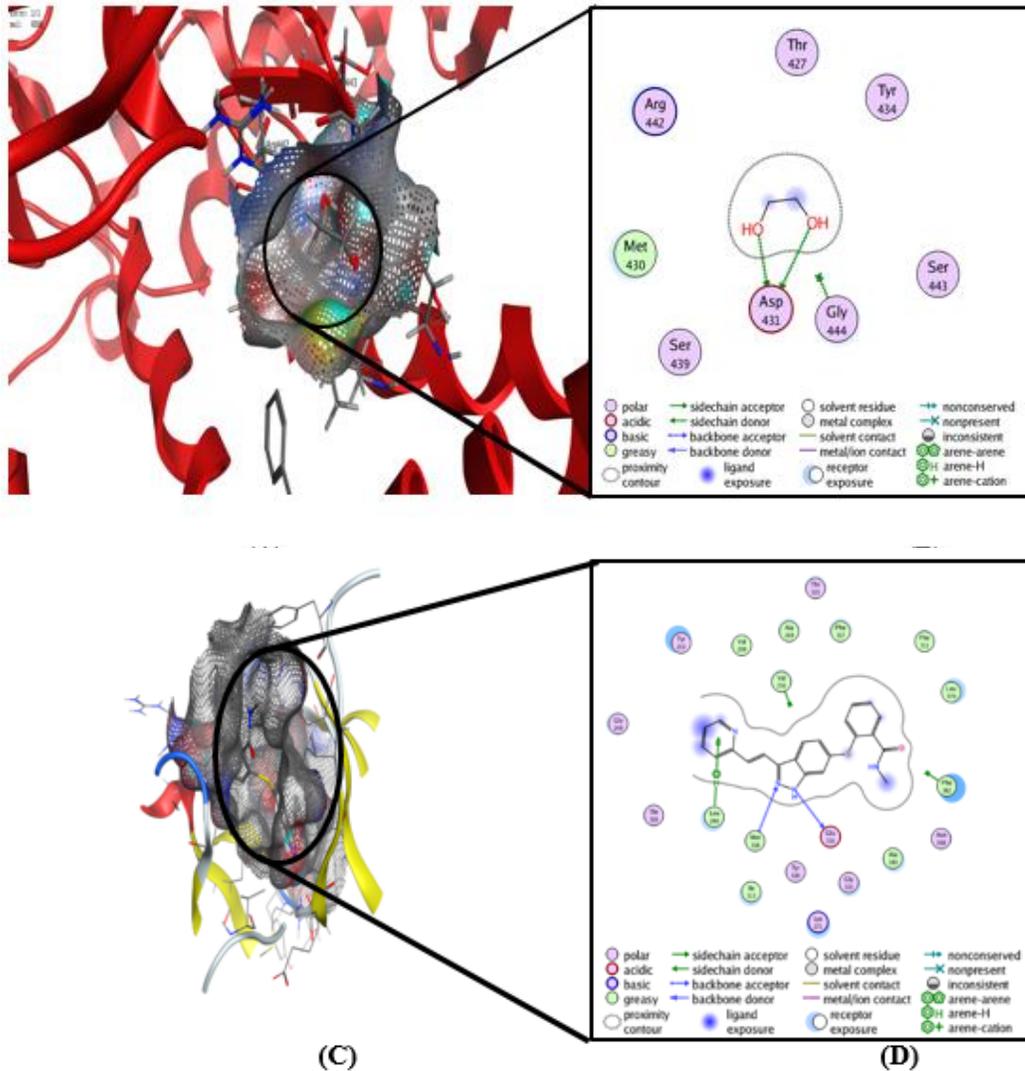


Figure III-2 Présentation des ligands de références Co-cristallisés pour les deux enzymes et leurs interactions après le re-docking moléculaire.

- A : structure cristalline 3D de 6DDQ complexée avec EOD (ligand natif).
- B : représentation 2D des interactions de (EOD) avec la poche de liaison de 6DDQ.
- C : Structure cristalline 3D de 4WA9 complexée avec AXI (ligand natif).
- D : représentation 2D des interactions de (AXI) avec la poche de liaison de 4WA9.

2.3. . Simulation par la dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire (MD) est utilisée dont le but de valider les interactions des conformères résultants de l'amarrage moléculaire. Six complexes de plus grandes énergies score ont été sélectionnés pour chaque cible pour la simulation par la dynamique moléculaire.

Le logiciel Moe a été utilisé pour effectuer une simulation MD et pour exploré la stabilité de douze complexes suivants : 6DDQ-L16 ,6DDQ-L17, 6DDQ-L18, LDDQ-L19 ,6DDQ-L20, 6DDQ-L21 ,4WA9-L17, 4WA9-L18 ,4WA9-L19 ; 4WA9L20, 4WA9-L21 et 4WA9-L22.

La simulation MD a été réalisée en utilisant l'algorithme de NPA (the Nose–Poincaré–Andersen) qui révèle les interactions des résidus d'acides aminés dans chaque système [15.16].

L'étape de minimisation met en œuvre la force moléculaire de Merck champ de force MMFF94x [17]. L'algorithme du thermostat Berenson a été utilisé pour contrôler la température de simulation [18]. Ensuite, **100** picoseconde(**Ps**) ont été choisis pour l'intervalle de temps d'équilibre, et la phase de production qui a été fixée à **600 ps** pour chaque système.

Tous les autres paramètres ont été conservés au réglage par défaut. Afin d'analyser la stabilité conformationnelle des complexes, la fluctuation des énergies potentielles U (Kcal/mol) est tracée en fonction du temps de simulation en utilisant le logiciel Origin 6.0 [19].

2.4. . Etude QSAR de l'activité cytotoxique des dérivés de phtalimido 1,3-thiazole :

2.4.1. .Données expérimentales (Data set) :

Dans cette étude, une série de dérivés de phtalimido-1,3-thiazole (tableau III.2) a été utilisée dans l'étude quantitative des relations structure/activité cytotoxique envers des lignées cellulaires tumorales MOLT-4 (Act1) et TOLEDO (Act2).

Deux paramètres biologiques Act1 et Act2 ont été introduits dans cette étude et les données biologiques sont illustrées dans le tableau III.1.

2.4.2. Calcul des descripteurs moléculaires :

Les 22 molécules sélectionnées ont été préalablement optimisées à l'aide de la Mécanique Moléculaire avec le champ de force (MM+) par logiciel hyperChem 8.08 [9]. Le logiciel Molecular Operating Environment (MOE) [12] a été utilisé pour déterminer les descripteurs moléculaires suivants : masse moléculaire (W) , log P(o/w), le nombre de liaisons hydrogènes donneurs (H-don), nombre de liaisons hydrogènes accepteurs [H-acc], le nombre de cycles (Rings), le nombre d'atomes d'oxygène (N.O), nombre d'atomes d'azote (N.N), nombre d'atomes de soufre (N.S), moment dipolaire (M), flexibilité (felx) et surface polaire topologique (TPSA).

Tableau III.5 : Valeurs de descripteurs moléculaires utilisés dans l'étude QSAR

Ligand	pAct1	pAct2	H-acc	H-don	Flex	Log P	Rings	(UMA) W	debye M	N.N	N.O	N.S	(A°) TPSA
L1	3,065	3,187	3,00	0,00	2,60	4,72	4,00	335,39	0,740	3	2	1	52,9
L2	3,110	3,18	4,00	0,00	3,16	4,67	4,00	365,41	5,367	3	3	1	62,2
L3	3,040	3,05	3,00	0,00	2,76	4,87	4,00	353,38	3,433	3	2	1	52,9
L4	3,030	3,00	3,00	0,00	3,19	5,31	4,00	369,83	3,539	3	2	1	52,9
L5	3,000	3,06	5,00	2,00	3,37	3,78	4,00	382,40	4,432	4	4	1	94,7
L6	3,167	3,337	3,00	0,00	3,29	6,68	5,00	411,48	4,546	3	2	1	52,9
L7	3,180	3,000	3,00	0,00	2,83	5,97	5,00	385,45	1,734	3	2	1	52,9
L8	3,173	3,142	3,00	0,00	3,83	5,93	4,00	404,28	2,779	3	2	1	52,9
L9	3,000	3,000	3,00	0,00	3,83	5,93	4,00	404,28	3,423	3	2	1	52,9
L10	3,000	3,267	4,00	1,00	2,43	1,59	3,00	301,33	4,457	3	3	1	79,3
L11	3,008	3,000	4,00	0,00	2,64	3,27	3,00	315,35	5,004	3	3	1	70,0
L12	3,045	3,090	5,00	3,00	3,69	3,40	3,00	374,45	4,715	6	2	2	144,
L13	3,031	3,130	5,00	2,00	3,91	5,08	3,00	388,48	2,294	6	2	2	135,4
L14	3,520	5,000	5,00	3,00	4,11	3,72	3,00	388,48	4,103	6	2	2	130,8
L15	3,050	3,00	5,00	2,00	4,34	5,40	3,00	402,50	1,783	6	2	2	121,4
L16	4,040	3,150	5,00	2,00	4,44	6,46	5,00	474,57	1,828	6	2	2	99,5
L17	4,300	3,500	5,00	2,00	5,10	7,05	5,00	509,01	1,559	6	2	2	99,5

L18	3,550	3,100	7,00	4,00	5,27	5,52	5,00	521,58	6,372	7	4	2	141,3
L19	3,370	3,520	6,00	2,00	5,05	6,42	5,00	504,60	1,694	6	3	2	108,8
L20	3,630	3,820	5,00	2,00	4,60	7,72	6,00	524,63	5,526	6	2	2	99,5
L21	3,880	4,690	5,00	2,00	5,12	8,42	6,00	550,67	0	6	2	2	99,5
L22	3,050	3,040	5,00	1,00	4,65	8,14	5,00	488,6	2,618	6	2	2	90,2

2.4.3. *Analyse statistique :*

L'analyse de la régression linéaire multiple (RLM) (en anglais : multiple linear regression MLR) des corrélations entre les descripteurs moléculaires et l'activité biologique a été réalisée à l'aide de logiciel SPSS Version 19[20].

Une analyse de régression où la variable dépendante Y dépend linéairement de plusieurs variables indépendantes X_1, X_2, \dots, X_j est appelée régression linéaire multiple [21]. L'étude du RLM basée sur l'élimination des descripteurs jusqu'à l'obtention d'un modèle valide. La technique statistique MLR est utilisée pour étudier les corrélations entre une variable dépendante (activités biologiques pAct1 et pAct2) et les variables indépendantes (descripteurs moléculaires) de 22 dérivés de phtalimido 1,3-thiazole.

Cette étude permet de développer une équation mathématique donnée par :

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \dots + \beta_p X_p + \epsilon_i$$

Où β_i sont les coefficients de la régression. Les résidus ϵ_i représentent l'erreur du modèle.

2.4.4. *Méthodes de validation :*

Le modèle QSAR doit être correctement validé pour une meilleure prédiction de l'activité biologique. La validité du modèle peut être évaluée à l'aide d'une validation interne en utilisant les paramètres suivants : la somme des carrés résiduels (PRESS), la somme des carrés totaux (TSS), qualité d'ajustement R^2_{adj} , coefficient de corrélation de validation croisée R^2_{CV} , la validation standard des erreurs de prédiction (SPRESS) [22].

2.5. Prédiction ADME :

Criblage *in silico* des propriétés pharmacologiques ADME et l'évaluation de Druglikeness a été effectuée par l'outil Web SwissADME [23].

Les paramètres pharmacocinétiques utilisées dans cette étude sont : l'absorption gastro-intestinale, la glycoprotéine P, Perméabilité de la barrière hémato-encéphalique [BHE] (en anglais : Blood-Brain Barrier BBB) et les enzymes cytochromes. De plus, la prédiction de la biodisponibilité des molécules étudiées est basée sur plusieurs règles telles que : les règles de Lipinski, Veber..

2.5.1. Programme swissADME :

Les modèles informatiques constituent des alternatives valables aux expériences. Le nouvel outil web SwissADME donne un accès gratuit à des modèles prédictifs rapides mais robustes pour les propriétés physico-chimiques, la pharmacocinétique, la ressemblance avec les médicaments et la convivialité de la chimie médicinale. Une saisie et une interprétation simples et efficaces sont assurées grâce à une interface conviviale via le site Web <http://www.swissadme.ch>. [24].

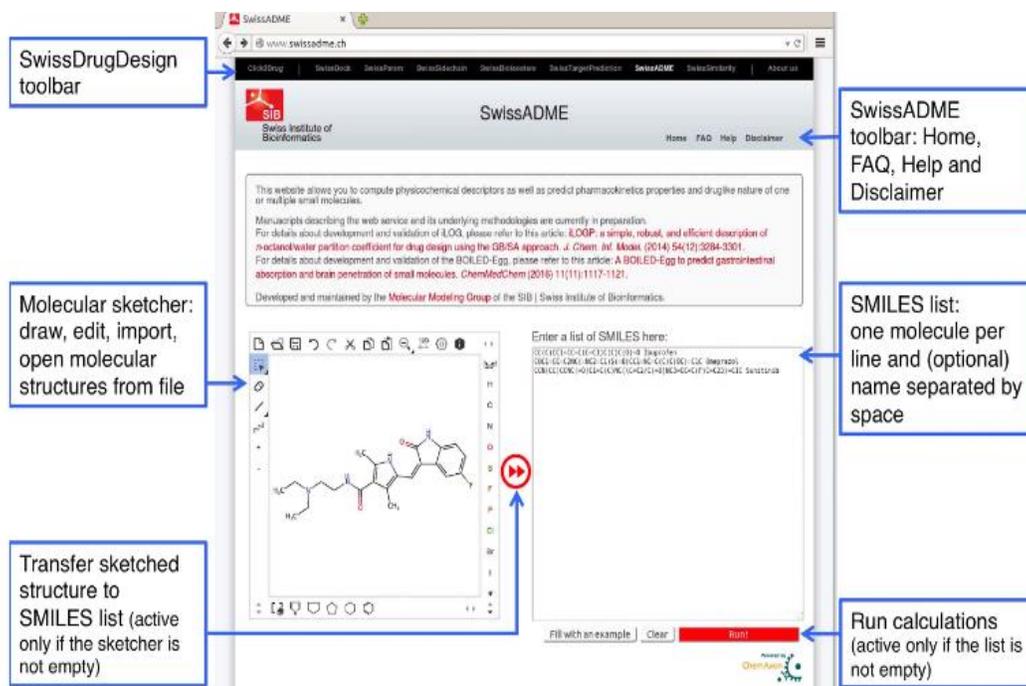


Figure III.3:Interface de programme en ligne SwissADME

Les molécules peuvent être collées directement ou saisies au format SMILES, ou insérées dans le sketcher moléculaire. Ce dernier permet d'importer depuis des bases de données, d'ouvrir un fichier local ou dessiner une structure chimique 2D à transférer dans la liste en cliquant sur le bouton double flèche. Lorsque la liste des molécules est prête à être soumise, l'utilisateur peut lancer les calculs en cliquant sur le bouton "Run"[25].

2.5.2. . Paramètres ADME utilisés :

II.5.2.1. Absorption gastro-intestinale :

L'effet du premier passage peut être considéré comme une «disparition» de médicament avant son arrivée dans la circulation générale par dégradation éventuelle (par exemple par des enzymes extra- ou intracellulaires). Selon la voie d'administration, l'effet de premier passage peut être hépatique (voie orale, voie rectale), intestinal (voie orale), pulmonaire (voie intraveineuse)[26].

Perméabilité de la barrière hémato-encéphalique [BHE]

La barrière hémato-encéphalique (BHE) (en anglais : The blood-brain barrier BBB) est une interface dynamique entre la circulation périphérique et le système nerveux central (SNC). L'élément de base de la BHE, l'unité neurovasculaire, est une structure complexe composée de cellules endothéliales capillaires (CE), d'astrocytes, de péricytes et de neurones. L'intégration anatomique de ces cellules et leur interaction avec des éléments péri-vasculaires supplémentaires forment une barrière de diffusion sélective qui régule le mouvement des substances dans et hors du SNC. Seules les petites molécules liposolubles sont capables de passer passivement à travers la BHE [27].

Les transporteurs P-glycoprotéine :

Les transporteurs membranaires, tout comme les systèmes enzymatiques tels que les cytochromes, sont des facteurs déterminants dans le devenir des médicaments dans l'organisme. La glycoprotéine P (P-gp) appartient à la superfamille des transporteurs ABC (ATP-binding cassette) et probablement l'un des transporteurs les plus importants impliqués dans la biodisponibilité des xénobiotiques chez l'homme. Elle limite l'absorption des médicaments à partir du tractus gastro-intestinal, en favorise l'élimination dans l'urine et la bile, mais participe aussi à un rôle de barrière protectrice pour le SNC et le fœtus [28].

Les cytochromes CYP :

Les cytochromes P450 (CYP) sont des hémoprotéines qui participent au métabolisme oxydatif de nombreux médicaments. En fonction de la structure de la protéine fixée à l'hème. Différentes familles et sous-familles de cytochrome ont été identifiées chez l'homme. Les principales formes sont : CYP 1A2, 2D6, 2C9, 2C19, 2E1 et 3A4. Certains sujets présentent un déficit en CYP 2D6, 2C9 et 2C19 "métaboliseurs lents".

Le CYP 3A4 chez l'homme est quantitativement le plus important. L'activité des CYP peut être modifiée sous l'action des substances inductrices qui augmentent la synthèse et donc la quantité de CYP disponible, ou inhibitrices, qui vont provoquer une diminution du métabolisme et donc une augmentation des concentrations des médicaments [29].

II.2.2.5. Druglikeness :

Des règles empiriques ont été développés pour prédire plusieurs propriétés des molécules à savoir : la Lipophilicité ($\log p$), la masse moléculaire (MW), le nombre de liaisons hydrogènes donneurs et accepteurs (HBD et HBA), le nombre de liaisons rotatives (ROTB), surface polaire (PSA), fraction de carbones sp^3 [FSP3], nombre de cycles aromatiques (AROM) et le coefficient de dissociation acide (pK_a). Les critères de ces propriétés ont été liés à une gamme variée de résultats, y compris la biodisponibilité orale, la sécurité, la « développabilité » et le succès clinique [30].

3. Résultats et discussion :

3.1. Docking moléculaire :

Une étude d'amarrage moléculaire a été menée pour les vingt-deux dérivés de phtalimido-1,3-thiazoles avec les gènes de 5'-nucléotidase cytosolique II et le domaine kinase ABL1 humaine standards respectivement dans les structure des protéines 6DDQ et 4WA9.

Les résultats d'énergie totale des liaisons des complexes amarrés avec leurs distances, les types d'interactions, les résidus clés, et les atomes impliqués dans les composés et les récepteurs pour les deux cibles 6DDQ et 4WA9, sont résumés dans les tableaux III.6 et III.7.

D'après A. Imberty et al [31], les interactions comprises entre 2.5 Å et 3.1Å sont considérées comme fortes et celles comprises entre 3.1Å et 3.55Å sont supposées moyennes. Les interactions supérieures à 3.55Å sont faibles.

L'analyse des résultats obtenus par le docking moléculaire est basée sur l'énergie score des complexes étudiée et leurs stabilités afin de déterminer les meilleurs inhibiteurs des enzymes étudiées.

3.1.

3.1.1. Cas de l'enzyme 6DDQ :

Dans les interactions ligands-site actif d'enzyme 6DDQ, on intéresse d'étudier des 15 ligands, puisque ces derniers donnent divers types d'interactions à savoir : des liaisons hydrogène (H-donneur et H-accepteur) et les interactions de type Pi-H.

L'énergie libre score S (Kcal/mol) des interactions entre les ligands et la protéine 6DDQ étaient de l'ordre de (-6.396, -4.236) comme rapportées dans le tableau III.6.

Le ligand Co-cristallisé EDO présentait deux interactions de liaison avec la cavité de récepteur 6DDQ, les liaisons donneuses d'hydrogènes vers Asp 431(2,88 Å) et Asp 431(2,91 Å).

Les six premiers dérivés montrant la meilleure affinité, à savoir : L21, L18, L16, L17, L19 et L20 donnent un score de - 6,39, - 6.37, - 6.03, - 5,76. - 5.75 et -5.595 (kcal/mol), respectivement.

Ces composés ont donnés une meilleure affinité de liaison avec le récepteur 6DDQ par rapport au ligand de référence standard ($S = -3.5723$ kcal/mol) (tableau III.6). On peut classer l'affinité des ligands cités précédemment avec le récepteur 6DDQ comme suit : **L21 > L18 > L16 > L17 > L19 > L20.**

L20 et L18 ont donnés les meilleurs scores énergétiques par rapport à d'autres ligands de - **6.3960** et **-6.3761** kcal/mol. Ces deux valeurs sont très proches. Ces valeurs indiquant que ces complexes est plus stables même que le ligand natif.

Tableau III.6 : Score d'amarrage et interactions entre les composés et les résidus d'acides aminés du site actif de la cible 6DDQ

complexe	E score en [kcal/mol]	RMSD	Liaisons entre les atomes des résidus du site actif et les ligands					
			Atome de Ligand	Les atomes impliqués au récepteur	Les résidus impliqués au récepteur	Type de liaison et d'interactions	Distance (Å)	E en (Kcal/mol)
Ligand de réf (EDO)	-3.5723	1.3708	O1. 4	OD2	Asp 431	H-donneur	2.88	-1.6
			O2. 9	OD2	Asp 431	H-donneur	2.91	-4.2
L1	-4,4116	5.3917	/	/	/	/	/	/
L2	-4,7304	5,2832	S. 21	O	PHE. 389	H- donneur	4,20	-0.8
L3	-5.0404	4.8494	5-ring	CE2	PHE 389	Pi-H	4.39	-0.6
L4	-5,3928	4,7872	6-ring	CB	PHE 389	Pi-H	4.37	-0.6
L5	-5.4974	5.8293	N 38	OD2	ASP 431	H-donor	3.31	-1.2
			O 40	SD	MET 430	H-donor	3.71	-0.7
			O 37	N	GLY 444	H-acceptor	3.29	-0.7
			C 2	6-ring	TRP 382	H-Pi	4.58	-0.8
			6-ring	CB	PHE 389	Pi-H	4.1	-0.7
L6	-5.3526	5.1247	6-ring	NZ	LYS 424	Pi-cation	4.55	-1.3
L7	-4.7217	5.8694	/	/	/	/	/	/
L8	-4.7132	5.6464	6-ring	CD	LYS 424	Pi-H	3.9	-0.6

			6-ring	NZ	LYS 424	Pi-cation	4.24	-0.6
L9	-5.1323	2.3072	/	/	/	/	/	/
L10	-4.7635	2.6150	/	/	/	/	/	/
L11	-5.1219	3.0550	O 13	SD	MET 430	H-donneur	4.13	-0.6
			O 24	SD	MET 430	H-donneur	3.39	-0.1
L12	-4.7189	4.2766	/	/	/	/	/	/
L13	-4.2787	6.2382	S 21	OG1	THR 427	H-donneur	4.19	-0.8
			N 25	OD2	ASP 396	H-donneur	3.14	-2.1
			N 27	OD2	ASP 396		3.11	-3.3
L14	-4.2363	4.4984	/	/	/	/	/	/
L15	-4.9006	2.6174	/	/	/	/	/	/
L16	-6.0369	3.8246	/	/	/	/	/	/
L17	-5.7619	3.0637	5-ring	CD1	LEU 392	Pi-H	4.12	-0.8
L18	-6.3761	4.0336	N 15	OD1	ASP 431	H-donor	2.99	-4.2
			O 53	SD	MET 430	H-donor	3.91	-1.9
			5-ring	CD	SER 445	Pi-H	4.09	-0.7
L19	-5.7576	1.8524	6-ring	CG2	VAL 120	Pi-H	4.19	-0.6
			5-ring	CA	GLY 444	Pi-H	4.86	-0.9
L20	-5.5955	4.0804	O 13	NH2	ARQ 442	H-acceptor	2.9	-2.4
			6-ring	CD	LYS 424	Pi-H	4.28	-0.7
			6-ring	CD	LYS 424	Pi-H	4.22	-0.9
			6-ring	NZ	LYS 424	Pi-cation	4.49	-1.5
			6-ring	NZ	LYS 424	Pi-cation	4.19	-2.3
			5-ring	N	SER 445	Pi-H	4.79	-1.5
			5-ring	CA	SER 445	Pi-H	3.82	-0.9
L21	-6.3960	3.4106	5-ring	CD1	LEU 391	Pi-H	4.16	-0.7
L22	-5.4150	3.6201	6-ring	CG2	VAL 120	Pi-H	4.01	-0.7
			5-ring	CA	GLY 444	Pi-H	4.77	-0.3

3.1.2. Cas de l'enzyme 4WA9 :

Les scores d'énergie libre S d'enzyme 4WA9 (Kcal/mol) étaient de l'ordre de (- 8,31, - 6,10) et sont représentés dans les tableaux III.7.

Dans les interactions ligands-site actif d'enzyme 4WA9 on s'intéresse à l'étude de 17 ligands puisque ces derniers présentent divers types d'interactions à savoir : liaisons hydrogènes (H-donneur et H-accepteur) et les interactions de type Pi-H et H-Pi.

Le ligand natif possède trois types d'interactions avec le site actif d'enzyme **4WA9** : une liaison hydrogène donneuse vers GLU 316, une liaison hydrogène H-accepteur vers MET 318 et une interaction de type Pi-H vers LEU 248.

Mais au contraire de 6DDQ le ligand de référence AXI est plus stable que les complexes formés dans ce cas (4WA9) avec un score S de **-8,5365** kcal / mol.

Les six meilleurs composés sont ordonnés selon leurs affinité à la formation des complexes stables avec l'enzyme 4WA9 comme suit : **L22> L19> L21> L20> L18> L17** avec des scores d'énergies respectifs -8.31, -8.29, -8.20, -8.00, -7.81 et -7.77 (kcal/mol).

L22 donne la meilleure énergie score par rapport aux autres composés (**-8.31** kcal/mol).

Les résultats de docking moléculaire des ligands et l'enzyme 4WA9 sont représentés dans le tableau **III.7**

Tableau III.7 : Score d'amarrage et interactions entre les composés et les résidus d'acides aminés du site actif de la cible 4WA9

Complexe	Score (kcal/ mol)	RMSD	Liaisons entre les atomes des composés et les résidus du site actif					
			Atome de composé	Les atomes impliqués au récepteur	Les résidus impliqués au récepteur	Type de liaison et d'interactions	Distance en (Å)	E en (Kcal/mol)
Ligand de réf	-8,5365	0,8280	N15 28	O	GLU 316(A)	H-donor	2,98	-4,8
			N14 30	N	MET 318(A)	H-acceptor	3,06	-4,3
			6-ring	CD1	LEU 248(A)	Pi-H	4,00	-0,7
L1	-6,7649	3,3661	S 21	O	GLU 316(A)	H-donor	4,03	-0,6
			5-ring	CG2	VAL 256 (A)	Pi-H	4,59	-0,8
L2	-6,7649	3,3661	C24	6-ring	TYR 253	H-Pi	3,71	-0,7
			6-ring	CG2	VAL 256	Pi-H	3,82	-0,8
L3	-8,5354	1,4234	N15 28	O	GLU 316(A)	H-donor	2,98	-4,8
			N14 30	N	MET 318(A)	H-acceptor	3,06	-4,3
			6-ring	CD1	LEU 248(A)	Pi-H	4,01	-0,7
L4	-6,5948	3,4573	6-ring	CG2	VAL 256(A)	Pi-H	4,49	-0,8
L5	-6,9472	1,2643	C 26	6-ring	TYG 253(A)	H-Pi	4,01	-0,6
			N 38	6-ring	TYG 253(A)	H-Pi	4,59	-0,7
			6-ring	CG2	VAL 256(A)	Pi-H	4,52	-0,6
			5-ring	CG2	THR 315(A)	Pi-H	3,77	-1,1
L6	-6,5007	5,5040	6-ring	CG2	VAL 256(A)	Pi-H	4,39	-0,7
			5-ring	CB	PHE 386(A)	Pi-H	4,29	-1,3
L7	-6,2328	3,3925	/	/	/	/	/	/
L8	-6,4048	1,4095	C24	6-ring	TYR 253	H-Pi	4,20	-0,7
			6-ring	CG2	VAL 256	Pi-H	4,66	-0,6

L9	-6,3325	1,9027	/	/	/	/	/	/
L10	-6,2607	1,4649	/	/	/	/	/	/
L11	-6,1075	2,8778	5-ring 6-ring	CD CD1	LYS 271(A) PHE 382(A)	Pi-H Pi-H	4,14 3,95	-1,4 -0,7
L12	-7,0541	1,3864	N 18 N 15	N 6-ring	MET 318(A) PHE 317(A)	H-acceptor H-Pi	3,53 4,27	-1,6 -0,6
L13	-6,5164	1,3431	5-ring	CG1	VAL 256(A)	Pi-H	4,45	-0,6
L14	-6,8250	3,1918	S 28 S 28 N 25	CA N 6-ring	PHE 317 (A) MET 318(A) TYR 253(A)	H-acceptor H-acceptor H-Pi	4,20 3,36 4,58	-0,9 -4,9 -1,8
L15	-6,5319	2,7179	/	/	/	/	/	/
L16	-7,7261	1,9937	N 18 6-ring 6-ring	N CA N	MET 318[A] TYR 253(A) GLY 254(A)	H-acceptor Pi-H Pi-H	3,48 3,88 4,46	-2,1 -0,8 -1,0
L17	-7,7702	1,6201	N 18 6-ring	N N	MET 318[A] GLY 254	H-acceptor Pi-H	3,50 4,53	-1,9 -0,9
L18	-7,8131	2,9702	S 35 N 50 5-ring	O O 6-ring	GLU 316 GLU 249 PHE 382	H-donor H-donor Pi-H	4,16 2,90 3,94	-0,6 -7,1 -0,6
L19	-8,2948	3,1714	/	/	/	/	/	/
L20	-8.1294	3,0072	6-ring 6-Ring	CD2 CD2	LEU 248 LEU 248	Pi-H Pi-H	4.26 4.32	-0.7 -0,7
L21	-8,2012	2,3408	/	/	/	/	/	/
L22	-8,3142	2,5589	5-ring	CD	LYS 271	Pi-H	4,15	-0,6

3.2. . Simulation par dynamique moléculaire :

Les études DM sont utilisées pour élucider le comportement dynamique du complexe cible-ligand tout au long du temps de simulation. La flexibilité du récepteur et du ligand est incorporée dans les simulations DM permettant une optimisation supplémentaire de la conformation du ligand extraite des études de docking moléculaire.

Une étude de simulation DM a été réalisée sur 12 complexes formés entre les ligands et les deux cibles 6DDQ et 4WA9, afin d'examiner la stabilité de liaison du complexe cible-ligand dans des conditions physiologiques.

Les complexes obtenus à partir de docking moléculaire sont utilisés comme entrée dans le processus de simulation pour des intervalles de temps de 600 ps chacun, et la valeur de l'énergie potentielle a été collectée toutes les 0,5 ps. Les résultats obtenus sont représentés par des courbes de l'énergie potentielle U (Kcal/mol) en fonction du temps de simulation (ps) pour les complexes 6DDQ-ligands et 4WA9-ligands.

3.2.1. Interactions ligands- site actif de 6DDQ :

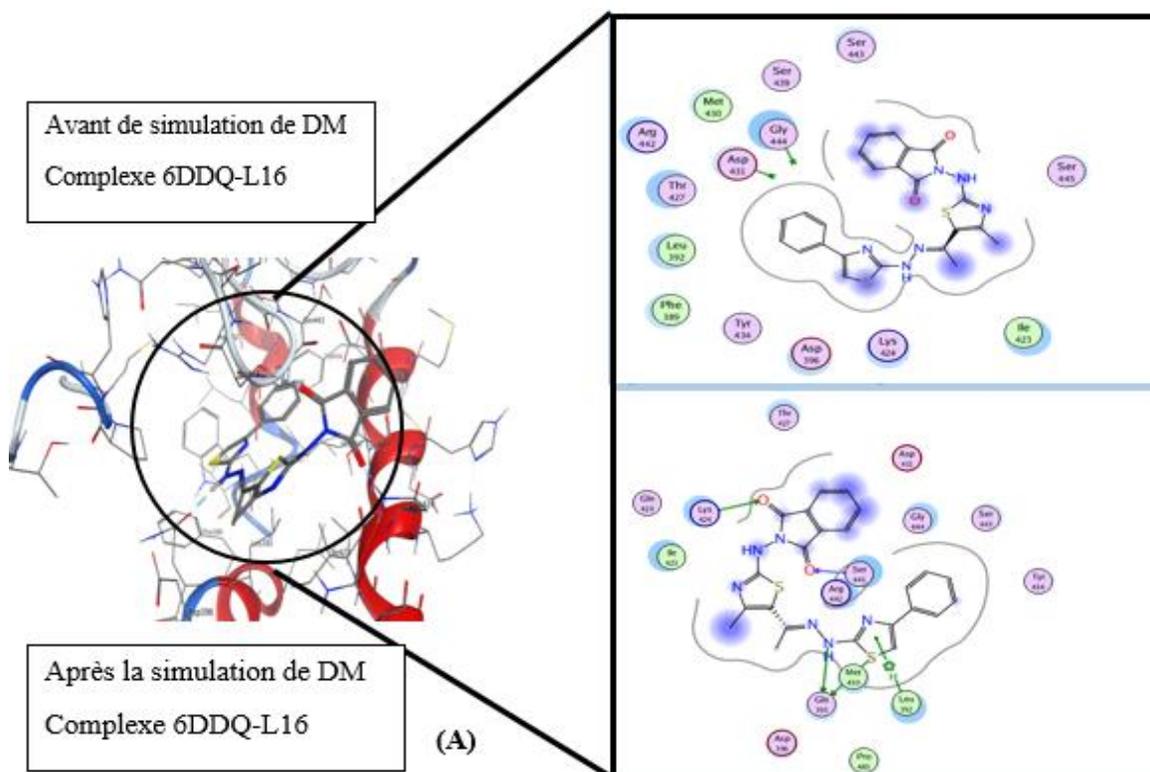
Dans le complexe 6DDQ-L16, le ligand L16 forme trois liaisons H-accepteur avec les résidus LYS 424, SER 445 et SER 445 de longueurs 2.45Å , 2.98Å et 2.56Å respectivement. Ces liaisons sont assez fortes. Deux liaisons de type H-donneur sont formées également avec GLN 393 de longueurs 2.66Å et 3.42Å . En revanche, une interaction de type Pi-H a été formée avec LEU 392 de distance 3.93Å . Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure III.4 (A)**.

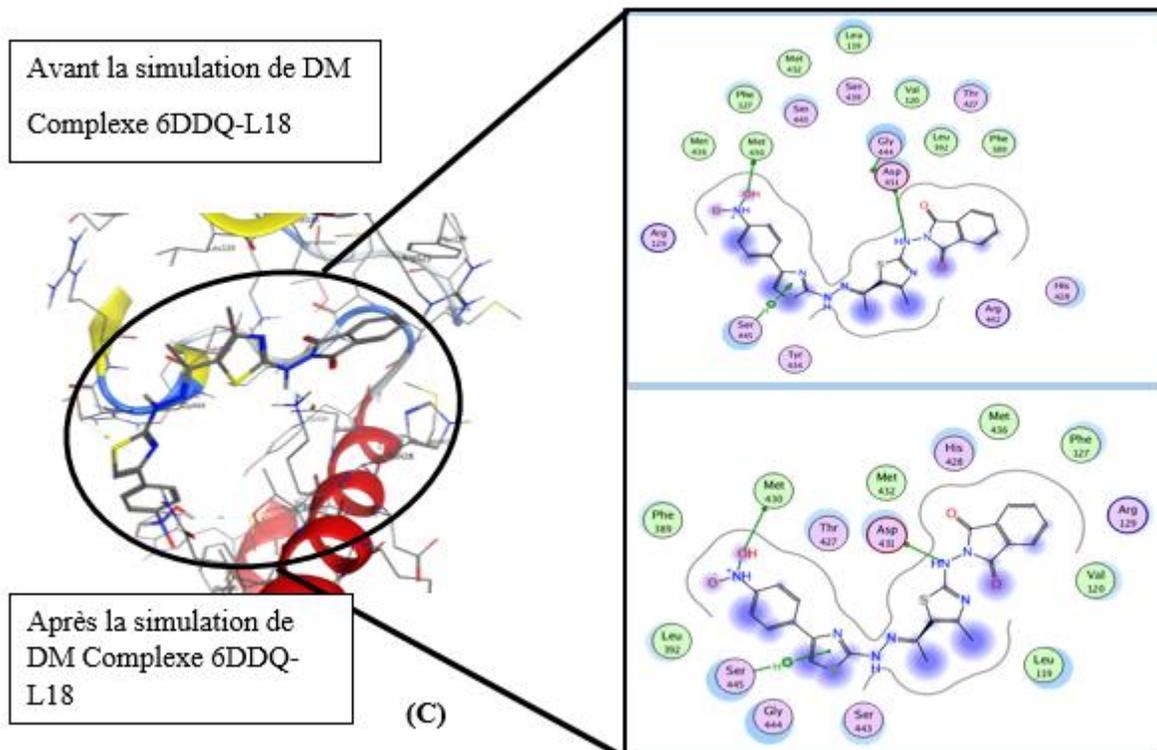
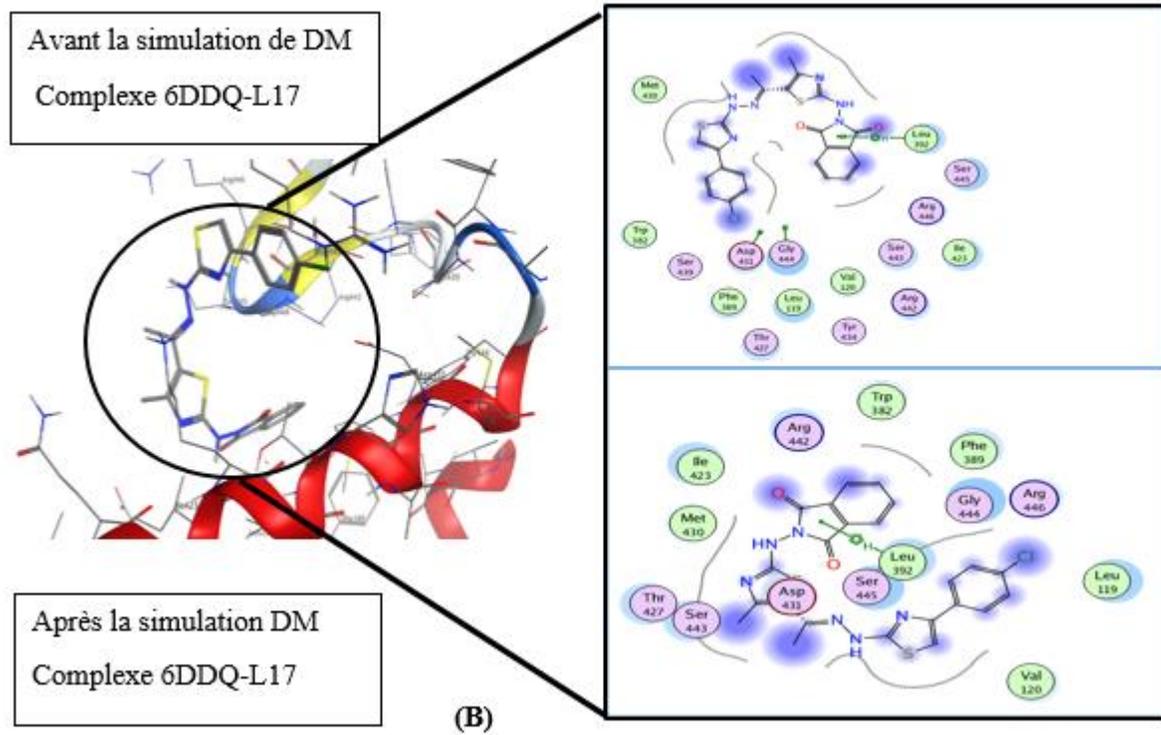
De plus, il y n'a pas de nouvelles liaisons formées dans le complexe L17-6DDQ, sauf une faible interaction Pi-H avec LEU 322 (4.22Å), comme illustré dans la **figure III.4. (B)**. Et C'est la même qui apparaît dans le docking moléculaire.

La même chose concernant le complexe L18-6DDQ qui présente les mêmes interactions résultantes de docking moléculaire, deux liaisons H-donneur formées avec ASP 431 et MET 430 (2.93Å , 3.91Å). Le ligand L19 forme une nouvelle liaison H-donneur avec ASP 431 (3.54Å) et on remarque la disparition de deux interactions faibles Pi-H avec VAL 120 et GLY 444. **figure III.4. (C), (D)**

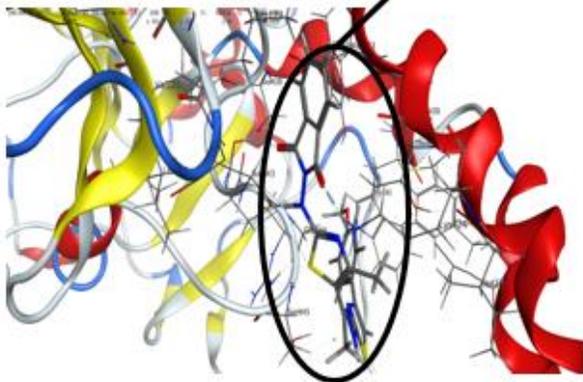
Le plus important dans le complexe 6DDQ-L20 c'est la formation de plusieurs interactions entre le ligand et les résidus de site actif de l'enzyme. Deux faibles interactions Pi-H avec le LYS 424 (4.28\AA 4.22\AA), une forte interaction de type H-accepteur avec ARG 442 (2.9\AA), deux interactions assez faibles de type Pi-H avec SER 445 (4.79\AA 3.82\AA) et deux interactions faibles Pi-Cation avec LYS 424 (4.49\AA 4.19\AA). Pi-cation est une interaction entre un système π du composé et une forme cationique d'acide aminé LYS 424. **figure.III.4. (E)**

Le complexe L21 forme trois interactions avec des différents résidus d'acides aminés : une liaison forte H-donneur avec ASP 396 (2.59\AA), une liaison forte H-accepteur avec LYS 424 (2.56\AA) et une faible interaction Pi-H avec HIS 428 (4.08\AA). **Figure III.4. (F)**



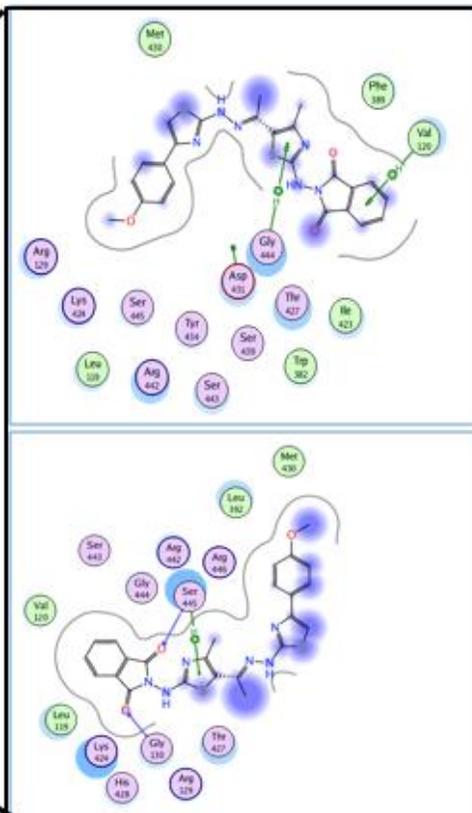


Avant la simulation de DM
Complexe 6DDQ-L19

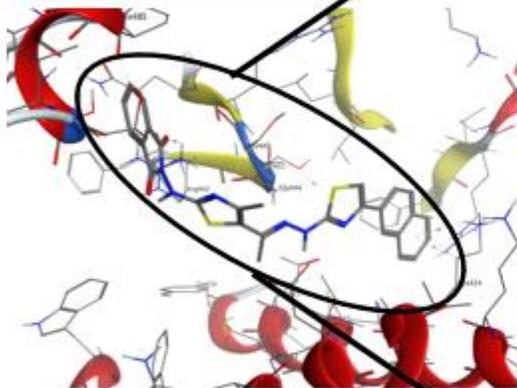


Après la dynamique de
complexe 6DDQ-L19

(D)

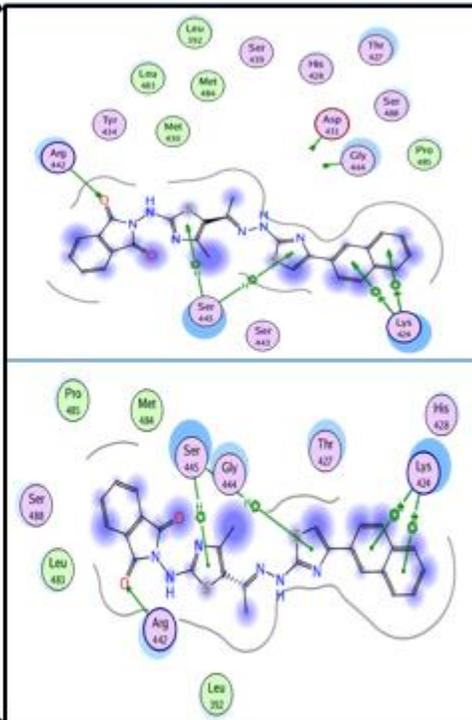


Avant la simulation de DM
Complexe 6DDQ-L20



Après la dynamique de complexe
6DDQ-L20

(E)



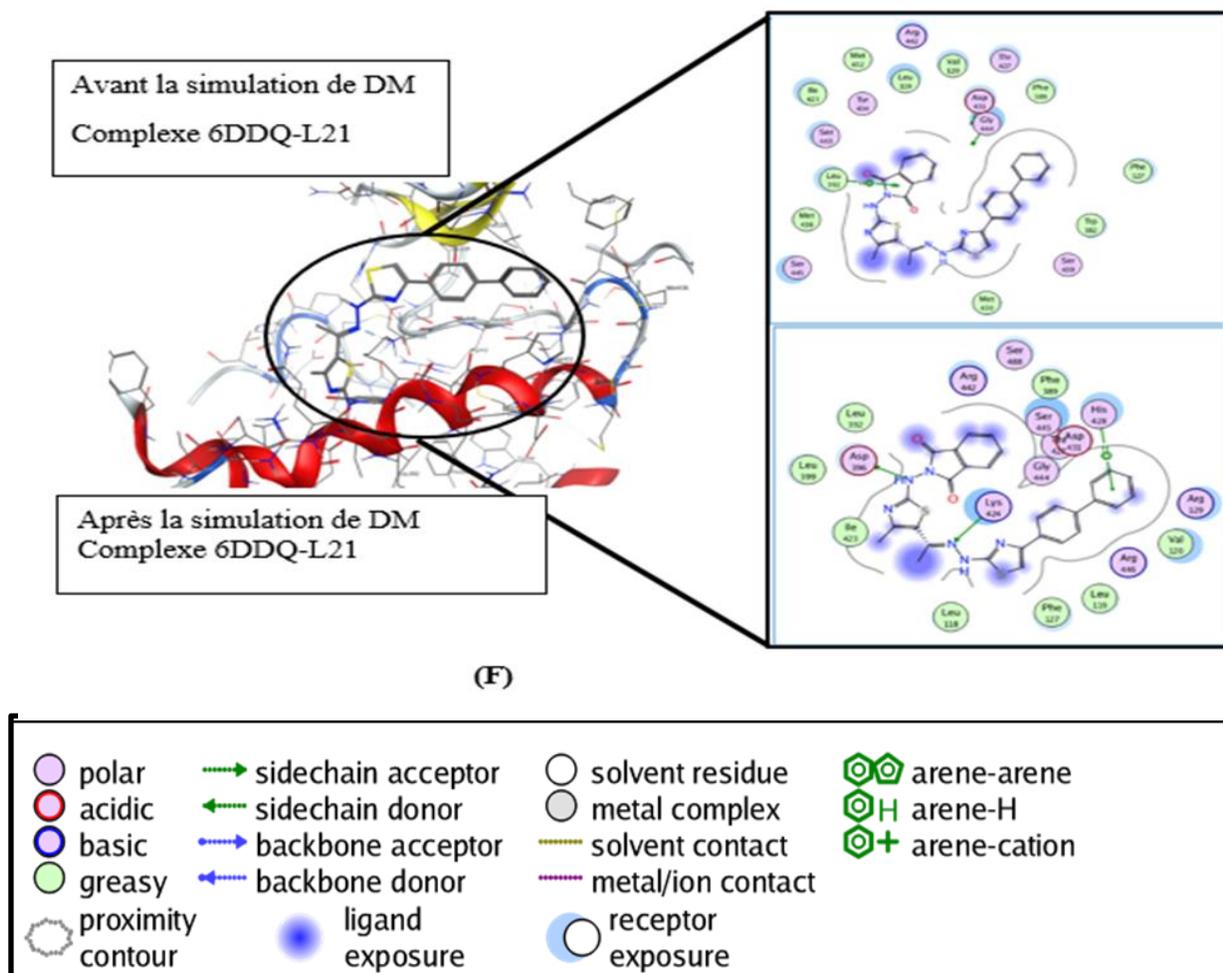


Figure III.4 : Représentation des différentes interactions avant et après la simulation par la dynamique moléculaire entre les six meilleurs ligands (scoring) et le site actif de 6DDQ.

- (A) : interactions par le docking et la dynamique de complexe L16-6DDQ.
- (B) : interactions par le docking et la dynamique de complexe L17-6DDQ.
- (C) : interactions par le docking et la dynamique de complexe L18-6DDQ.
- (D) : interactions par le docking et la dynamique de complexe L19-6DDQ.
- (E) : interactions par le docking et la dynamique de complexe L20-6DDQ.
- (F) : interactions par le docking et la dynamique de complexe L21-6DDQ.

Tableau III.8 : Résultats d'étude par la dynamique moléculaire de top- scoring des six ligands dans le site actif de 6DDQ

Complexe	Liaisons formées entre les ligands et les résidus du site actif					
	Atome de composé	Les atomes impliqués au récepteur	Les résidus impliqués au récepteur	Type de liaison et d'interaction	Distance (Å)	E (Kcal/mol)
L16-6DDQ	N25	OE1	GLN 393	H-Donneur	2.66	-5.00
	S35	OE1	GLN 393	H-donneur	3.42	-1
	O13	NZ	LYS 424	H-accepteur	2.45	1.5
	O14	N	SER 445	H-accepteur	2.98	-3.1
	O14	OG	SER 445	H-accepteur	2.56	-2
	5-ring	CD1	LEU 392	Pi-H	3.93	-0.6
L17-6DDQ	5-ring	CD1	LEU 322	Pi-H	4.22	-0.8
L18-6DDQ	N15	OD1	ASP 431	H-donneur	2.93	-4.2
	O53	SD	MET 430	H-donneur	3.91	-1.9
	5-ring	CB	SER 445	Pi-H	4.02	-0.7
L19-6DDQ	C4	OD1	Asp 431	H-Donneur	3.54	-0.9
L20-6DDQ	O 13	NH3	ARG 442	H-accepteur	2.9	-2.4
	O13	CD	LYS 424	Pi-H	4.28	-0.7
	6-ring	CD	LYS 424	Pi-H	4.22	-0.9
	6-ring	NZ	LYS 424	Pi-H	4.49	-1.5
	6-ring	NZ	LYS 424	Pi-cation	4.19	-2.3
	6-ring	N	LYS 424	Pi-cation	4.79	-1.5
	5-ring	N	SER 445	Pi-cation	3.82	-0.9
L21-6DDQ	N 45	OD1	ASP 396	H-donneur	2.59	-7.5
	N 8	NZ	LYS 424	H- accepteur	2.65	-3.9

	6-ring	CD2	HIS 428	Pi-H	4.08	-0.9
--	--------	-----	---------	------	------	------

3.2.2. Courbes de dynamique moléculaire des top-six ligands liés à la protéine 6DDQ :

La figure **III.5** montre une variation de l'énergie potentielle en fonction du temps lors de la simulation par la dynamique moléculaire pour les complexes 6DDQ-L16, 6DDQ-L17, 6DDQ-L18, 6DDQ-L19, 6DDQ-L20 et 6DDQ-L21.

Le complexe 6DDQ-L16 présente une variation d'énergie potentielle de 5800 à 4700 Kcal/mol au cours des premières 100 picosecondes. Une variation de 4700 à 4500 Kcal/mol dans l'intervalle de (100-350) Ps. Ensuite, dans l'intervalle de (350-600) Ps par une variation de 4500 à 4300 Kcal/mol.

L'énergie potentielle de complexe 6DDQ-L17 dans les premières 100 picosecondes varie de 5800 à 4490 Kcal/mol. Dans l'intervalle de (100-350) Ps, U varié de 4490 à 4570 Kcal/mol dans le dernier intervalle l'énergie varie de 4570 à 4280 Kcal/mol

Le complexe 6DDQ-18 montre une variation d'énergie potentielle de 5880 à 4600 Kcal/mol dans le premier intervalle (0-100) Ps, en suite une variation de 4500 à 4220 Kcal/mol dans le deuxième intervalle. L'énergie U dans l'intervalle de (350-600) Ps varie de 4220 à 4100 Kcal/mol.

Le quatrième complexe 6DDQ-L19 dans le premier intervalle du temps (0-100) pic seconde a une énergie potentielle entre 7900 à 4880 Kcal/mol et dans (100-350) Ps L'U varie de 4880 à 4300 Kcal/mol.

Les derniers complexes 6DDQ-L20 et 6DDQ-L21 présentent presque les mêmes variations d'énergie potentielle de 5800 à 4750 Kcal/mol au domaine des premières 100 pico secondes et U de 4750 à 4450 Kcal/mol, Dans l'intervalle de (100-350) Ps au (350-600) l'énergie U des deux complexes varie de 4450 à 4420 kcal/mol pour le 6DDQ-L20 et à 4250 Kcal/mol pour 6DDQ-L21.

Les courbes tracées de l'énergie potentielle en fonction du temps montrent une variation d'énergie jusqu'à ce que la stabilité soit atteinte, où l'énergie devient relativement constante. Ces courbes montrent que l'énergie potentielle devient stable après 600 ps.

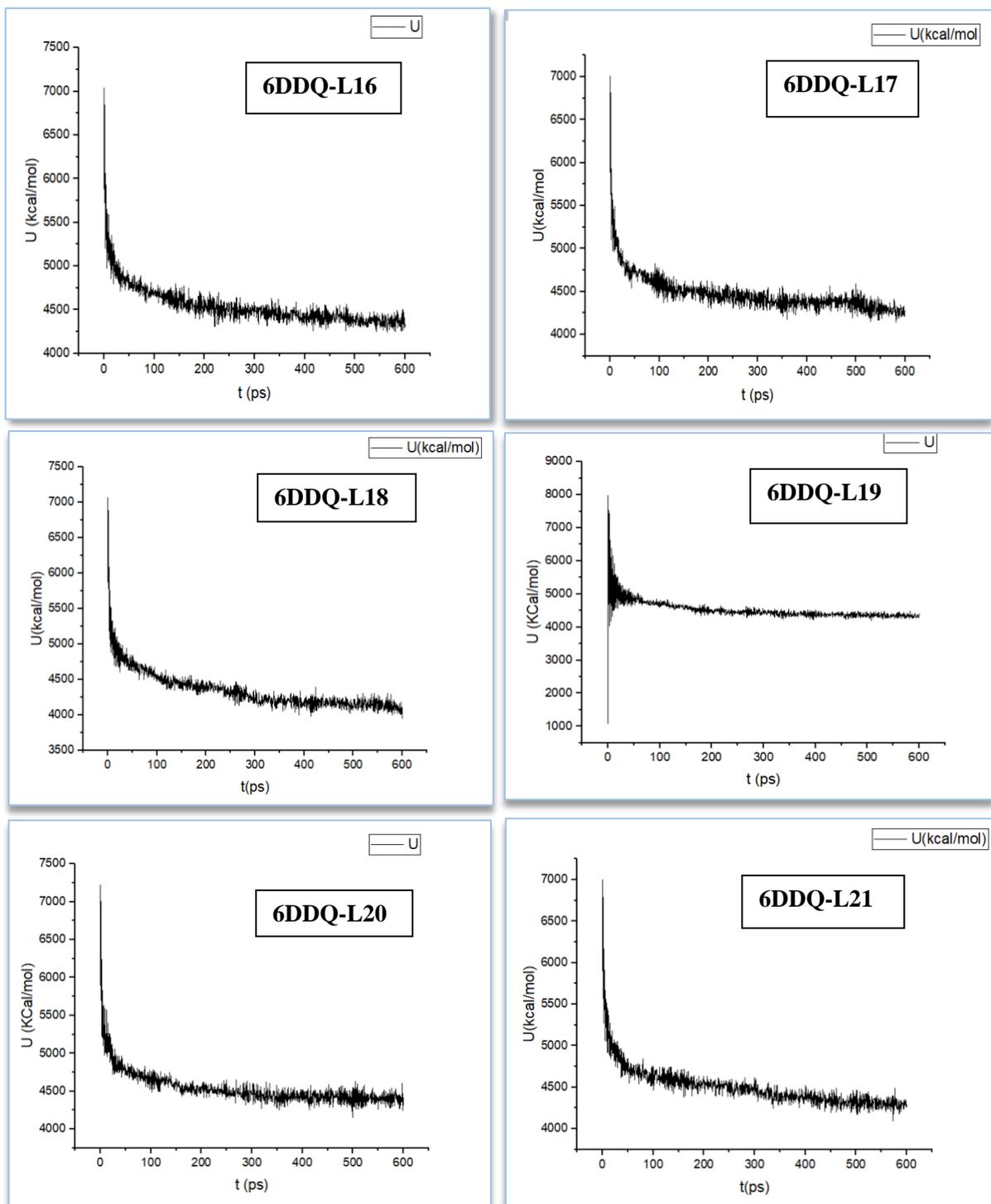


Figure 5: Evaluation de l'énergie potentielle des six complexes de l'enzyme 6DDQ en fonction du temps

3.2.3. Les interactions ligands-site actif de 4wa9 :

Dans le complexe 4WA9-L17, le ligand L17 forme une liaison faible avec le récepteur 4WA9, De type Pi-H avec le résidu GLY 321 (3.49Å) une liaison forte H-accepteur avec le résidu MET 318 (2.84Å), une liaison forte de type H-donneur avec GLU 316 de longueur (2.93 Å), des interactions faibles de type Pi-H avec VAL 256 (4,39Å) et avec PHE 382 (3.73 Å) .**Figure III.6. (A).**

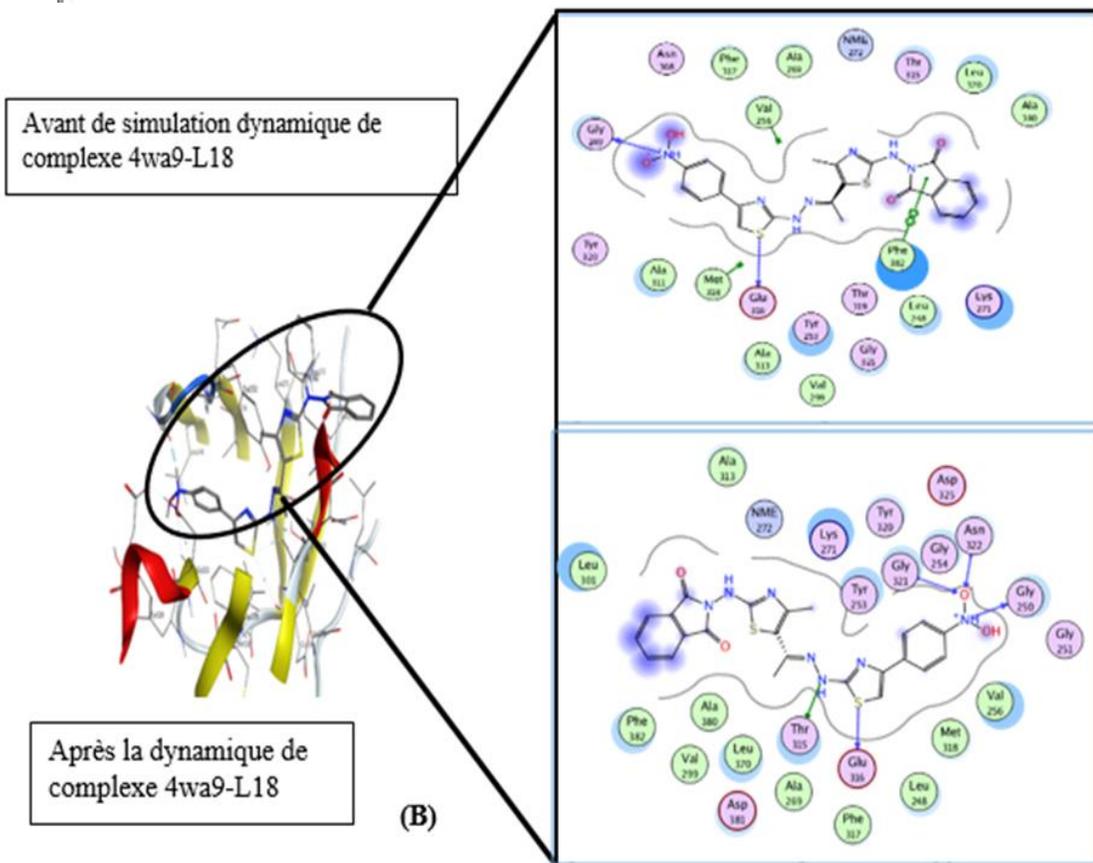
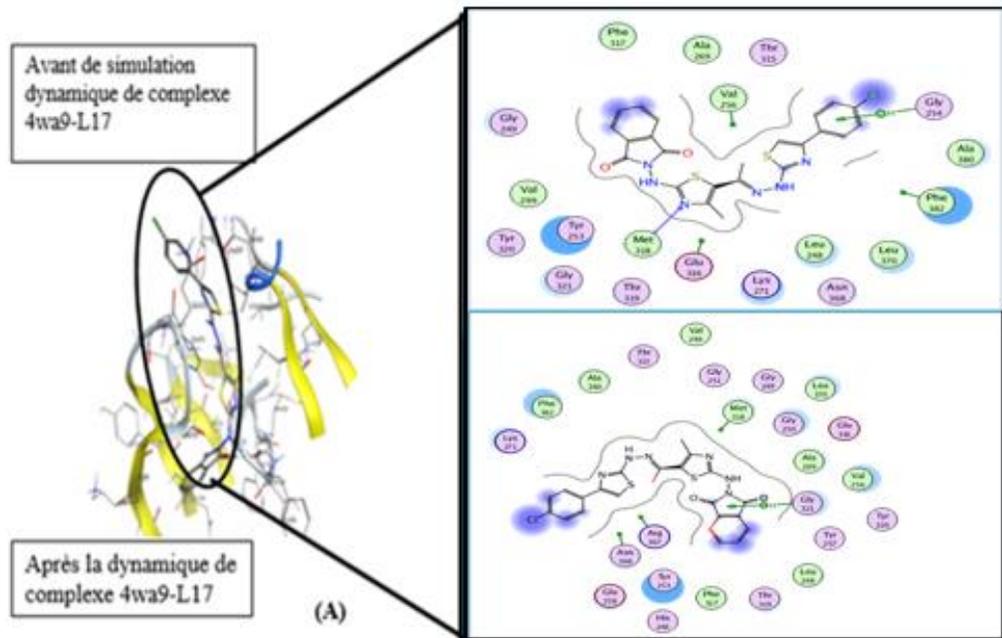
Le complexe 4WA9-L18 présente trois nouvelles liaisons H-donneur : deux liaisons fortes avec THR 315 et GLY 250 de longueurs 2,76 Å et 2,51 Å ; une faible liaison avec le résidu GLU 316 de longueur 3,60 Å. On remarque aussi, une formation de deux autres liaisons faibles H-accepteur avec GLY 321 et ASN 322 de longueurs 3,44 Å. 3,23 Å. On remarque également la formation d'une liaison forte H-accepteur avec ASN 322 de distance (2,68 Å). **Figure III.07. (B).**

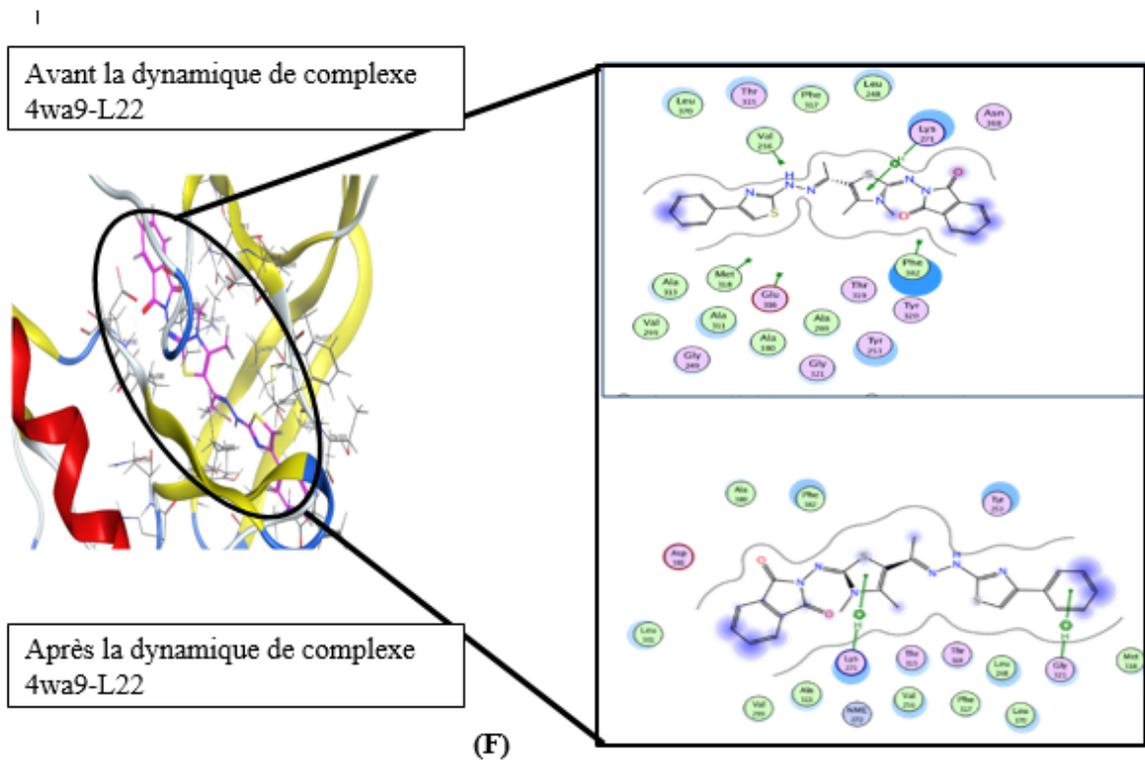
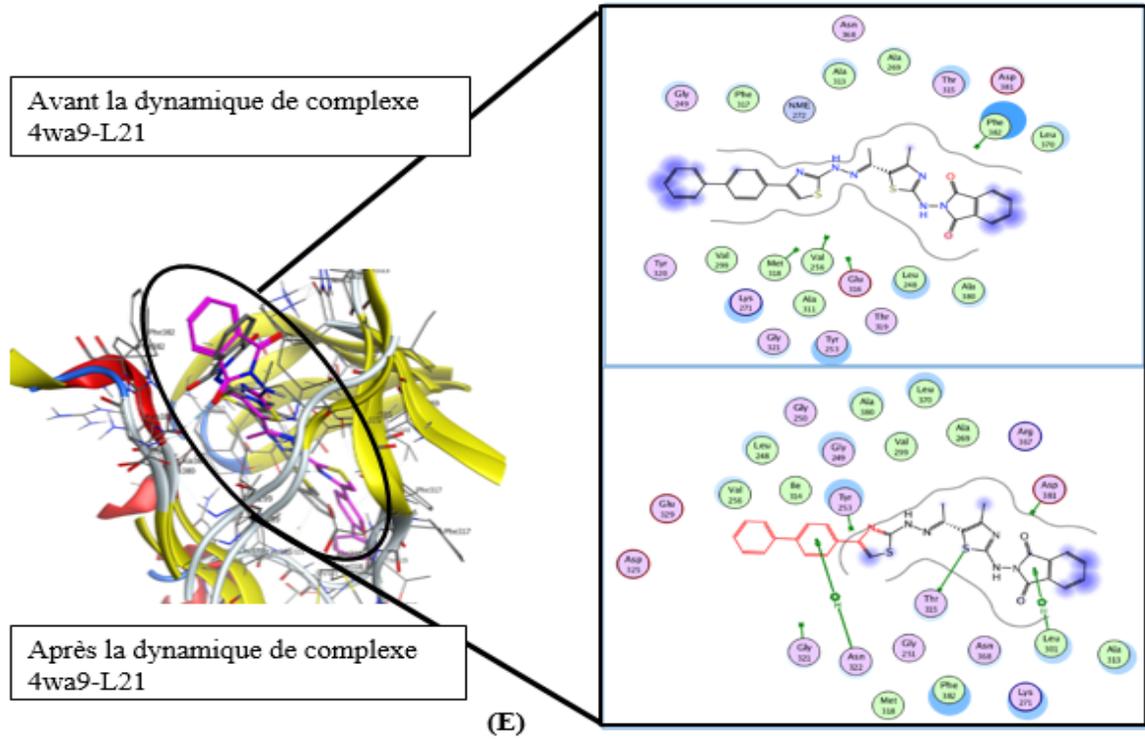
Le complexe 4WA9-L19 présente deux liaisons H-donneur avec ASP 381 et MET 318 (2,66 Å, 3,38Å) est deux liaisons H-accepteur avec THR 315 et TYR 253 (2,75 Å et 3,00Å).**Figure.III.6. (C)**

Le complexe 4WA9-L20 représente plusieurs interactions : deux liaisons H-donneur avec THR 315 (2,82Å, 3,55Å) et deux liaisons fortes de type H-accepteur avec NME 272, TYR 253 de (2,73Å, 2,64Å). On remarque une disparition de trois interactions de type Pi-H avec LEU 248, VAL 256, GLY 321 après la simulation de dynamique moléculaire.**figure.III.6. (D)**

Dans le complexe 4WA9-L21, on remarque la formation de trois interactions faibles de type Pi-H avec le LEU 301, ASN 322 (4,31Å 4,00Å 3,97 Å) et une liaison faible H-donneur avec THR 315 (4,05Å). En effet, ce complexe ne présente aucune interaction après le docking moléculaire. **Figure.III.6. (E)**

Le complexe 4WA9-L22 présente deux interactions faibles de type Pi-H avec LYS 271 et GLY 321, (3,90Å, 3,97Å). **Figure.III.6. (F)**





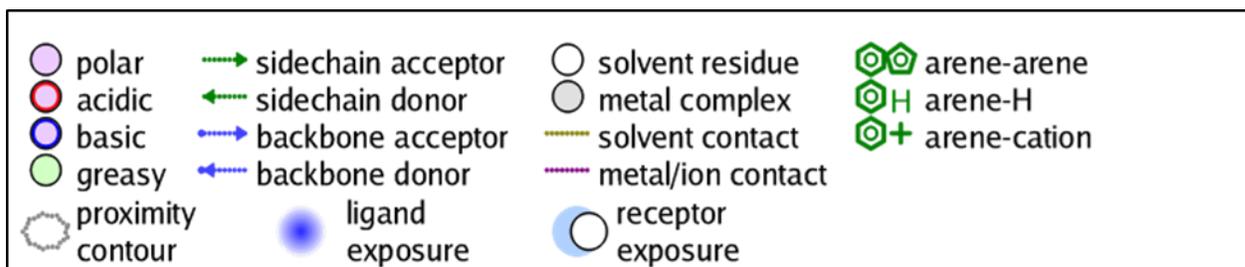


Figure III.6 : Représentation des différentes interactions avant et après la simulation par la dynamique moléculaire entre les tops six ligands (scoring) et le site actif de 4WA9.

- (A) : interactions par docking et dynamique du complexe L17-4WA9
- (B) : interactions par docking et dynamique du complexe L17-4WA9
- (C) : interactions par docking et dynamique du complexe L17-4WA9
- (D) : interactions par docking et dynamique du complexe L17-4WA9
- (E) : interactions par docking et dynamique du complexe L17-4WA9
- (F) : interactions par docking et dynamique du complexe L17-4WA9.

Tableau III.9 : Résultats de dynamique moléculaire de top- scoring des six ligands dans le site actif de 4WA9

Complexe	Les liaisons formées entre les ligands et les résidus du site actif.					
	L'atome de composé	Les atomes impliqués au récepteur	Les résidus impliqués au récepteur	Type de liaison d'interactions	Distance (Å)	E (Kcal/mol)
4wa9-L 17	5-ring	CA	GLY 321	Pi-H	3,49	-0,8
4wa9-L 18	N 25	OG1	THR 315	H-donor	2,76	-2,7
	S 35	O	GLU 316	H-donor	3,60	-0,7
	N 50	O	GLY 250	H-donor	2,51	-3,8
	O 52	CA	GLY 321	H-acceptor	3,44	-0,9

	O 52	N	ASN 322	H-acceptor	3,23	-1,9
	O 52	ND2	ASN 322	H-acceptor	2,68	-6,6
4wa9-L 19	N 15	OD1	ASP 381	H-donor	2,66	-7,8
	C 36	O	MET 318	H-donor	3,38	-0,8
	O 13	OG1	THR 315	H-acceptor	2,75	-2,0
	N 37	OH	TYR 253	H-acceptor	3,00	-1,0
4wa9-L 20	N 15	OG1	THR 315	H-donor	2,82	-4,0
	S 21	OG1	THR 315	H-donor	3,55	-1,3
	O 14	N	NME 272	H-acceptor	2,73	-3,0
	N 37	OH	TYR 253	H-acceptor	2,64	-2,2
	6-ring	CD1	LEU 248	Pi-H	4,52	-0,6
	5-ring	CG1	VAL 256	Pi-H	4,65	-0,6
	6-ring	CA	GLY 321	Pi-H	4,49	-1,1
4wa9-L 21	S 5	OG1	THR 315	H-donor	4,05	-0,6
	5-ring	CD1	LEU 301	Pi-H	4,31	-0,6
	6-ring	CB	ASN 322	Pi-H	4,00	-1,2
	6-ring	ND2	ASN 322	Pi-H	3,97	-0,8
4wa9-L 22	5-ring	CG	LYS 271	Pi-H	3,90	-1,2
	6-ring	CA	GLY 321	Pi-H	3,97	-0,9

3.2.4. Courbes de dynamique moléculaire des top-six ligands liés à la protéine 4WA9 :

La variation de l'énergie potentielle en fonction du temps des complexes 4WA9-L17, 4WA9-L18, 4WA9-L19, 4WA9-L20, 4WA9-L21, 4WA9-L22 lors de la simulation de la dynamique moléculaire est représentée dans la figure III.7.

Le complexes 4WA9-L17 a une variation d'énergie potentielle de -75,12 à 2392 kcal/mol au cours des premières 100 Pico secondes.

Nous notons également une variation de l'énergie potentielle : 2400 à 2342 kcal / mol dans la deuxième partie de l'intervalle entre 100 et 350 picosecondes, et finalement, dans le dernier intervalle entre 350 et 600 picoseconde, nous avons une variation d'énergie potentielle de 2290 à 2218 kcal / mol.

Mais dans le complexe 4WA9-L18, l'énergie potentielle est de -169,91 à 2373 kcal / mol au cours des premières 100 Picosecondes Dans la deuxième partie de l'intervalle entre 100 et 350 picosecondes, il y a une variation de l'énergie potentielle de 2373 à 2325 kcal / mol et finalement, dans 350 et 600 picoseconde nous avons une variation d'énergie potentielle de 2325 à 2293 kcal / mol.

Le complexes 4WA9-L19 a une énergie potentielle qui varie de -222 à 2371 kcal /mol au cours des premières 100 pico secondes. Entre 100 et 350 picosecondes, une énergie potentielle variant de 2371 à 2315 kcal/mol. Dans le dernier intervalle entre 350 et 600 picoseconde, L'énergie potentielle varie de 2315 à 2351 kcal / mol.

L'énergie potentielle du complexe 4WA9-L20 varie de -206 à 2475 kcal /mol dans les premières 100 picosecondes, et varie de 2475 à 2348 kcal / mol dans la deuxième partie de l'intervalle entre 100 et 350 picosecondes. Dans le dernier intervalle entre 350 et 600 picoseconde l'énergie potentielle varie de 2340 à 2359 kcal /mol.

Le complexe 4WA9-L21 ayant une énergie potentielle varie de -95 à 2438 kcal/mol au cours des premières 100 picosecondes, et varie de 2438 à 2291 kcal/mol dans la deuxième partie de l'intervalle entre 100 et 350 picosecondes. Finalement, dans le dernier intervalle entre 350 et 600 picoseconde l'énergie potentielle varie de 2291 à 2269 kcal/mol.

L'énergie potentielle du complexe 4WA9-L22 varie de -67 à 2478 kcal / mol dans le domaine (0-100 ps), varie de 2478 à 2233 kcal/mol dans l'intervalle entre (100-350 ps), et de 2233 à 2210 kcal/mol dans l'intervalle 350-600 picoseconde.

La figure III.7, représente les courbes de variation de l'énergie potentielle en fonction du temps des complexes étudiés.

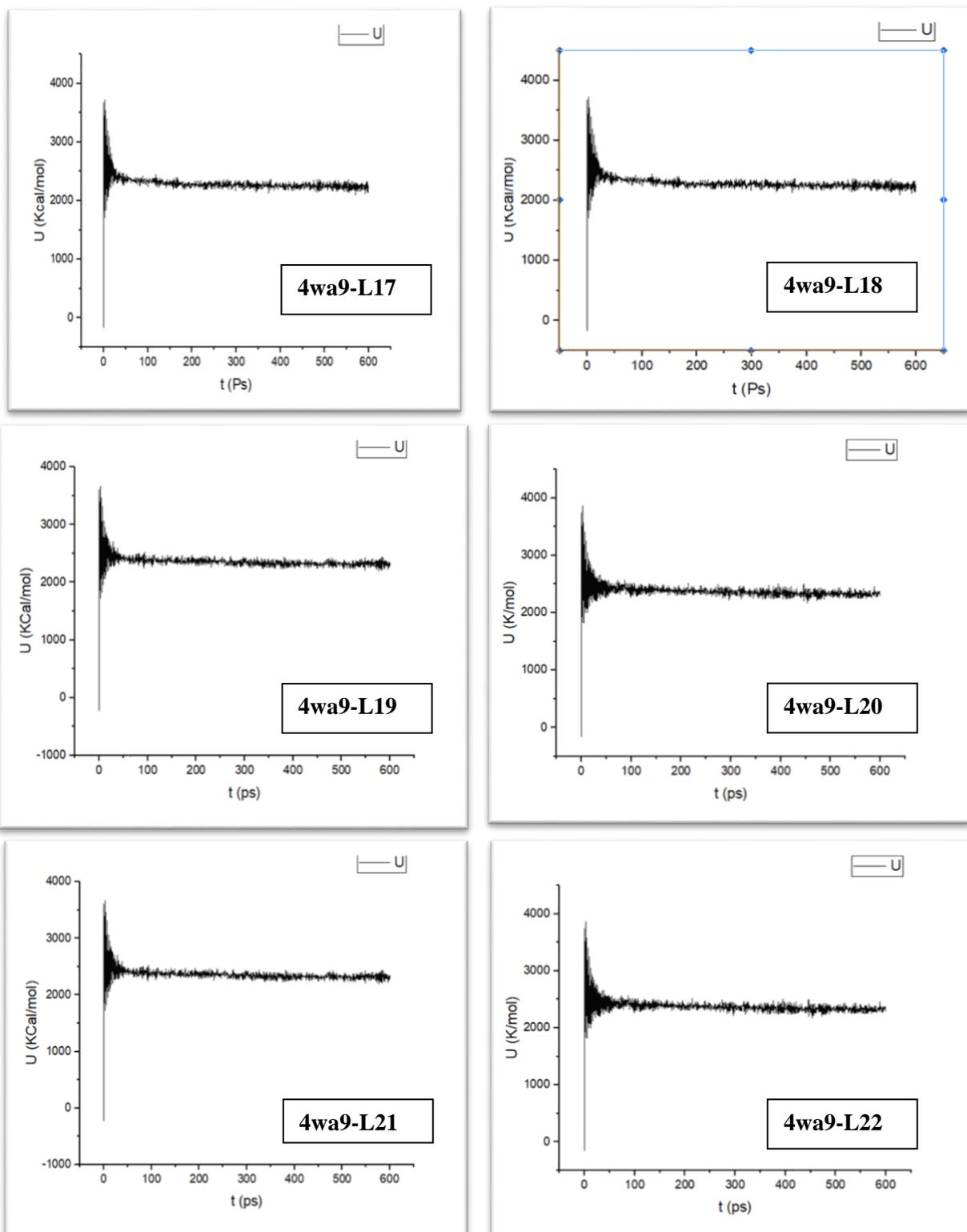


Figure 7 : Evaluation de l'énergie potentielle des six complexes de l'enzyme 4WA9 en fonction du temps

3.3. Etude quantitatives des relations structure/activité (QSAR) des propriétés cytotoxiques de certains dérivés de phtalimido-1,3-thiazole :

Les résultats obtenus par l'analyse MLR, nous ont permis de développer deux modèles statistiques pour chaque activité biologique pAct1 et p Act2, (**tableau III.10**).

L'analyse des paramètres statistiques obtenus permet de déterminer le meilleur modèle QSAR pour chaque activité biologique :

- Modèle 1 : pour l'activité cytotoxique envers les lignées cellulaires tumorales MOLT-4 (pAct1).
- Modèle 2 : pour l'activité cytotoxique envers les lignées cellulaires tumorales TOLEDO (pAct2).

Dans ce travail, des diagnostics de régression pour l'identification d'éventuelles valeurs aberrantes

Il est important de noter que nous avons éliminé la molécule L14 dans le développement de modèle 2. L'analyse des paramètres statistiques obtenus montre que cette molécule donne des valeurs aberrantes.

Tableau III.10 : Modèles sélectionnés et paramètres statistiques des corrélations entre les propriétés moléculaires et les deux activités biologiques pAct1 et pAct2.

pAct1							
Modèle	Descripteurs	N	R ²	S standard	F	P	PRESS
1	H-don, N.S , TPSA	22	0.65	0.223	14.02	<0.001	0.899
pAct2							
2	H-accp , H-don , Flex , Rings ,W, M, N.O, N.S	21	0.798	0.227	5.926	0.03	0.619

La matrice des corrélations entre les descripteurs obtenus par l'analyse MLR et les deux activités biologiques est reportée dans les **tableaux III.11 et III.12**. Les descripteurs obtenus sont corrélés entre eux et avec l'activité biologique.

Le tableau **III.11** montre que le nombre des atomes de soufre est un paramètre important dans la corrélation entre descripteurs sélectionnés et l'activité pAct1.

Le tableau **III.12** : montre que le nombre des cycles et la masse moléculaire sont des paramètres importants dans la corrélation entre les descripteurs sélectionnés et l'activité cytotoxique envers les lignées cellulaires TOLEDO (pAct2).

Tableau III.11 : Matrice des corrélations des trois descripteurs moléculaires appropriés impliqués dans le modèle 1.

Act1	1			
H-don	0.467	1		
N.S	0.578	0.824	1	
TPSA	0.313	0.949	0.855	1

Tableau III.12 : Matrice des corrélations des six descripteurs moléculaires appropriés impliqués dans le modèle 2.

Act2	1								
Haccp	0.26	1							
Hdon	0.259	0.919	1						
Flex	0.475	0.753	0.703	1					
cycles	0.625	0.226	0.167	0.574	1				
masse	0.610	0.633	0.578	-0.938	0.818	1			
M-dipol	-0.327	0.112	0.1	0.208	-0.189	-0.211	1		
N.nmbr	0.347	0.892	0.894	0.863	0.329	0.758	-0.137	1	
S_nmbr	0.383	0.818	0.816	0.847	0.321	0.744	0.222	0.981	1

La corrélation entre les activités biologiques [ACT1, ACT2] et les descripteurs exprimés par les relations suivantes :

Modèle 1 : $pAct1 = 3.655 + 0.478 \text{ H-don} + 0.796 \text{ N.S} - 0.25 \text{ TPSA} \dots\dots(1)$

N = 22 R² = 0.65 S = 0.223 F = 14.02

Modèle 2 : $Act2 = -0.827 + 0.76 \text{ H-accp} + 0.396 \text{ H-don} - 2.4330 \text{ Flex} - 1.43 \text{ Rings} + 0.51 \text{ W} - 1.07 \text{ M} - 1.41 \text{ N.N} + 2.323 \text{ N.S} \dots\dots(2)$

N = 21 R² = 0.798 S = 0.227 F = 5.926

Le modèle QSAR doit considérer un $R^2 > 0.6$ pour qu'il soit valide [32]. Les valeurs ($R^2 = 0.65$ / modèle 1) et ($R^2 = 0.798$ /modèle 2) nous permis d'indiquer la corrélation entre les différents descripteurs utilisés et les activités biologiques pAct1 et pAct2 respectivement. La valeur F est jugée à la signification statistique au niveau de 95%, pour toutes les valeurs de F calculées est supérieures par rapport aux valeurs lus dans la table du Fischer (voir l'annexe).

Dans les modèles 1 et 2, le coefficient positif du nombre de liaison H-donneur indique que toute augmentation de ce paramètre entraîne une augmentation des activités biologiques pAct1 et pAct2, En effet, ces liaisons sont faites une partie des interactions qui sont établies entre les molécules étudiées et les résidus d'acides aminés dans le site actif de récepteur biologique. Ce résultat est en accord avec les travaux de Alice Goudot qui montre, que plus un ligand possède une forte affinité avec une cible, plus son activité biologique est grande [5]. Dans l'équation (2), toute augmentation de nombre de liaison hydrogène accepteur conduit à l'augmentation de l'activité cytotoxique Act2.

Dans les modèles 1 et 2, on remarque que toute augmentation du nombre des atomes de soufre, provoque une augmentation de l'activité biologique pAct1 pAct2, par contre, dans le modèle 1 chaque augmentation de la surface polaire topologique (TPSA) conduit à la diminution de l'activité pAct1.

Le modèle 2 montre que l'augmentation de la flexibilité ; le nombre des cycles, le moment dipolaire et le nombre des atomes d'azote conduit à la diminution de l'activité pAct2.

Afin de tester la validité de pouvoir prédictif des modèles QSAR sélectionnés (1 et 2), la technique de validation croisée LOO (leave-one-out) a été utilisée. La validation des modèles développés est confirmée par calcul des paramètres statistiques suivants [22]:

- la somme des carrés résiduels (PRESS),
- la somme des carrés totaux (TSS),
- qualité d'ajustement R^2_{adj} ,
- coefficient de corrélation de validation croisée R^2_{CV} ,
- la validation standard des erreurs de prédiction (S_{PRESS}).

Les résultats obtenus de calcul des paramètres de validation sont représentés dans le **tableau III.13**.

Tableau III.13 : Paramètres de validation croisée.

Modèle	N	PRESS	TSS	PRESS/TSS	Spress	R ² cv	R ² adj
1	22	0.899	3.00	0.299	0.202	0.700	0.65
2	21	0.619	3.065	0.201	0.171	0.799	0.663

PRESS, (Predictive Residual Sum of Squares) est une mesure des capacités prédictives d'un modèle. La petite valeur de PRESS signifie la meilleure prévisibilité du modèle [33]. En outre, pour un modèle raisonnable de QSAR, le rapport PESS/TSS doit être inférieur à 0,4 [32]. Les résultats présentés dans le tableau III.13 indiquent que ce rapport est de 0,299 et 0.201 pour les modèles 1 et 2 respectivement.

On peut utiliser le paramètre S_{PRESS} qui rend compte des variations d'erreur des prédictions. Les modèles QSAR développés présentent des faibles valeurs de S_{PRESS} , ce qui indique que les deux modèles presque présentent des petites valeurs résiduelles entre les activités biologique observées et prédites. Le tableau III.13. Indique que ce paramètre est de 0.202 et 0.171 pour les deux modèles 1 et 2, respectivement.

Les valeurs élevées du R^2_{cv} et R^2_{adj} sont des critères essentiels pour une meilleure qualification des modèles QSAR [33]. Les résultats obtenus de R^2_{cv} (R^2_{adj}) pour les modèles QSAR 1et 2 sont 0.700 (0.65) et 0.799 (0.663), respectivement.

Le calcul des valeurs prédites ($pAct1_{pred}$ et $pAct2_{pred}$) et des résiduelles ($pAct1_{resd}$ et $pAct2_{resd}$) des activités biologiques des dérivés de phtalimido-1,3-thiazole contre les MOLT-4 et TOLEDO est un autre moyen pour estimer le pouvoir prédictif des modèles développés (tableau II.14).

Tableau III.14 : Valeurs des activités prédites et résiduelles de l'ensemble de dérives de phtalimido-1,3-thiazole.

Composé	$pAct1_{pred}$	$pAct2_{pred}$	$pAct1_{resd}$	$pAct2_{resd}$
L1	3,1506	2,9301	-0,08562	0,25688
L2	2,9240	2,8657	0,18601	0,31433
L3	3,1506	3,1612	-0,11062	-0,11121
L4	3,1506	2,9366	-0,12062	0,06336
L5	3,0823	2,9719	-0,08228	0,08808
L6	3,1506	3,2608	0,01638	0,07624
L7	3,1506	3,3649	0,02938	-0,36486
L8	3,1506	3,2049	0,02238	-0,06288
L9	3,1506	3,1357	-0,15062	-0,13566
L10	2,9809	3,3236	0,01909	-0,05664
L11	2,7315	3,0676	0,27650	-0,06764
L12	3,1271	3,0904	-0,08209	-0,00039
L13	2,8777	3,1296	0,15333	0,00038
L14	3,4706	-----	0,04942	-----
L15	3,2212	2,8485	-0,17117	0,15148
L16	3,7591	3,3836	0,28088	-0,23361
L17	3,7591	3,5500	0,54088	-0,05000

L18	3,6908	3,1881	-0,14078	-0,08808
L19	3,5325	3,7100	-0,16250	-0,19004
L20	3,7591	3,6978	-0,12912	0,12217
L21	3,7591	4,3449	0,12088	0,34512
L22	3,5097	3,1020	-0,45971	-0,05703

pAct1_{pred} : Activité cytotoxique prédite envers des lignées cellulaires tumorales MOLT-4.

pAct2_{pred} : Activité cytotoxique prédite envers des lignées cellulaires tumorales TOLEDO.

pAct1_{resd} : Activité cytotoxique résiduelle envers des lignées cellulaires tumorales MOLT-4..

pAct2_{resd} : Activité cytotoxique résiduelle envers des lignées cellulaires tumorales TOLEDO.

L'activité résiduelle est la variance entre l'activité biologique expérimentale et prédite.

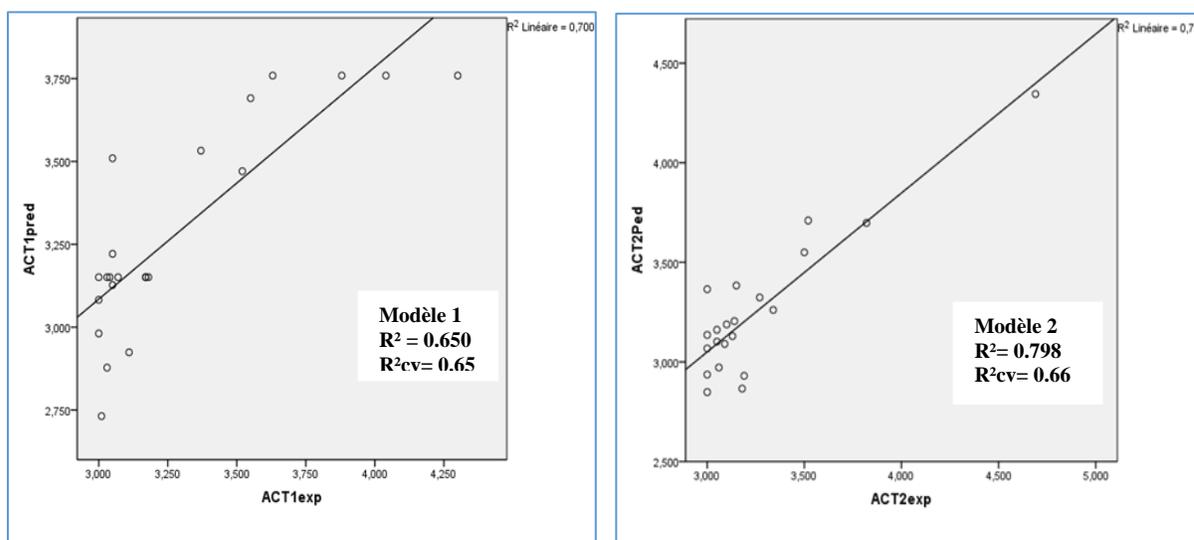


Figure III.8 : Corrélation entre les activités biologiques expérimentales et prédites pour les modèles 1 et 2.

La figure III.9 présente la corrélation entre les valeurs prédites et expérimentales pour les deux activités biologiques pAct1 et pAct2 des dérivés de phtalimido-1,3-thiazole. Du point de vue des performances statistiques, ces modèles présentent des coefficients de corrélation R^2 significatifs de valeur. La valeur de R^2 est égale à 0,65 et 0,798, pour les modèles 1 et 2, respectivement. Ils indiquent que ces modèles peuvent être appliqués avec succès pour prédire l'activité cytotoxique envers des lignées cellulaires tumorales MOLET-4 et TOLEDO.

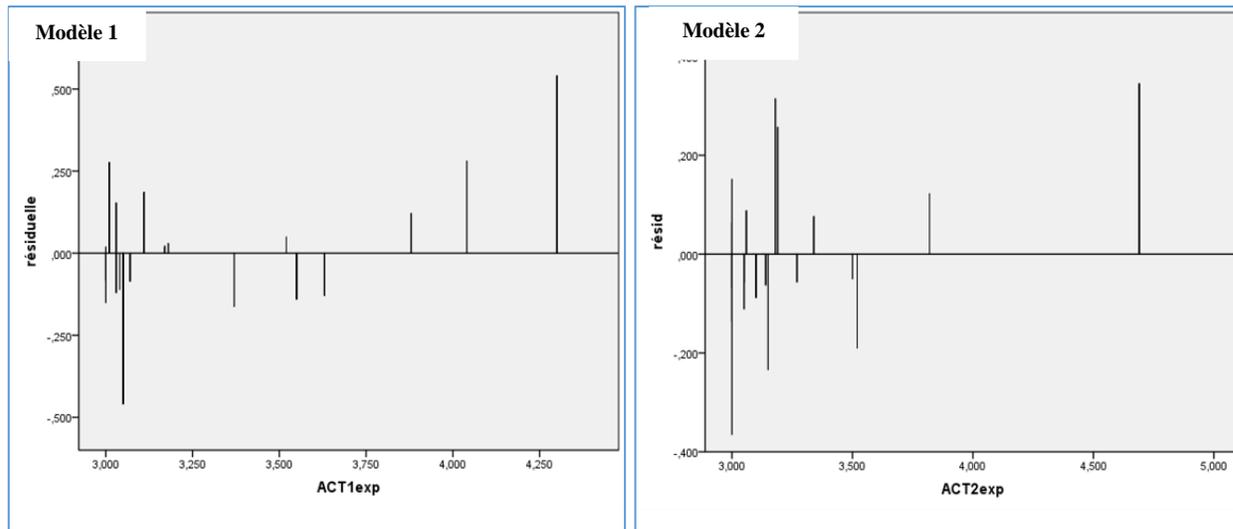


Figure III.9 : Corrélation entre les valeurs résiduelles et les valeurs expérimentales des activités cytotoxiques pAct1 et Act2.

Pour rechercher la présence d'une erreur systématique dans l'élaboration des modèles QSAR, les valeurs résiduelles des deux activités biologiques pAct1 et pAct2 ont été tracées en fonction des valeurs expérimentales, comme le montre la figure III.10, la répartition des résidus dans les deux côtés de l'axe des abscisses indique l'absence de l'erreur systématique [38]. Il indique que ces deux modèles peuvent être appliqués avec succès pour prédire les activités biologiques pAct1 et pAct2 pour les dérivés phtalimido-1,3-thiazole.

3.4. Propriétés ADME et évaluation de Druglikeness :

Le criblage *in silico* des propriétés pharmacologiques ADME et l'évaluation Druglikeness de sept molécules cytotoxiques sont résumées dans le **tableau III.15**.

D'après les résultats obtenus présentés dans le tableau **III.15**, on remarque que toutes les molécules possèdent une faible absorption gastro-intestinale, donc une faible biodisponibilité, et elles ne peuvent pas du tout pénétrer dans la BBB (blood-brain barrier). Cela peut s'expliquer par la grande taille des molécules et de grande polarité.

Par conséquent les molécules hydrophiles et de grande taille sont incapables de traverser les membranes cellulaires lipidiques [34], toutes ces molécules possèdent un caractère lipophile.

En effet, un bon équilibre entre le caractère lipophile et hydrophile des molécules médicamenteuses est un facteur indispensable à l'absorption intestinale. Ces molécules sont censées être éliminées avant d'atteindre la cible.

Dans le tableau III.15, on remarque également que toutes les molécules ne sont pas affectées par le transporteur P-glycoprotéine (p-gp) qui favorise la surmontations de la multi-résistance et un effet efficace des médicaments anticancéreux dans les tumeurs [35].

Toutes les molécules n'ont montré aucune sélectivité dans l'interaction avec les cytochromes CYP1A2 et CYP2D6. Les études antérieures confirment que les molécules ayant une grande lipophilie présentent une faible sélectivité avec les cytochromes [36-38].

De plus, on remarque que, presque toutes les molécules inhibent les différentes isoformes CYP2C19 et CYP2C9, à l'exception les ligands L18 et L21 ne sont pas des inhibiteurs de cytochrome CYP2C9.

D'autre part, on remarque que les ligands L18, L20, L 21 et L22 ne sont pas des inhibiteurs des iso-enzymes CYP3A4, à l'exception des molécules L16, L17, L19.

Les composés étudiés ne vérifient pas les règles de Veber à cause de leurs grandes valeurs de surface polaire topologique (TPSA > **140 Å²**).

Par contre, ils vérifient les règles de Lipinski 5 à l'exception les composés L18 et L21 qui présentent une grande valeur de la masses moléculaires (MW>**500**).

Tableau III.15 : Résultats d'évaluation des propriétés ADME et Druglikeness des dérivés de phtalimido-1,3-thiazole.

Catégorie	Modèle		L16	L17	L18	L19	L20	L21	L22
Pharmacocinétique	Absorption	GI absorption	Bas	Bas	Bas	Bas	Bas	Bas	Bas
		P-gp substrat	Non	Non	Oui	Non	Non	Non	Non
	Distribution	BBB permeant	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
		Métabolisme	CYP1A2 inhibiteur	Non	Non	Non	Non	Non	Non
	CYP2C19 inhibiteur		oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
	CYP2C9 inhibiteur		oui	Oui	Non	Oui	Oui	Non	Oui
	CYP2D6 inhibiteur		Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
	CYP3A4 inhibiteur		oui	Oui	Non	Oui	Non	Non	Non
Lipophilicité	Lipophilie	Log $P_{o/w}$	4.25	4.80	2.35	4.23	5.12	5.55	5.12
		Drug likeness	Lipinski		Oui	Oui	Non	Oui	Oui
Veber				Non	Non	Non	Non	Non	Non
	TPSA (Å ²)		156.06	156.06	205.72	165.29	156.06	156.06	148.43
Propriétés Physico-Chimiques	La masse moléculaire	MW	474.56	509.00	520.56	504.5	496.54	550.65	488.58
			Les Atomes lourds	33	34	36	35	37	39

	N^{br} des liaisons rotatives		6	6	7	7	6	7	6
	Liaison H-accepteurs		5	5	7	6	5	5	5
	Liaison H-donneur		2	2	3	2	2	2	2
	Solubilité dans l'eau		Peu soluble	insoluble	Peu soluble				

Références bibliographiques :

- [1] M. GHAMRI, “Étude de la structure et des propriétés SAR/QSAR de quelques molécules à visée thérapeutique.” Université de mohamed kheider biskra, 2022.
- [2] G. Davies and B. Henrissat, “Structures and mechanisms of glycosyl hydrolases,” *Structure*, vol. 3, no. 9, pp. 853–859, 1995.
- [3] I. Kola and J. Landis, “Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates?,” *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 3, no. 8, pp. 711–716, 2004.
- [4] A. R. Oliveira et al., “Synthesis, anticancer activity and mechanism of action of new phthalimido-1, 3-thiazole derivatives,” *Chem. Biol. Interact.*, vol. 347, p. 109597, 2021.
- [5] M. Z. YANG, “Thèse de l’Université de Lyon délivrée par l’Ecole Centrale de Lyon.” Citeseer, 2013.
- [6] C. Selvaraj, S. K. Tripathi, K. K. Reddy, and S. K. Singh, “Tool development for Prediction of pIC 50 values from the IC 50 values-A pIC 50 value calculator.,” *Curr. Trends Biotechnol. Pharm.*, vol. 5, no. 2, 2011.
- [7] H. Niksic, E. Kovac-Besovic, M. Sober, N. Mulabegovic, M. Kralj, and K. Duric, “Phytochemical and pharmacological (antiproliferative) effects of essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. Lamiaceae,” *Planta Med.*, vol. 82, no. S 01, p. P323, 2016.
- [8] J. J. Revillas, B. Rodelas, C. Pozo, M. V Martínez-Toledo, and J. González-López, “Production of B-group vitamins by two *Azotobacter* strains with phenolic compounds as sole carbon source under diazotrophic and adiazotrophic conditions,” *J. Appl. Microbiol.*, vol. 89, no. 3, pp. 486–493, 2000.
- [9]. HyperChem v8[2009] Molecular modeling system, Hypercube Inc, 1115 NW 4th Street, Gainesville, FL 32601, USA pour détermine la conformation la plus stable
- [10]. W. Dhifli and A. B. Diallo, “ProtNN: fast and accurate protein 3D-structure classification in structural and topological space,” *BioData Min.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–17, 2016.

- [11]. G. Clément and K. Slenzka, *Fundamentals of space biology: research on cells, animals, and plants in space*, vol. 18. Springer Science & Business Media, 2006.
- [12] A. L. Morris, M. W. MacArthur, E. G. Hutchinson, and J. M. Thornton, “Stereochemical quality of protein structure coordinates,” *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.*, vol. 12, no. 4, pp. 345–364, 1992.
- [13]. Molecular Operating Environment [MOE] [2014] Chemical Computing Group Inc, 1010 Sherbrooke St. West, Suite # 910, Mon-treal QC, Canada H3A 2R7
- [14]. pharmacophore mapping evaluation and dynamics simulation Daoud, IsmailDiscovery of potential SARS-CoV 3CL protease inhibitors from approved antiviral drugs using: virtual screening, molecular docking, F. Mesli, N. Melkemi, S. Ghalem, and T. Salah, “Discovery of potential SARS-CoV 3CL protease inhibitors from approved antiviral drugs using: virtual screening, molecular docking, pharmacophore mapping evaluation and dynamics simulation,” *J. Biomol. Struct. Dyn.*, pp. 1–18, 2021.
- [15] S. D. Bond, B. J. Leimkuhler, and B. B. Laird, “The Nosé–Poincaré method for constant temperature molecular dynamics,” *J. Comput. Phys.*, vol. 151, no. 1, pp. 114–134, 1999.
- [16] J. B. Sturgeon and B. B. Laird, “Symplectic algorithm for constant-pressure molecular dynamics using a Nosé–Poincaré thermostat,” *J. Chem. Phys.*, vol. 112, no. 8, pp. 3474–3482, 2000.
- [17]. A. A. Parikesit, A. S. Nugroho, A. Hapsari, and U. S. F. Tambunan, “The computation of cyclic peptide with prolin-prolin bond as fusion inhibitor of DENV envelope protein through molecular docking and molecular dynamics simulation,” *arXiv Prepr. arXiv1511.01388*, 2015.
- [18]. H. J. C. Berendsen, J. P. M. van Postma, W. F. Van Gunsteren, A. DiNola, and J. R. Haak, “Molecular dynamics with coupling to an external bath,” *J. Chem. Phys.*, vol. 81, no. 8, pp. 3684–3690, 1984.

- [19]. Origin [Pro] [6.0] [1999] OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA
- [20]. SPSS 19 for Windows, SPSS Incorporation, <http://www.spss.com>
- [21]. N. Melkemi, “Etude des corrélations entre les paramètres structuraux et les propriétés bioactives de quelques composés organiques.” Université de mohamed kheider biskra, 2019.
- [22]. K. KOUCHKAR, “Prédiction par la méthode DFT conceptuelle de la réactivité chimique et de l’activité biologique de quelques composés organiques.” Université de mohamed kheider biskra, 2022.
- [23]. <http://www.swissadme.ch/>
- [24] S. B. Ben sahal Sirine, “La prédiction in silico des propriétés ADME des molécules des huiles essentielles de *Myrtus communis* L”.
- [25]. A. Daina, O. Michielin, and V. Zoete, “SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules,” *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–13, 2017.
- [26] C. Loens, S. Amet, C. Isnard-Bagnis, G. Deray, and J. Tourret, “Néphrotoxicité des antirétroviraux autres que le ténofovir,” *Nephrol. Ther.*, vol. 14, no. 1, pp. 55–66, 2018.
- [27] B. L. Urquhart and R. B. Kim, “Blood– brain barrier transporters and response to CNS-active drugs,” *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, vol. 65, no. 11, pp. 1063–1070, 2009.
- [28] M. C. Jerdi, J. Desmeules, and P. Dayer, “La glycoprotéine P: un transporteur de médicaments à ne pas négliger,” *Med. Hyg. (Geneve)*., p. 704, 2004.
- [29] A. M. Taburet and V. Furlan, “Le système des cytochromes P450: définition, rôle et implication dans la pharmacocinétique des anti-infectieux,” *M ISE AU POINT*, vol. 6, 2000.

- [30] S. Tian, Y. Li, J. Wang, J. Zhang, and T. Hou, “ADME evaluation in drug discovery. 9. Prediction of oral bioavailability in humans based on molecular properties and structural fingerprints,” *Mol. Pharm.*, vol. 8, no. 3, pp. 841–851, 2011.
- [31]. A. Imberty, K. D. Hardman, J. P. Carver, and S. Perez, “Molecular modelling of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavalin A,” *Glycobiology*, vol. 1, no. 6, pp. 631–642, 1991.
- [32] T. N. P. Huynh, “Synthèse et études des relations structure/activité quantitatives (QSAR/2D) d’analyse benzo [c] phénanthridiniques.” Université d’Angers, 2007.
- [33] S. O. Podunavac-Kuzmanović, D. D. Cvetković, and D. J. Barna, “QSAR analysis of 2-amino or 2-methyl-1-substituted benzimidazoles against *Pseudomonas aeruginosa*,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 10, no. 4, pp. 1670–1682, 2009.
- [34] M. Jalali-Heravi and A. Kyani, “Use of computer-assisted methods for the modeling of the retention time of a variety of volatile organic compounds: a PCA-MLR-ANN approach,” *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, vol. 44, no. 4, pp. 1328–1335, 2004.
- [35] N. J. Yang and M. J. Hinner, “Getting across the cell membrane: an overview for small molecules, peptides, and proteins,” *Site-specific protein labeling*, pp. 29–53, 2015.
- [36] S. Nobili, I. Landini, T. Mazzei, and E. Mini, “Overcoming tumor multidrug resistance using drugs able to evade P-glycoprotein or to exploit its expression,” *Med. Res. Rev.*, vol. 32, no. 6, pp. 1220–1262, 2012.
- [37].L. Zhao et al., “Strategies for the development of highly selective cytochrome P450 inhibitors: Several CYP targets in current research,” *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 29, no. 16, pp. 2016–2024, 2019.
- [38] C. Rodriguez-Antona and M. Ingelman-Sundberg, “Cytochrome P450 pharmacogenetics and cancer,” *Oncogene*, vol. 25, no. 11, pp. 1679–1691, 2006..

Conclusion générale

Dans ce travail nous avons présentés les résultats obtenus par une application des approches structure- activité sur dérivés phtolimido-1,3-thiazole synthétisés récemment et testés par leur activité cytotoxique envers différentes lignées cellulaires tumorales dont le but était la prédiction par des méthodes *in silico* les propriétés cytotoxiques de ces molécules.

Le docking moléculaire présente des résultats stimulants en termes de la grande affinité entre les dérivés étudiés et les deux cibles biologiques choisis 6DDQ et 4WA9. Plusieurs interactions sont établaient entre 12 meilleurs ligands et les deux récepteurs biologiques à savoir : les liaisons H-donneur, H-accepteurs et les interactions de type Pi-H. Cette affinité est exprimé par l'énergie score la plus stable encore plus que les ligands de références eux-mêmes.

Ensuite, une étude par la dynamique moléculaire a été réalisée pour confirmer la stabilité de complexes ligands – site actif dans des conditions physiologique de température et nous avons obtenus des bons résultats justifiés par la stabilité d'énergie potentielle de chacun des douze complexes testés.

Ces bons résultats nous ont incités à effectuer une étude de la relation quantitative structure-activité pour élaborer des modèles QSAR robustes et fiables, et pour la prédiction des effets des paramètres structuraux des 22 dérivés de phtalimido-1.3-thiazole sur l'activité cytotoxique envers les lignées cellulaire tumorales MOLT-4 et TOLEDO. Deux modèles a été développés et validés par la détermination des paramètres statistiques appropriés. Les valeurs prédites de ces deux modèles sont plus proches que les valeurs expérimentales pour les deux activités biologiques MOLT-4 et TOLEDO, ce qui suggère une bonne capacité prédictive des modèles QSAR développés.

Il est à noter que les résultats obtenus de docking moléculaire sont cohérent avec les résultats d'étude QSAR. Par conséquence, les interactions H-donneur, H-accepteur contribuent de manière significative à une grande affinité entre les inhibiteurs étudiés et les gènes mutants 6DDQ, 4WA9 dans le cas de leucémie ALL. La même chose dans les deux modèle QSAR le nombre des liaisons H-donneur et H-accepteur affecte positivement sur l'activité cytotoxiques

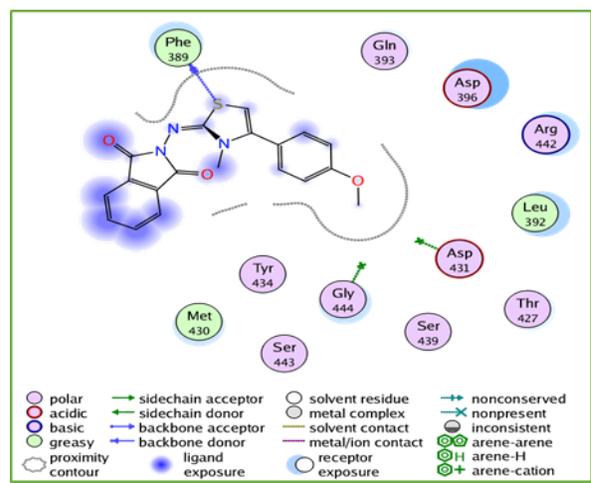
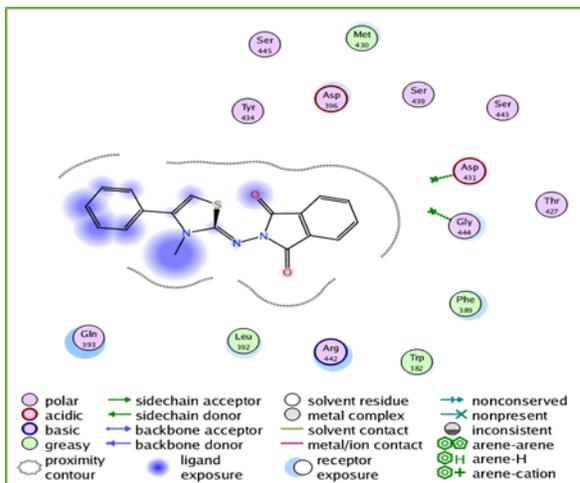
envers de deux lignées cellulaires concernées a la même maladie la leucémie lymphoblastique aigue.

Enfinement, nous avons effectué sur une étude prédictive ADME (absorption, distribution métabolisme, élimination) pour tester la biodisponibilité de ces dérivés de phtalimido-1,3-thiazole. Les résultats obtenus montrent que ces molécules ne vérifiées pas les règles de Lipinski et Veber, puisque ces dérivés ont une grande masse moléculaire et sont trop lipophile.

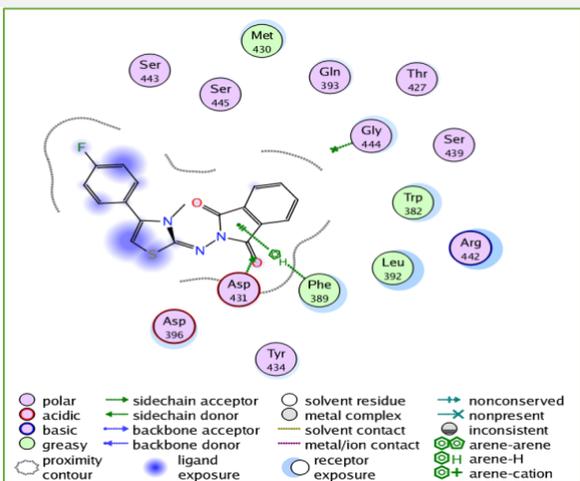
Annexe

Annexe A

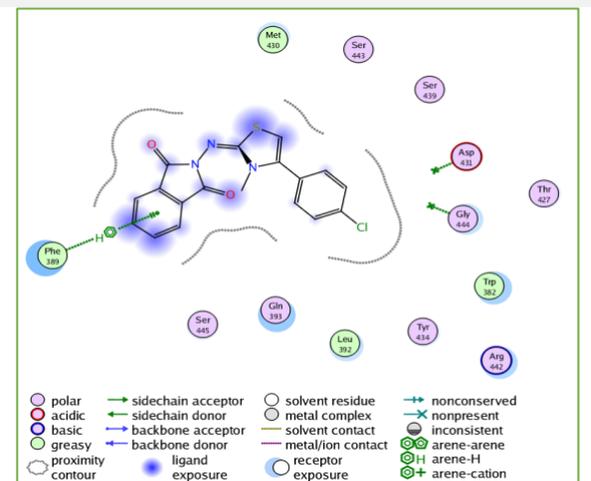
Les interactions de docking moléculaire entre la cible N⁵ nucléotidase II (code PDB.6DDQ) et le 22 dérivés phthalimido-1.3-thiazole.



Intéactions L1-66DDQ

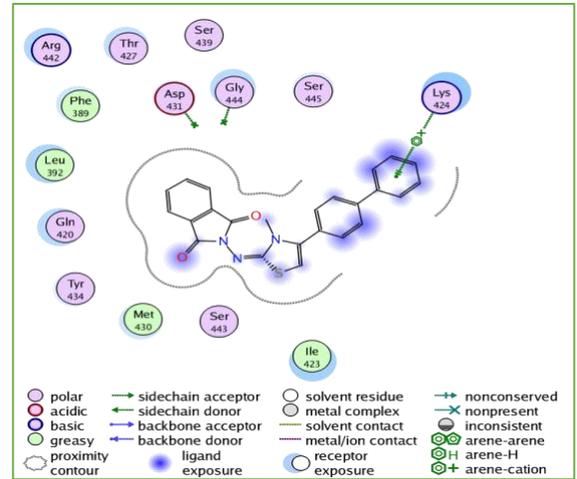
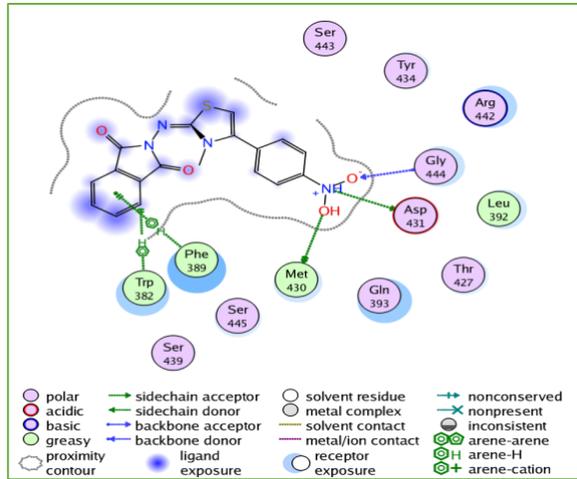


Intéactions L2-6DDQ



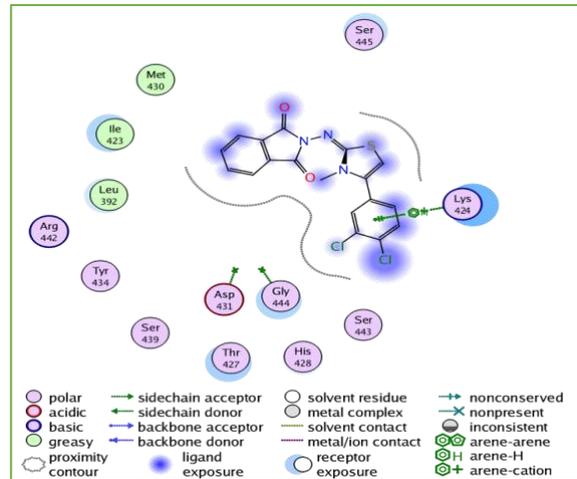
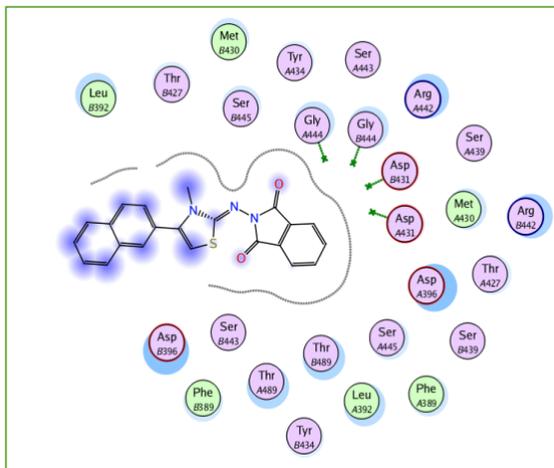
Intéactions L3-6DDQ

IntéactionsL4-6DDQ



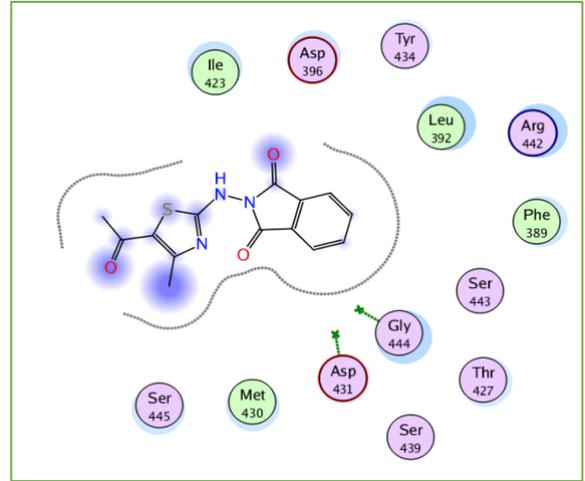
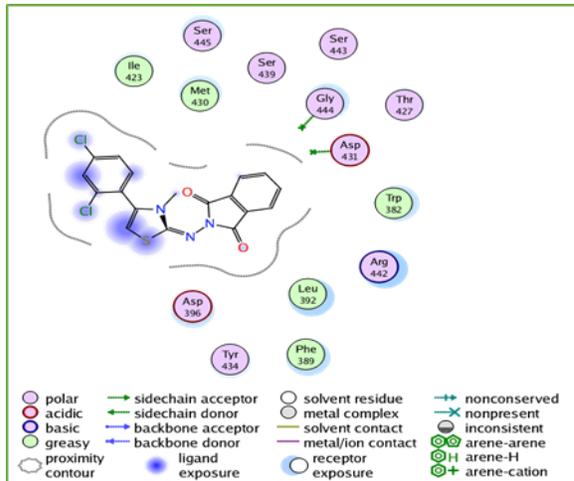
Intéractions L5-6DDQ

Intéractions L6-DDQ



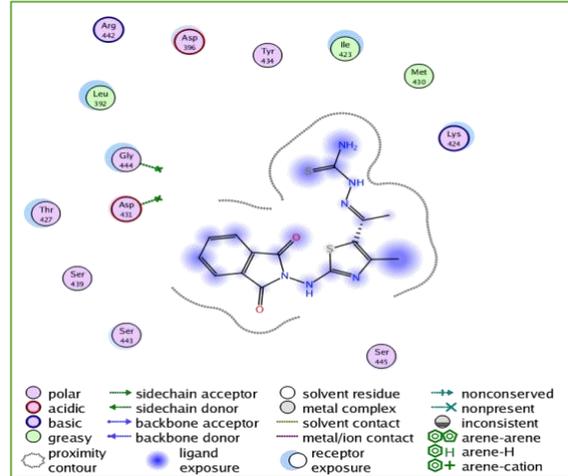
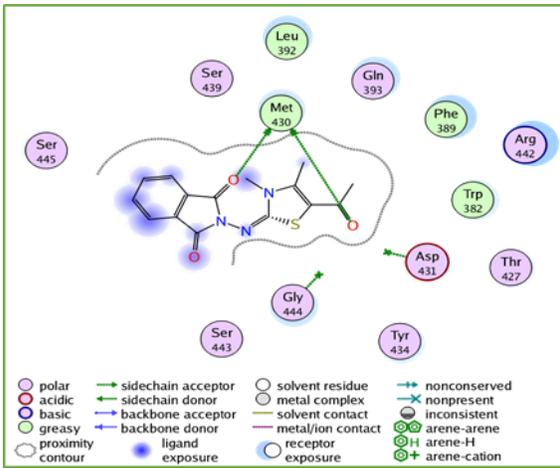
Intéractions L7-6DDQ

Intéractions L8-6DDQ



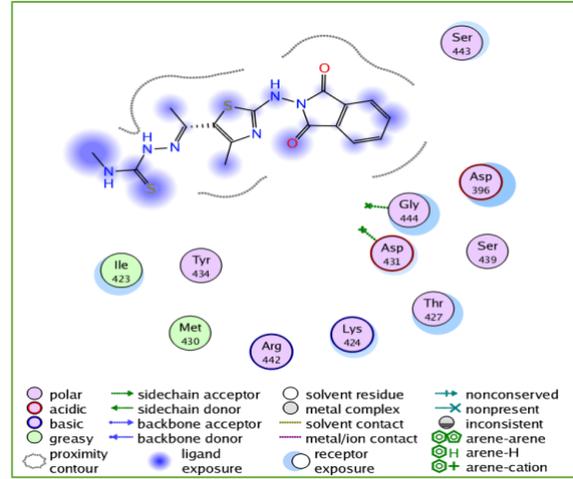
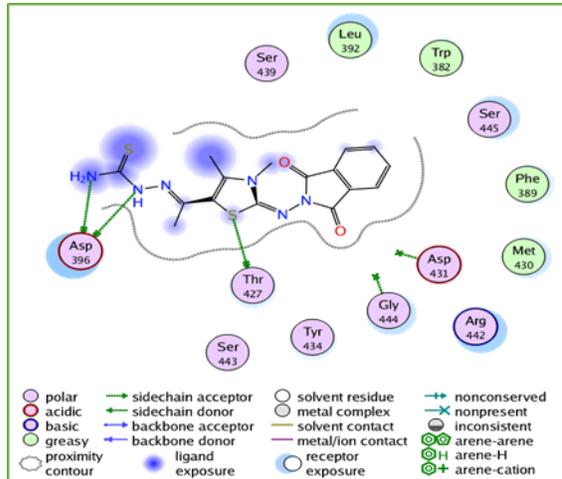
Intéractions L9-6DDQ

Intéractions L10-6DDQ



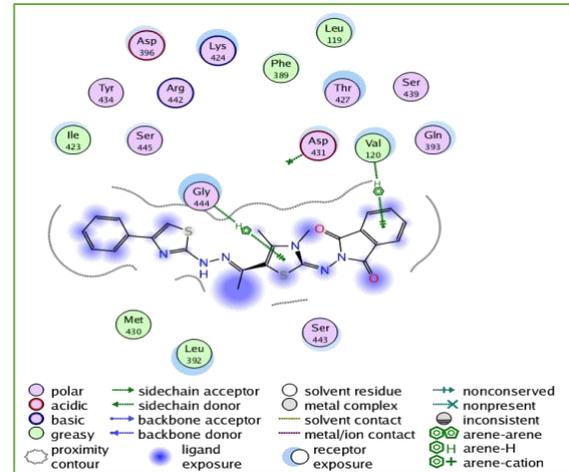
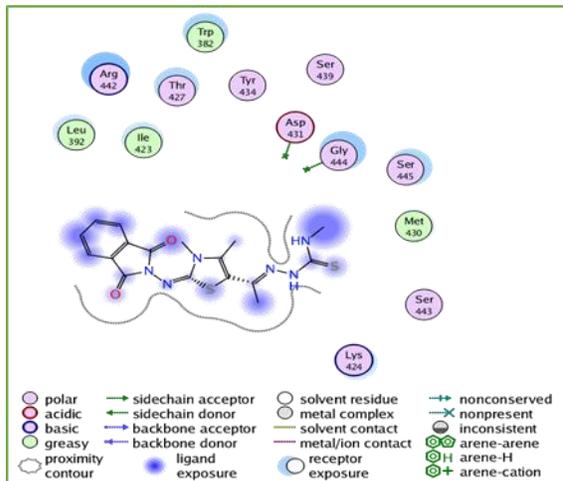
Intéractions L11-6DDQ

Intéractions L12-6DDQ



Intéractions L13-6DDQ

Intéractions L14-6DDQ

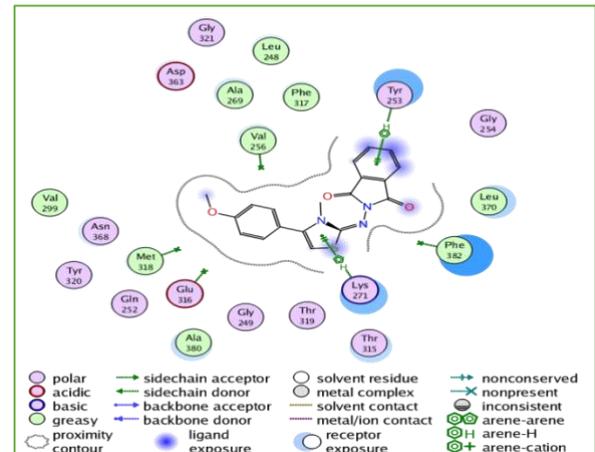
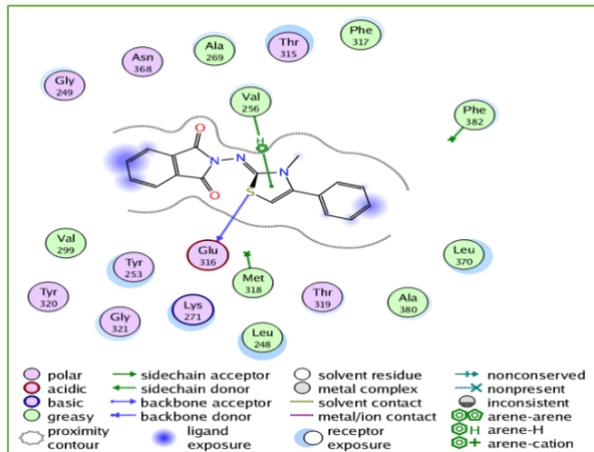


Intéractions L15-6DDQ

Intéractions L22-6DDQ

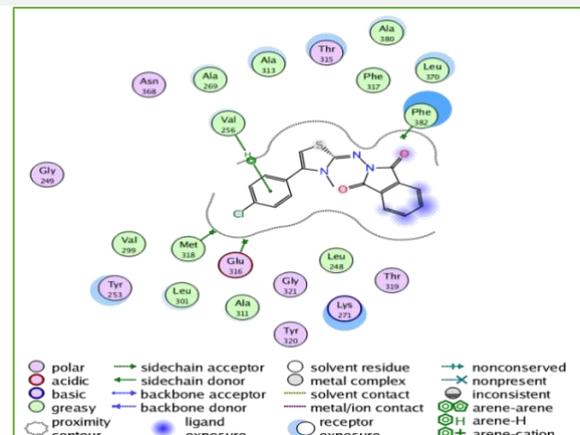
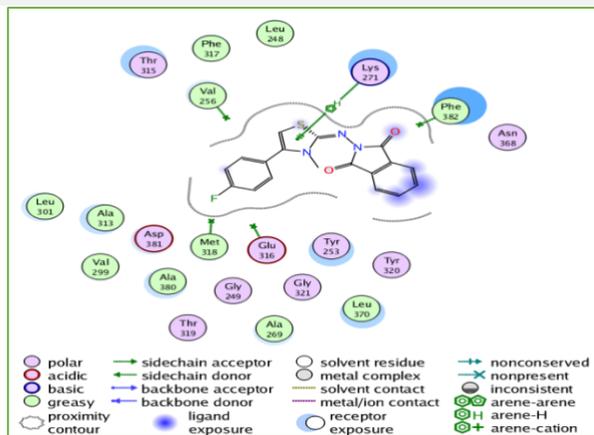
Annexe B

Les interactions de docking moléculaire entre la cible domaine kinase ABL1 (code PDB.4WA9) et le 22 dérivés phtalimido-1.3-thiazole.



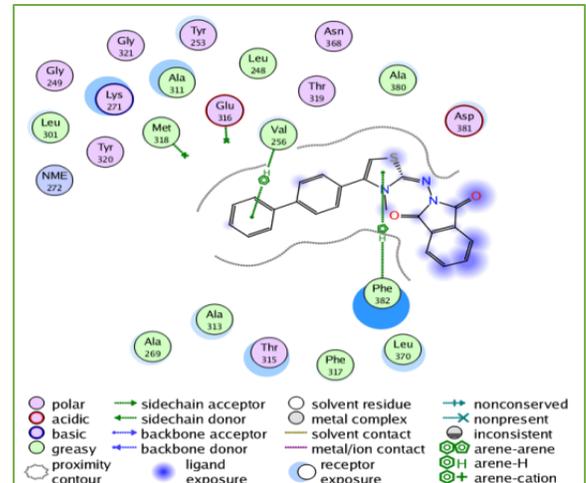
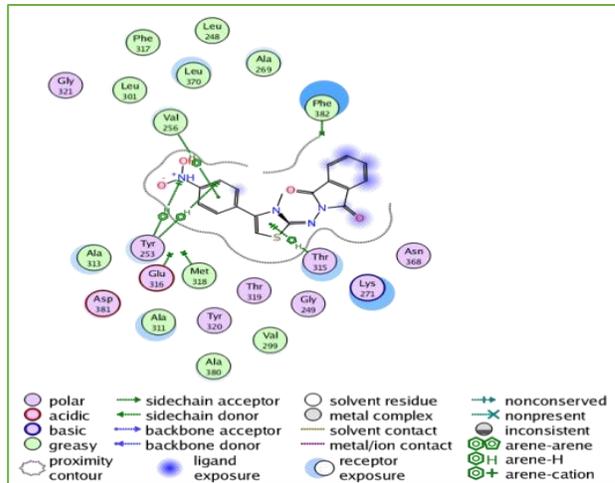
Interactions L1-4WA9

Interactions L2-4WA9



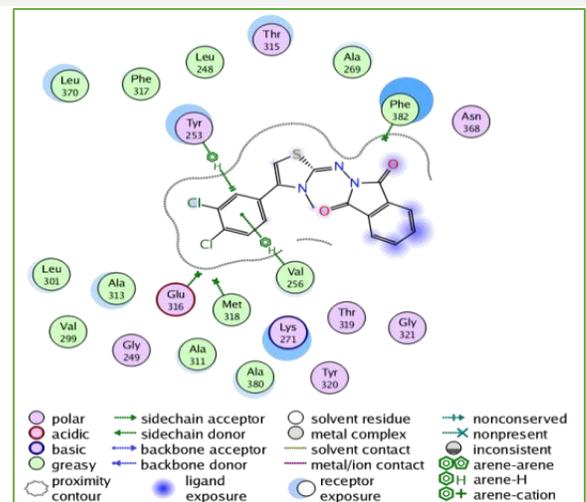
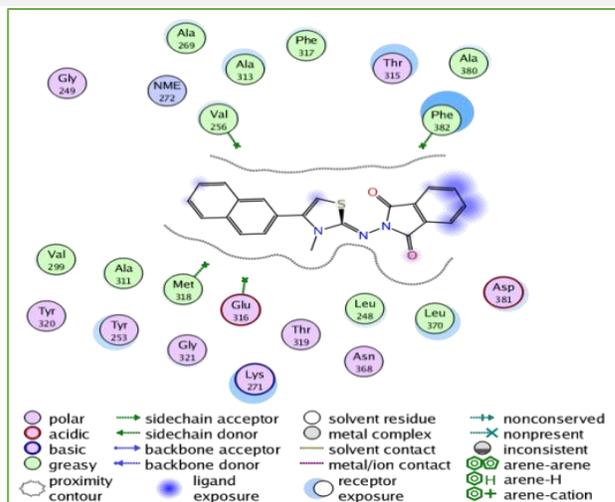
Interactions L3-4WA9

Interactions L4-4WA9



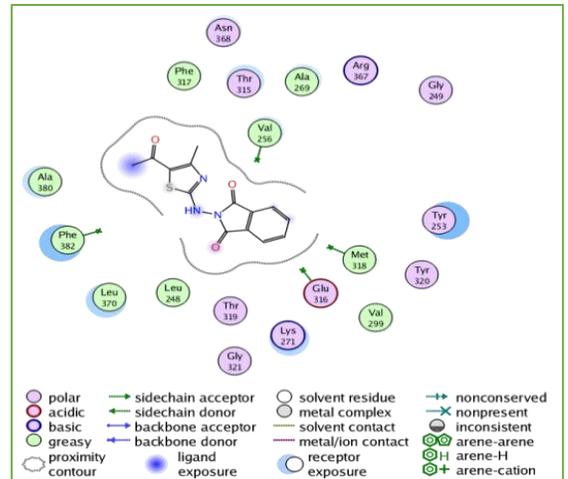
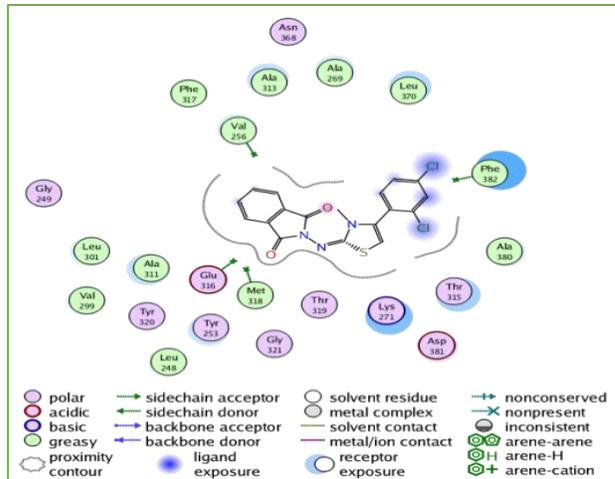
Interactions L5-4WA9

Interactions L6-4WA9



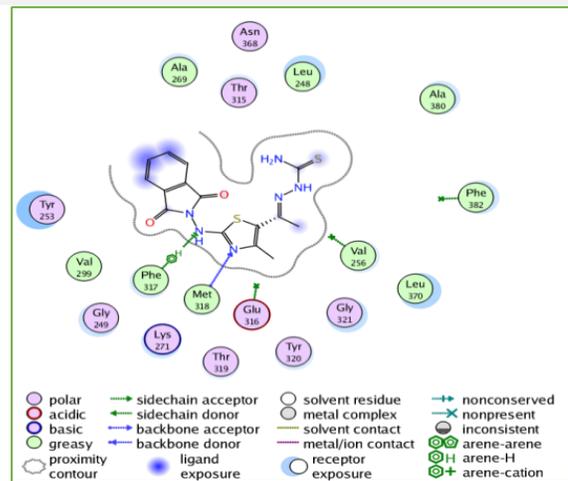
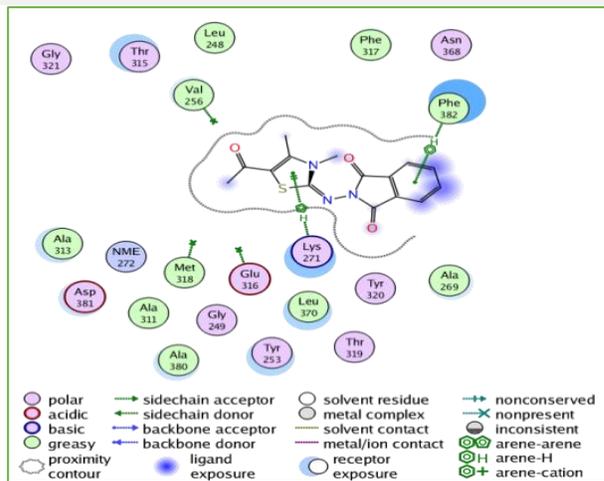
Interactions L7-4WA9

Interactions L8-4WA9



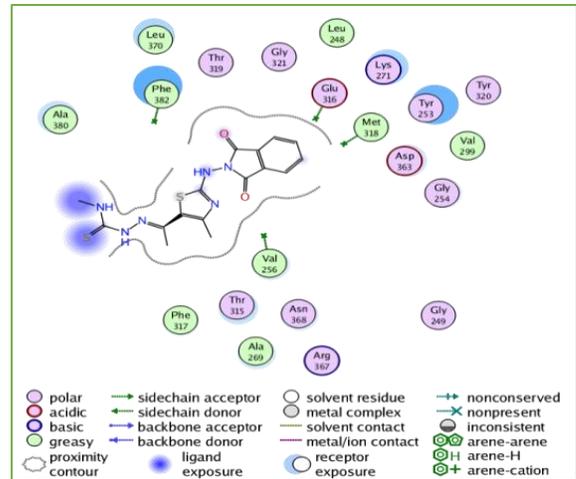
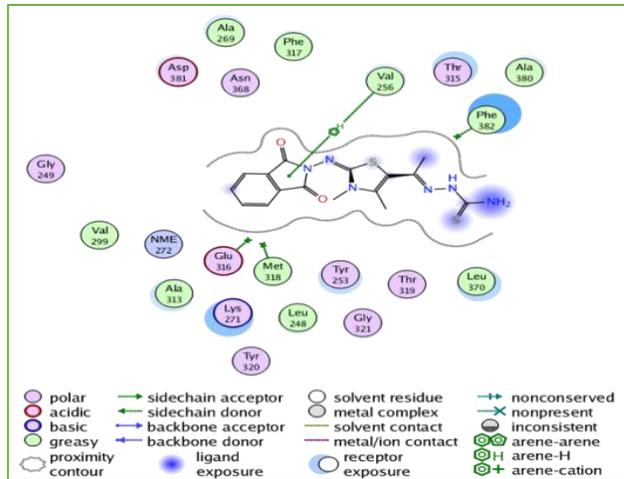
Interactions L9-4WA9

Interactions L10-4WA9



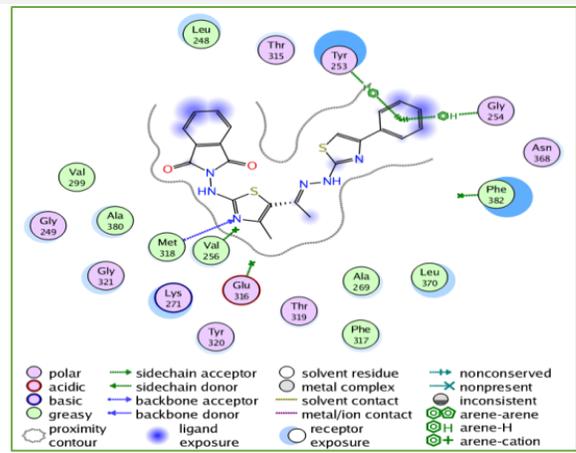
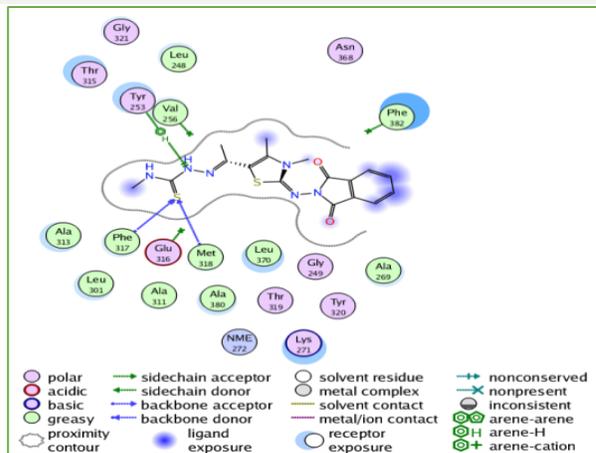
Interactions L11-4WA9

Interactions L12-4WA9



Interactions L13-4WA9

Interactions L14-4WA9



Interactions L15-4WA9

Interactions L16-4WA9

Annexe C

Table du F (de Fischer).

Table de Fisher-Snedecor, $\alpha = 5\%$ (95^e centile)

v_2 (dén.)	v_1 (numérateur)																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	30	40	50	60	80	100	200	500	1 000
1	161.45	199.50	215.71	224.58	230.16	233.99	236.77	238.88	240.54	241.88	248.02	250.10	251.14	251.77	252.20	252.72	253.04	253.68	254.06	254.19
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.45	19.46	19.47	19.48	19.48	19.48	19.49	19.49	19.49	19.49
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.66	8.62	8.59	8.58	8.57	8.56	8.55	8.54	8.53	8.53
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.80	5.75	5.72	5.70	5.69	5.67	5.66	5.65	5.64	5.63
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.56	4.50	4.46	4.44	4.43	4.41	4.41	4.39	4.37	4.37
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	3.87	3.81	3.77	3.75	3.74	3.72	3.71	3.69	3.68	3.67
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.44	3.38	3.34	3.32	3.30	3.29	3.27	3.25	3.24	3.23
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.15	3.08	3.04	3.02	3.01	2.99	2.97	2.95	2.94	2.93
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	2.94	2.86	2.83	2.80	2.79	2.77	2.76	2.73	2.72	2.71
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.77	2.70	2.66	2.64	2.62	2.60	2.59	2.56	2.55	2.54
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.12	2.04	1.99	1.97	1.95	1.92	1.91	1.88	1.86	1.85
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	1.93	1.84	1.79	1.76	1.74	1.71	1.70	1.66	1.64	1.63
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	1.84	1.74	1.69	1.66	1.64	1.61	1.59	1.55	1.53	1.52
50	4.03	3.18	2.79	2.56	2.40	2.29	2.20	2.13	2.07	2.03	1.78	1.69	1.63	1.60	1.58	1.54	1.52	1.48	1.46	1.45
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.75	1.65	1.59	1.56	1.53	1.50	1.48	1.44	1.41	1.40
70	3.98	3.13	2.74	2.50	2.35	2.23	2.14	2.07	2.02	1.97	1.72	1.62	1.57	1.53	1.50	1.47	1.45	1.40	1.37	1.36
80	3.96	3.11	2.72	2.49	2.33	2.21	2.13	2.06	2.00	1.95	1.70	1.60	1.54	1.51	1.48	1.45	1.43	1.38	1.35	1.34
90	3.95	3.10	2.71	2.47	2.32	2.20	2.11	2.04	1.99	1.94	1.69	1.59	1.53	1.49	1.46	1.43	1.41	1.36	1.33	1.31
100	3.94	3.09	2.70	2.46	2.31	2.19	2.10	2.03	1.97	1.93	1.68	1.57	1.52	1.48	1.45	1.41	1.39	1.34	1.31	1.30
200	3.89	3.04	2.65	2.42	2.26	2.14	2.06	1.98	1.93	1.88	1.62	1.52	1.46	1.41	1.39	1.35	1.32	1.26	1.22	1.21
300	3.87	3.03	2.63	2.40	2.24	2.13	2.04	1.97	1.91	1.86	1.61	1.50	1.43	1.39	1.36	1.32	1.30	1.23	1.19	1.17
500	3.86	3.01	2.62	2.39	2.23	2.12	2.03	1.96	1.90	1.85	1.59	1.48	1.42	1.38	1.35	1.30	1.28	1.21	1.16	1.14
1 000	3.85	3.00	2.61	2.38	2.22	2.11	2.02	1.95	1.89	1.84	1.58	1.47	1.41	1.36	1.33	1.29	1.26	1.19	1.13	1.11
2 000	3.85	3.00	2.61	2.38	2.22	2.10	2.01	1.94	1.88	1.84	1.58	1.46	1.40	1.36	1.32	1.28	1.25	1.18	1.12	1.09

Résumé

NT5C2 (la 5'-nucléotidase cytosolique II) et le domaine kinase ABL1 sont des cibles moléculaires prometteuses qui ont récemment fait l'objet d'une immense attention pour le développement de thérapies contre la leucémie. Dans ce travail de recherche, une étude des propriétés cytotoxiques des dérivés de phthalimido-1,3-thiazole envers les lignées cellulaires tumorales MOLT-4 et TOLEDO a été réalisée par une combinaison de différentes méthodes de chimie computationnelle à savoir : la simulation docking/dynamique moléculaire, la prédiction ADME et QSAR.

Une étude par docking/dynamique moléculaire a été réalisée sur une série de vingt-deux dérivés de phthalimido-1,3-thiazole avec deux enzymes 6DDQ et 4WA9. Douze meilleurs inhibiteurs ont été identifiés sur la base de leurs scores d'énergie libre. Ces molécules forment des complexes stables avec les deux enzymes. Plusieurs interactions sont établies entre ces molécules et les résidus des sites actifs à savoir : les liaisons H-donneur, H-accepteurs et les interactions de type Pi-H.

Une étude quantitative de la relation structure/activité a été appliquée sur la même série de composés en utilisant la méthode de régressions linéaires multiples (RLM). Deux modèles QSAR ont été développés pour les deux activités cytotoxiques envers les deux lignées cellulaires MOLT-4 et TOLEDO. La prédiction des modèles obtenus a été confirmée par la méthode de validation croisée LOO. Une forte corrélation a été observée entre les valeurs expérimentales et prédites des deux activités biologiques ce qui indique la validité et la qualité prédictive des modèles QSAR obtenus.

Mots clés : Leucémie lymphoblastique aigue LLA, MOLT-4, TOLEDO, Docking/dynamique moléculaire, QSAR, ADME.

Abstract

NT5C2 (cytosolic 5'-nucleotidase II) and the ABL1 kinase domain are promising molecular targets that have recently received immense attention for the development of leukemia therapies. In this research work, a study of the cytotoxic properties of phthalimido-1, 3-thiazole derivatives towards tumor cell lines MOLT-4 and TOLEDO was carried out by a combination of different computational chemistry methods, namely: molecular docking/dynamics simulations, ADME prediction and QSAR. A molecular docking/dynamics study was performed on a series of twenty-two phthalimido-1, 3-thiazole derivatives with two enzymes 6DDQ and 4WA9. Twelve best inhibitors were identified based on their free energy scores. These molecules form stable complexes with the two enzymes. Several interactions are established between these molecules and the residues of the active sites, namely: H-donor bonds, H-acceptors bonds and Pi-H type interactions. A quantitative structure/activity relationship study was applied to the same series of compounds using the method of the multiple linear regressions (MLR). Two QSAR models were developed for the two cytotoxic activities towards the two cell lines MOLT-4 and TOLEDO. The prediction of the obtained models was confirmed by the LOO cross-validation method. A strong correlation was observed between the experimental and predicted values of the two biological activities, which indicate the validity and predictive quality of the QSAR models obtained.

Key words: Acute lymphoblastic leukemia ALL, MOLT-4, TOLEDO, Molecular docking/dynamic, QSAR, AD

