



**Université Mohamed Khider de Biskra**  
**Faculté des Sciences Exactes, des Sciences**  
**De La Nature et de La Vie**  
**Département des Sciences de la Matière**

# **MÉMOIRE DE MASTER**

Domaine : Science de la matière  
Filière : Chimie  
Spécialité : Chimie pharmaceutique

Réf : /

---

Présenté et soutenu par :

**Barkat Nardjes et Belkhadem Oumaima**

**Le : 19 juin 2022**

## **Etudes Docking moléculaire et ADMET des dérivés de la Xanthone pour l'activité anticancéreuse ciblant l'ADN Topoisomérase II –alpha**

---

**Jury :**

Ouassaf Mebareka	M.C.A	Université Mohamed Khider de Biskra	Rapporteur
Mazeri Radhia	M.C.B	Université Mohamed Khider de Biskra	Présidente
Mellaoui Malika	M.C.B	Université Mohamed Khider de Biskra	Examinatrice

Année universitaire : 2021/2022



## Remerciements

Avant tout, Nous commencerons par remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et la foi et de nous avoir permis d'arriver à ce stade.

Nous remercions notre encadreur, **Dr. OUASSAF Mebarka**, pour sa présence tout au long de la préparation de ce mémoire, ainsi que pour ses conseils, sa confiance, sa patience tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous remercions les membres du jury **Dr. MAZERI Radhia** et **Dr. MELLAOUI Malika** pour nous faire l'honneur D'examiner notre Mémoire.

Nos chères familles.

Tous les enseignants du département de chimie et les étudiants de la promotion 2021 /2022.

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

**Merci à tous**





## Dédicace

Merci **ALLAH** de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve, Je dédie ce travail à **Ma mère**, bénédiction et la lumière de ma vie, pour sa tendresse infinie et ses sacrifices, **Mon père**, raison de ma vie pour son amour, son soutien et ses encouragements dans les moments les plus difficiles , je suis chanceux d'être leur fille , A toute ma famille, À mes chers frères **Aymen**, **Moundji** et ma charmante petite sœur **Loudjaine**. A tous mes amis et surtout ma meilleure amie et binôme **Oumaima** pour leurs sympathies et pour aider et supportés dans les moments difficiles.

Merci pour votre amour sans fin, vos prières, vos sacrifices et vos conseils.

**Nardjes Barkat**





## Dédicace

Merci **ALLAH** de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve, Je dédie ce travail à **Ma mère**, la perle rare, la flamme de ma vie pour sa tendresse infinie et ses sacrifices, **Mon père**, raison de ma vie , pour son amour, son soutien et ses encouragements dans les moments les plus difficiles, A toute ma famille, À mes chers frères **Aymen, Oussama, Badreddine , Dihaa El-Dine** et ma charmante petite sœur.

A tous mes amis et surtout ma meilleure amie et binôme **Nardjes** pour leurs sympathies et pour aider et supportés dans les moments difficiles.

Merci pour votre amour sans fin, vos prières, vos sacrifices et vos conseils.

**Belkhadem Oumaima**



# Résumé

La topo isomérase II (TopoII) nucléaire assure la relaxation de l'ADN et permet le bon déroulement de la transcription et de la réplication ainsi que leur coordination. Ces différentes propriétés en ont fait une cible privilégiée pour le développement d'anticancéreux.

Dans ce travail, afin de développer des nouveaux médicaments candidats dans l'égard de traiter la maladie de cancer, le Docking moléculaire par le logiciel MOE été consacré, cette méthode a permis de réaliser le criblage virtuel de 121 composés (dérivés de Xanthrone) envers le site actif de l'ADN topo isomérase II $\alpha$  (1ZXM).

Seuls 25 composés ont présentés une affinité supérieure au composé de référence (ANP) et le Mitoxantrone dont le score est respectivement égal à -7.17kcal/mol et -8.31 kcal/mol. Des serveurs Web tels que, Molinspiration et pkCSM ont été utilisés pour prédite et analyse les propriétés DRUG-LIKENESS et propriétés pharmacocinétiques(ADMET), les résultats in silico, qui à leur tour se sont avérés en appliquant l'étude de la dynamique moléculaire, nous ont permis de conclure que les composés 29 et 52 pourraient être un futur candidat médicament inhibiteur potentiel de la 1ZXM.

**Mots clés :** ADN topo isomérase II $\alpha$ , Docking moléculaire, Dynamique moléculaire, DRUG-LIKENESS, ADMET.

# Abstract

Human nuclear topoisomerase II (TopII) is involved in the relaxation of DNA supercoiling during transcription and replication but also play a pivotal role in the segregation of newly replicated chromosomes and in chromatin remodeling. Top II have been used as targets for the development of anticancer drugs.

In this work, in order to develop new drug candidates in the consideration of treating cancer disease, the molecular Docking by the MOE software was devoted, this method made it possible to carry out the virtual screening of 121 compounds (derivatives of Xanthone) against the active site of DNA topoisomerase II $\alpha$  (1ZXM).

Only 25 compounds showed a higher affinity than the reference compound (ANP) and Mitoxantrone whose score is respectively equal to -7.17kcal/mol and -8.31 kcal/mol. Web servers such as, Molinspiration and pkCSM were used to predict and analyze DRUG-LIKENESS and Pharmacokinetic properties (ADMET), in silico results, which in turn proved by applying the study of molecular dynamics, we concluded that compounds 29 and 52 could be a potential future 1ZXM inhibitor drug candidate.

**Keywords:** DNA topoisomerase II $\alpha$ , Molecular Docking, Molecular Dynamics, DRUG-LIKENESS, ADMET.



## ملخص

يضمن التوبوزوميراز النووي استرخاء الحمض النووي ويسمح بالتشغيل السلس للنسخ والتكرار وكذلك التنسيق بينهما. جعلت هذه الخصائص المختلفة منه هدفًا رئيسيًا لتطوير الأدوية المضادة للسرطان.

في هذا العمل ، من أجل تطوير مرشحين جدد للعقاقير لعلاج مرض السرطان ، تم تخصيص الإرساء الجزيئي بواسطة برنامج MOE، وقد أتاحت هذه الطريقة إجراء فحص افتراضي لـ 121 مركبًا (مشتقات Xanthrone) في الموقع النشط التوبوزوميراز (1ZXM)

أظهر 25 مركبًا فقط تقاربًا أعلى من المركب المرجعي ANP والدواء Mitoxantrone، حيث كانت النتيجة على التوالي تساوي 7.17- كيلو كالوري / مول و 8.31- كيلو كالوري / مول. تم استخدام Molinspiration و pkCSM للتنبؤ وتحليل تشابه الأدوية وخصائص الحركة الدوائية (ADMET). في نتائج السيليكو وكانت النتائج جيدة، والتي أثبتت بدورها من خلال تطبيق دراسة الديناميك الجزيئية، في الاخير خلصنا إلى أن المركبين 29 و 52 يمكن أن يكونا مرشحين محتملين كمثبطين ل 1ZXM في المستقبل.

**الكلمات المفتاحية:** الالتحام الجزيئي، الديناميكية الجزيئية، تشابه الأدوية، خصائص الحركة الدوائية.

# Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale.....1

Les références.....3

## CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA TOPOISOMERASE II

**1. Généralité sur l'ADN..... 4**

1.1. Structure de l'ADN..... 4

1.2. Le superenroulement de l'ADN ..... 5

1.2.1. Compaction de l'ADN..... 5

1.2.2. Transcription..... 5

1.2.3. Réplication..... 5

**2. Topoisomérase type II..... 5**

2.1. Le clivage de l'ADN ..... 7

2.2. Les topoisomérases de type II $\alpha$  ..... 7

2.3. Structure du domaine de la topoisomérase II $\alpha$  ..... 8

2.4. Les fonctions des Topoisomérase II ..... 9

2.4.1. Dans la réplication et la transcription..... 9

2.4.2. Dans la ségrégation et la structure des chromosomes ..... 9

3. Cycle catalytique de topoisomérase II..... 10

**4. La topoisomérase II et le traitement du cancer..... 12**

4.1. Les inhibiteurs de topoisomérase II $\alpha$  ..... 12

4.1.1. Les poisons..... 13

4.1.2. Les inhibiteurs catalytiques..... 13

4.2. Les inhibiteurs de Topo II $\alpha$  à base naturel " XANTHONE " ..... 14

4.2.1. Définition de Xanthone ..... 14

4.2.2. La structure et les propriétés chimique de XANTHONE..... 15

4.2.3. Le rôle de Xanthone sur la santé ..... 15

Les références..... 16



## CHAPITRE II : MÉTHODES DE CRIBLAGE VERTIEL IN SILICO

<b>1. Introduction</b> .....	<b>21</b>
<b>2. Le criblage virtuel</b> .....	<b>21</b>
<b>3. Les stratégies de criblage virtuel</b> .....	<b>21</b>
<b>4. Le Docking moléculaire</b> .....	<b>22</b>
4.1. Le récepteur.....	23
4.2. Les ligands .....	24
4.3. Les interactions protéines-ligands.....	25
4.3.1. Les interactions de Van Der Walls.....	25
4.3.2. Les liaisons hydrogènes .....	26
4.3.3. Les interactions hydrophobes .....	26
4.3.4. Les interactions électrostatiques.....	26
<b>5. Les étapes de Docking</b> .....	<b>27</b>
5.1. Le Docking.....	27
5.2. Le scoring. ....	27
<b>6. Protocole de Docking</b> .....	<b>28</b>
<b>7. Les fonctions de score</b> .....	<b>29</b>
7.1. Fonctions de score basées sur les champs de force .....	29
7.2. Fonctions de score empiriques .....	29
7.3. Fonctions de score basées sur la connaissance « knowledge-based » .....	29
7.4. Fonctions de score consensus.....	29
<b>8. Logiciels de Dockings moléculaires</b> .....	<b>30</b>
<b>9. Les paramètres de "DRUG-LIKNES"</b> .....	<b>30</b>
9.1. Règle de LIPINSKI .....	31
9.2. Règle de VEBER.....	31
<b>10. Les propriétés ADMET</b> .....	<b>32</b>
10.1. Absorption.....	32
10.2. La distribution .....	33
10.3. Métabolisme .....	34
10.4. L'élimination.....	34
10.5. La toxicité.....	34
<b>11. La dynamique moléculaire</b> .....	<b>35</b>
11.1. Principe .....	35
11.2. Mise en œuvre d'un calcul de DM .....	36
<b>Les références</b> .....	<b>37</b>

## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

<b>1.Introduction.....</b>	<b>42</b>
<b>2.Matériel et outils utilisés.....</b>	<b>42</b>
2.1. Micro-ordinateur .....	42
2.2. Banques (bases) de données et outils logiciels.....	43
2.2.1.La banque de données sur les protéines « PDB » .....	43
2.2.2.ChemDraw Ultra .....	44
2.2.3.MOE (Molecular Operating Environment).....	44
2.2.4.HyperChem .....	45
2.2.5.BIOVIA Discovery Studio Visualizer .....	46
2.2.6.Molinspiration .....	47
<b>3.Méthodologie des calculs .....</b>	<b>48</b>
3.1. Préparations de l'enzyme .....	49
3.2. Détection de cavité .....	50
3.3. Préparations des ligands .....	52
3.4. Simulation de Docking moléculaire .....	52
3.5. Prédiction des propriétés moléculaires des ligands .....	53
3.6. Prédiction des propriétés ADMET .....	53
3.7. Simulation de dynamique moléculaire .....	54
<b>4.Résultats et discussion .....</b>	<b>55</b>
4.1.Résultats de Dockings moléculaires.....	55
4.1.1.Étude des interactions enzyme -ligand .....	59
4.1.2.Discussion de Docking moléculaire .....	78
4.2.Résultats des propriétés moléculaires (DRUG LIKNESS) .....	79
4.2.1.Application de la règle de cinq (règle de LIPINSKI) .....	79
4.2.2.Application de la Règle de VEBER.....	81
4.3. Résultats des propriétés ADMET .....	83
4.3.1.Absorption .....	83
4.3.2.Distribution .....	85
4.3.3.Mitabolisme .....	87
4.3.4.Élimination .....	88
4.3.5.Toxicité .....	89
4.4. Résultats de dynamique moléculaire .....	91
<b>Les références.....</b>	<b>95</b>
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>98</b>
<b>Annexes</b>	



# Liste des tableaux

## Chapitre I

**Tableau I.1** la structure et les propriétés chimiques de Xanthone.

## Chapitre II

**Tableau II.1** exemples de logiciels de Docking.

## Chapitre III

**Tableau III.1** présentant les caractéristiques des ordinateurs utilisés.

**Tableau III.2** donnés cristallographiques

**Tableau III.3** les propriétés de la deuxième cavité (site actif) de l'enzyme 1ZXM

**Tableau III.4** résultats de RMSD et SCORE de l'enzyme 1ZXM avec les ligands

**Tableau III.5** les interactions des meilleurs inhibiteurs de l'enzyme 1ZXM

**Tableau III.6** la suite du tableau « III.5 »

**Tableau III.6** interactions entre l'ANP et les résidus de site actif de l'enzyme 1ZXM

**Tableau III.7** les interactions entre le Mitoxantrone et l'enzyme 1ZXM

**Tableau III.8** interactions entre le ligand 29 et les résidus de l'enzyme 1ZXM

**Tableau III.9** interactions entre le ligand 52 et les résidus du site actif d'enzyme 1ZXM

**Tableau III.10** les interactions entre le ligand 114 et les résidus du site actif de 1ZXM

**Tableau III.11** l'interaction entre le ligand 115 et les résidus de site actif de 1ZXM

**Tableau III.12** interaction entre ligand 117 et les résidus de l'enzyme 1ZXM

**Tableau III.13** interactions entre ligand 118 et les résidus de l'enzyme 1ZXM

**Tableau III.14** interactions entre ligand 102 et les résidus du site actif de l'enzyme 1ZXM

**Tableau III.15** présente les résultats de l'évaluation de la règle de LIPINSKI pour les meilleurs inhibiteurs sur 1ZXM

**Tableau III.16** les résultats de l'absorption

**Tableau III.17** les résultats de distribution

**Tableau III.18** les résultats de métabolisme

**Tableau III.19** les résultats d'élimination

**Tableau III.20** les résultats de toxicité

**Tableau III.21** regroupe les résultats de dynamique moléculaire pour les 2 meilleures poses

**Tableau III.22** structures et nomenclature des meilleurs inhibiteurs.

# Liste des figures

## Chapitre I

**Figure I.1.** structure de l'ADN.

**Figure I.2** structure de l'ADN Topoisomérase II.

**Figure I.3** mécanisme schématique des Topoisomérases II.

**Figure I.4** cassure temporaire du squelette de l'ADN par les Topoisomérases.

**Figure I.5** représentation schématique de la réaction ATP-dépendante opérée sur l'ADN par les Topoisomérases II $\alpha$ .

**Figure I.6** les domaines de Topoisomérase II $\alpha$ .

**Figure I.7** conformation de la Topo II en fonction du cycle catalytique.

**Figure I.8** cycle catalytique des Topo II : le model des deux portes.

**Figure I.9** les différentes familles d'inhibiteurs de Topo II en clinique et en développement.

## Chapitre II

**Figure II 1** les deux grandes stratégies de criblage virtuel (LBVS/SBVS).

**Figure II.2** représentation schématique de Docking.

**Figure II.3** représente le ligand hydrosoluble.

**Figure II.4** représente le ligand liposoluble.

**Figure II.5** les interactions de Vand der Walls.

**Figure II.6** les liaisons hydrogènes.

**Figure II.7** les interactions hydrophobes.

**Figure II.8** les interactions électrostatiques.

**Figure II.9** les étapes de Docking moléculaire.

**Figure II.10** les étapes typiques de Docking.

**Figure II.11** protocole générale de Docking.

**Figure II.12** représentation schématique de devenir d'un médicament dans l'organisme.

## Chapitre III

**Figure III.1** interface du site Protein Data Bank.

**Figure III.2** interface du logiciel CHEMDRAW.

**Figure III.3** interface du logiciel MOE.

**Figure III.4** interfaces d'Hypoercheme.

**Figure III.5** interface du logiciel Discovery Studio.

**Figure III.6** interface de la plateforme Molinspiration.

**Figure III.7** représente la méthodologie de travail.

**Figure III.8** la structure 3D de l'enzyme 1ZXM préparé.

**Figure III.9** la structure chimique du ligand Co-cristallisé (ANP).

**Figure III.10** la cavité (N°2) de l'enzyme 1ZXM.

**Figure III.11** la structure chimique de Mitoxanthrone.

**Figure III.12** représente les résultats de RMSD de tous les ligands.

**Figure III.13** interactions entre le ligand de référence et les résidus de 1ZXM (A/2D, B/3D).

**Figure III.14** l'interaction entre le Mitoxanthrone et les résidus de 1ZXM (A/2D, B/3D).

**Figure III.15** interactions entre le ligand 29 et l'enzyme 1ZXM (A/2D, B/3D).

**Figure III.16** interactions entre le ligand 52 et l'enzyme 1ZXM (A/2D, B/3D).

**Figure III.17** interactions entre le ligand 114 et l'enzyme 1ZXM (A/2D, B/3D).

**Figure III.18** interactions entre le ligand 115 et l'enzyme 1ZXM (A/2D, B/3D).

**Figure III.19** interactions entre ligand 117 et l'enzyme 1ZXM (A/2D, B/3D).

**Figure III.20** interactions entre ligand 118 et l'enzyme 1ZXM (A/2D B/3D).

**Figure III.21** interactions entre ligand 102 et l'enzyme 1ZXM (A/2D B/3D).

**Figure III.22** évaluation de l'énergie potentielle de complexe 29-1ZXM en fonction de temps.

**Figure III.23** évaluation de l'énergie potentielle de complexe 52-1ZXM en fonction de temps.

## Liste des abréviations

**1ZXM** : Enzyme ADN topoisomérase II $\alpha$ .

**5Y-CAP** : Deuxième module catalytique de l'enzyme.

**3D** : Trois dimensions.

**2D** : Deux dimensions.

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**ARN**: Acide ribonucléique.

**ADMET** : Absorption, Distribution, Métabolisme, Élimination, Toxicité .

**ANP** : Ligand de référence « phosphoaminophosphonic acid-adenylate ester ».

**ATP** : Adénosine Triphosphate.

**Asp**: Acide Aspartique.

**Ala**: Alanine.

**Asn**: Asparagine.

**BBB** : Blood-Brain Barrier (barrière hémato-encéphalique).

**CYP 450** : L'enzyme CYtochromes P 450.

**Cys**: Cystéine.

**DM** : Dynamique moléculaire.

**Gln**: Glutamine.

**Gly**: Glycine.

**Glu** : Acide Glutamique .

**HTS** : High Throughput Screening.

**His**: Histidine.

**Ile**: Isoleucine.

**Kp** : Coefficient de perméabilité cutanée.

**LD50** : La dose létale médiane.

**LBVS**: Ligand-based virtual screening .

**Leu** : Leucine.

**Lys** : Lysine.

**MM+** : Méthode mécanique moléculaire.

**MOE** : Molecular Operating Environment .

**MMFF94x**: Champ de force.

**Met**: Méthionine

**NV** : Nombre de Violation.



**NRB** : Nombre des liaisons Rotatives (Rotatable bonds).

**OCT2** : Le transporteur rénal de cations organiques 2 .

**P-gp**: Glycoprotéine P .

**Phe**: Phénylalanine.

**PM 3** : Méthode semi-empirique.

**PDB** : La banque de données.

**PM** : Poids Moléculaire.

**PS**: Pico Second.

**Pro**: Proline

**QSAR** : Relation structure – activité quantitative.

**RMN** : Résonance magnétique nucléaire.

**SNC** : Système Nerveux Centrale.

**SBVS**: Structure-based virtual screening.

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

**Ser**: Serine.

**Topo II**: Topoisomérase II $\alpha$ .

**Topo I**: Topoisomérase I.

**Thr**: Thréonine.

**Trp**: Tryptophane.

**Tyr** : Tyrosine.

**TPSA**: Topological Polar Surface Area.

**UMA** : Unité de masse atomique .

**VDS** : Volume de Distribution .

**VDW**: Van Der Waals.

**Val** : Valine.



# INTRODUCTION GENERALE

Le cancer est un problème de santé publique qui est en nette progression à travers le monde<sup>1</sup>. Il touche toutes les catégories de la population mondiale. Le cancer est le résultat d'une dérégulation des systèmes de contrôle de la croissance des cellules, dérégulation qui entraîne la prolifération anarchique et incessante de plusieurs cellules ; alors que, dans les tissus sains, cette prolifération est contrôlée, harmonieuse et utile puisqu'elle sert à réparer les pertes cellulaires accidentelles dues à des plaies, à des agressions ou au vieillissement. Ce processus aboutit à la formation, au sein du tissu, d'une masse de cellules anormales appelée "tumeur"<sup>2</sup>.

Le mot "cancer" est un terme générique qui désigne près de 150 types de tumeurs différentes affectant les divers tissus du corps. On ne parle donc pas "du" cancer, mais "des" cancers car, en fonction des organes atteints, un ensemble de maladies très différentes dans leur origine, leur développement et leur traitement est rencontré<sup>2</sup>.

La chimiothérapie anticancéreuse fait appel à des médicaments qui interfèrent avec le fonctionnement cellulaire aboutissant à la mort cellulaire (médicaments cytotoxiques) ou à l'arrêt de la prolifération cellulaire (médicaments cytostatiques) des cellules cancéreuses actives, c'est-à-dire celles qui se multiplient et prolifèrent. Ces substances permettent d'inhiber la synthèse de matériaux utiles à la cellule pour se reproduire. Elles agissent en endommageant le matériel héréditaire, c'est-à-dire l'ADN. Ceci aboutit à la mort de la cellule. Au cours des dernières années, les ADN Topo isomérases ont suscité un intérêt considérable, car elles se sont révélées être les cibles cellulaires de plusieurs médicaments anticancéreux.<sup>3</sup>

Les Xanthones comme la plupart des anticancéreux, sont d'origine végétale. Le composé parent de cette classe d'alcaloïdes cytotoxiques, issu de divers plantes comme les Gentianaceae, sont constituées d'arbres, d'arbustes ou généralement d'herbes, un polyphénole qui a une cible cellulaire, la Topoisomérase II (TopoII), une enzyme nucléaire qui permet à l'ADN superenroulé de se détendre, permettant les phénomènes de réplication, de recombinaison, de transcription et de réparation de l'ADN<sup>4</sup>.

Malgré l'importance des inhibiteurs du Topo II $\alpha$  en tant qu'agents anticancéreux, ces médicaments sont associés à des effets secondaires graves, tels que la cardiotoxicité, le développement de tumeurs malignes secondaires et la multi résistance<sup>5</sup>. Par conséquent, il est urgent d'explorer de nouveaux inhibiteurs spécifiques de Topo II $\alpha$  qui non seulement tuent les cellules cancéreuses, mais génèrent également beaucoup moins de dommages à l'ADN pour une meilleure thérapie des cancers.



D'autre part la modélisation moléculaire peut être considérée comme une gamme de techniques informatisées basées sur des méthodes de chimie théorique et des données expérimentales qui peuvent être utilisées soit pour analyser des molécules et des systèmes moléculaires, soit pour prédire des propriétés moléculaires, chimiques et biochimiques<sup>6</sup>. Elles s'imposent souvent lorsque l'expérience réelle est trop difficile, trop dangereuse, trop coûteuse, trop longue ou trop rapide, éthiquement inacceptable, ou même impossible à réaliser. Elles permettent, actuellement, non seulement d'élaborer les mécanismes de complexations et les profils énergétiques mais également de justifier et prédire les conformations les plus stables ainsi que les interactions existantes entre une enzyme et un ligand.

Parmi les méthodes de la modélisation moléculaire on trouve le Docking (amarrage) et la dynamique moléculaire. Ces dernières sont des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée<sup>7</sup>.

L'objectif de notre travail est d'étudier les interactions existantes entre une série de 121 des molécules avec l'enzyme ADN Topoisomérase II $\alpha$  en combinant entre trois méthodes à savoir : Docking moléculaire, Dynamique moléculaire et propriétés ADMET.

La présentation générale de notre travail sera la suivante :

**Une Introduction générale** dans laquelle nous avons donné un aperçu sur le cancer et précisé l'objectif de notre travail.

**Dans le premier chapitre** nous présentons des informations générales sur le récepteur de l'ADN Topo isomérase II et leurs inhibiteurs.

**Le deuxième chapitre** est consacré à la description des différentes méthodes de la modélisation moléculaire. (Docking moléculaire, Dynamique moléculaire).

**Le troisième chapitre** rassemble l'essentiel de nos résultats et une discussion.

**Une conclusion générale** dont laquelle nous synthétisons le travail réalisé ainsi que nos perspectives.

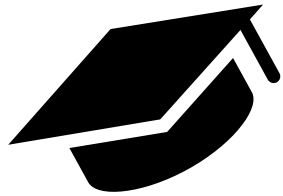




## Les références

1. Dangou, J.; Sambo, B.-H.; Moeti, M.; Diarra-Nama, A.-J., Prévention et lutte contre le cancer dans la région africaine de l'OMS: un appel à l'action. *Journal africain du cancer/African Journal of Cancer* 2009, 1 (1), 56-60
2. Thèse « Samia BEGHOUL » (LES INHIBITEURS DE TOPOISOMERASE I EN CANCEROLOGIE. MISE EN EVIDENCE D'UN NOUVEAU MECANISME D'ACTION PRO-APOPTOTIQUE DE LA CAMPTOTHECINE) Le 07 juillet 2008
3. C Amjad, M. T.; Chidharla, A.; Kasi, A. *Cancer Chemotherapy*. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island (FL), 2022.
4. Wall, M. E.; Wani, M. C. Antimutagenic Agents from Natural Products of Terrestrial and Marine Origin. In *Antimutagenesis and Anticarcinogenesis Mechanisms III*; Bronzetti, G., Hayatsu, H., De Flora, S., Waters, M. D., Shankel, D. M., Eds.; Basic Life Sciences; Springer US: Boston, MA, 1993; pp 87–97. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2984-2\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2984-2_7).
5. Chen, W.; Qiu, J.; Shen, Y. M. Topoisomerase II $\alpha$ , Rather than II $\beta$ , Is a Promising Target in Development of Anti-Cancer Drugs. *Drug Discov Ther* 2012, 6 (5), 230–237.
6. H.-D. Höltje, G. Folkeis, *Molecular Modeling: Basic Principles and Applications*. VCH, New-York, 1997.
7. Kitchen D-B et al. Docking and Scoring in virtual screening For drug discovery : methods and application , *Nat .Rev .Drug.Discov* .3 :935-49.2004.





# **Chapitre I**

## Généralités sur la Topo isomérase II

## 1. Généralité sur l'ADN

### 1.1. Structure de l'ADN

L'ADN (acide désoxyribonucléique) constitue le matériel génétique cellulaire, contenu dans les chromosomes du noyau cellulaire et des mitochondries. À l'exception de certaines cellules (par exemple, les spermatozoïdes, les ovules et les globules rouges), le noyau d'une cellule contient 23 paires de chromosomes. Un chromosome porte de nombreux gènes. Un gène est un segment d'ADN qui fournit le code nécessaire pour fabriquer une protéine.

La molécule d'ADN est une longue double hélice, semblable à un escalier en colimaçon. Elle comprend deux brins formés d'un sucre (le désoxyribose) et de molécules de phosphate reliées entre elles par quatre molécules appelées bases associées par paires, qui forment les marches de l'escalier. Dans les barreaux, l'adénine est couplée à la thymine et la guanine à la cytosine. Chaque paire de bases est reliée par une liaison hydrogène. Un gène est constitué d'une séquence de bases. Les séquences de trois bases codent pour un acide aminé (les acides aminés sont les briques qui constituent les protéines) ou pour d'autres informations<sup>1</sup>.

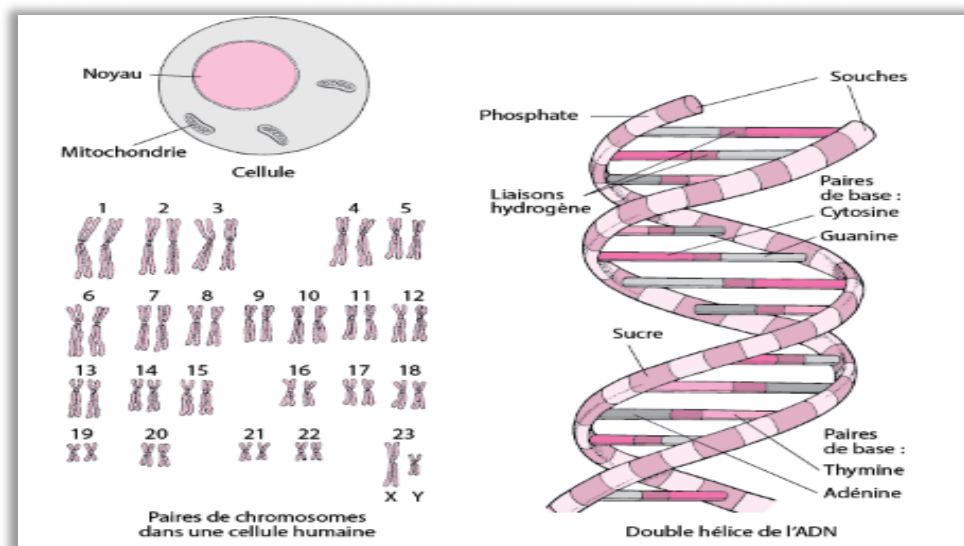


Figure I.1 structure de l'ADN



### 1.2. Le superenroulement de l'ADN

Le super-enroulement est une composante essentielle du bon fonctionnement des cellules procaryotes et eucaryotes. Il est impliqué dans de nombreux processus biologiques, comme par exemple la compaction de l'ADN, la transcription et la réplication de l'ADN<sup>2</sup>.

#### 1.2.1. Compaction de l'ADN

Le super-enroulement permet de compacter très efficacement l'ADN. Chez les procaryotes, le sous-enroulement crée des structures plectonémiques très serrées, qui favorisent en particulier la séparation des molécules d'ADN lors de la réplication<sup>3</sup>.

Chez les eucaryotes, L'ADN est compacté grâce par la formation d'une structure mixte d'ADN et de protéines extrêmement hiérarchisée, de sorte que le génome tout entier d'ADN pour les cellules somatiques humaines), tienne dans le noyau de la cellule.

#### 1.2.2. Transcription

Le super-enroulement négatif de l'ADN favorise la déstabilisation de la double-hélice, spécialement dans les régions riches en A-T. En conséquence, il facilite la séparation des brins et l'insertion d'un complexe enzymatique qui accompagne l'ARN polymérase.

Par ailleurs, la transcription peut aussi modifier de manière transitoire et locale l'état de superenroulement de l'ADN<sup>2</sup>.

#### 1.2.3. Réplication

Le super-enroulement négatif favorise également l'initiation du processus de réplication de l'ADN. Par contre, la progression de la fourche de réplication entraîne l'apparition d'une contrainte de torsion positive dans la molécule en cours de réplication<sup>2</sup>.

## 2. Topoisomérase type II

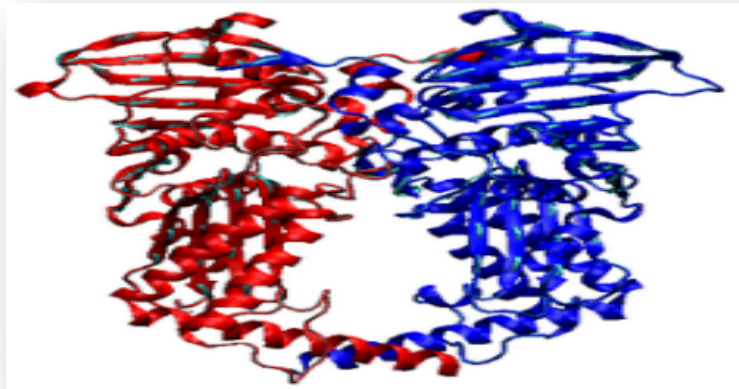
L'ADN topoisomérase II (Topo II) est une enzyme omniprésente qui peut modifier l'état topologique de l'ADN et démêler les hélices d'ADN entrelacées<sup>4,5</sup>(**Figure I.1**).En tant que tel, Topo II joue un rôle essentiel dans plusieurs événements cellulaires, tels que la réplication<sup>6</sup>,la condensation de la chromatineet la ségrégation des chromatides sœurs<sup>6,7</sup>.Fonctionnant comme un homodimère, le Topo II se lie à l'ADN double brin et se



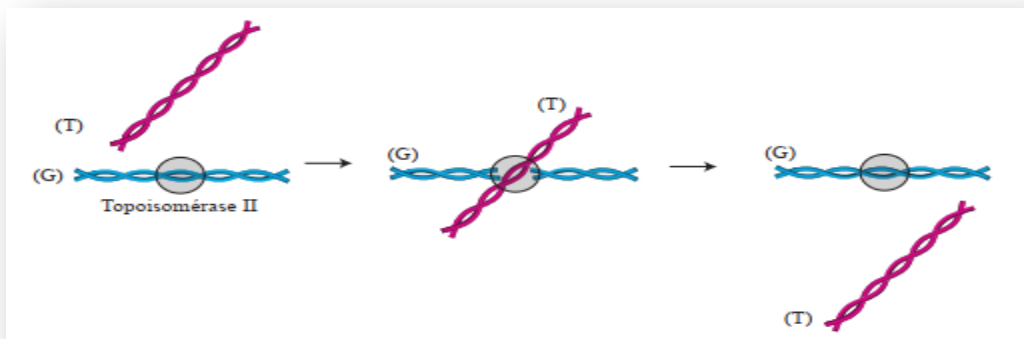


fixe de manière covalente aux deux brins de l'hélice, entraînant des cassures d'ADN dans chaque brin. Lors de la liaison de l'ATP au complexe Topo II-ADN, une seconde hélice d'ADN peut traverser le complexe clivable, suivie d'une hydrolyse de l'ATP et d'un rescellement de l'ADN double brin clivé<sup>8,9</sup>(**Figure I.2**). La capacité de Topo II à faire passer des molécules d'ADN duplex permet à l'enzyme de séparer des molécules d'ADN entièrement répliquées avant la ségrégation des chromosomes<sup>10</sup>.

Il existe deux isoformes Topo II, Topo II $\alpha$  (170 kDa) et Topo II $\beta$  (180 kDa), présentes dans les cellules de mammifères. Bien que les deux enzymes soient étroitement liées dans leur structure, elles diffèrent par des propriétés biochimiques et pharmacologiques importantes, notamment la sensibilité aux médicaments ciblant le Topo II, la stabilité thermique, la localisation cellulaire et la régulation du cycle cellulaire<sup>11</sup>.



**Figure I.2** structure de l'ADN Topoisomérase II

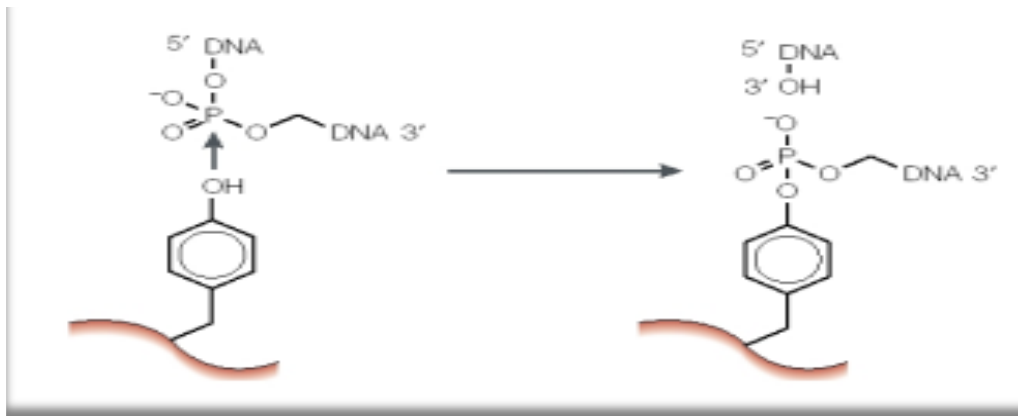


**Figure I.3** mécanisme schématique des Topoisomérases II



## 2.1. Le clivage de l'ADN

Modifier l'état d'enroulement de l'ADN en effectuant le passage d'un simple brin ou d'un double brin à travers un autre nécessite un clivage d'au moins l'un des deux brins dans la molécule. Quelles que soient les topoisomérases, la réaction de cassure s'effectue par une attaque nucléophile d'un oxygène d'une tyrosine de l'enzyme sur un groupement phosphate du squelette de l'ADN<sup>12</sup>. Ainsi, il se forme une liaison phosphodiester covalente temporaire entre l'enzyme et l'ADN. La (Figure I.4) montre le principe de la réaction, dans le cas des topoisomérases II ou I $\alpha$  (voir plus bas pour la classification) : un groupement OH est laissé sur du côté 3' sur le squelette (alors qu'il est laissé sur le côté 5' pour les topoisomérases I $\beta$ ).



**Figure I.4.** Cassure temporaire du squelette de l'ADN par les topoisomérases.

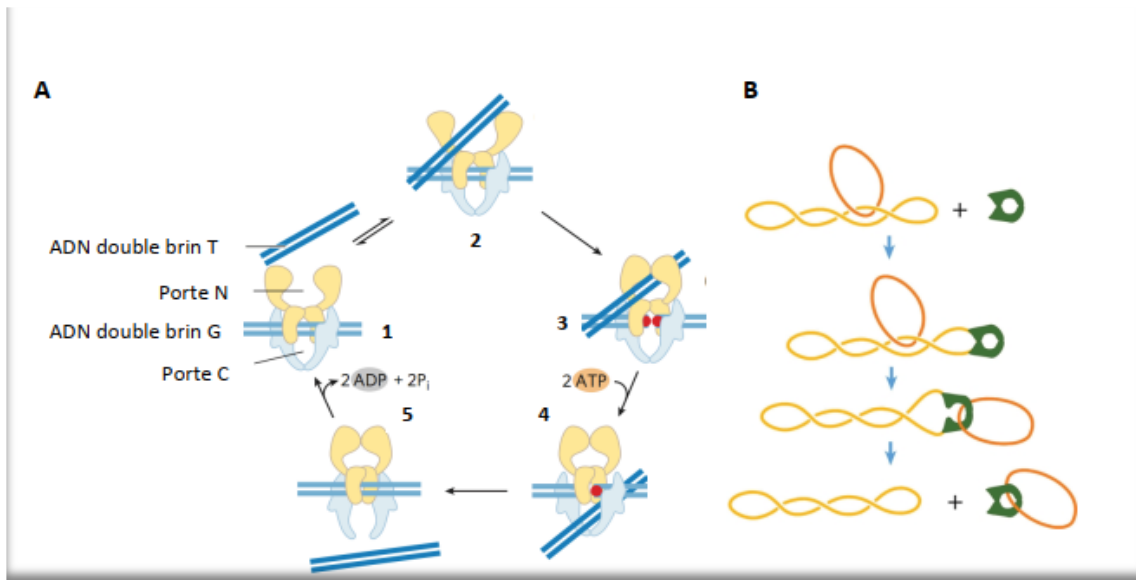
## 2.2. Les topoisomérases de type II $\alpha$

Topo II $\alpha$  est une cible pour une grande variété de médicaments cytotoxiques structurellement divers, y compris certains des médicaments anticancéreux les plus importants tels que la Doxorubicine, le MAMSA, la Metoxantrone et l'Étoposide<sup>13,14</sup>. Les médicaments ciblés contre le topo II piègent l'enzyme dans un complexe dit clivable, inhibant ainsi son bon fonctionnement<sup>13</sup>. Cela se traduit par l'accumulation de cassures d'ADN double brin, qui sont mortelles pour la cellule<sup>13</sup>

Ces enzymes clivent les deux brins d'un duplex ADN et passent un second duplex d'ADN à travers la coupure transitoire suivant une réaction couplée au turnover de l'ATP en présence d'ions  $Mg^{2+}$ <sup>15</sup>(Figure I.5.) Les brins coupés sont ligués puis relargués par l'enzyme. Ces enzymes sont caractérisées par deux sous-unités homodimériques, l'une



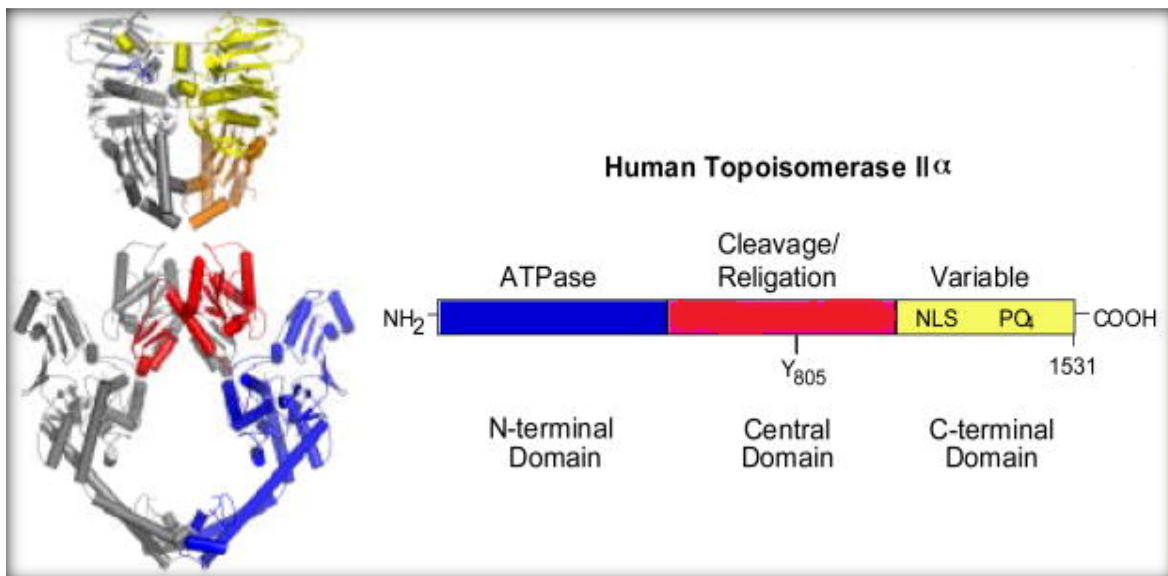
correspondant au domaine ATPase et l'autre correspondant au domaine de fixation, de coupure de l'ADN et de ligation<sup>16</sup>.



**Figure I.5** représentation schématique de la réaction ATP-dépendante opérée sur l'ADN par les topoisomérases de type II $\alpha$

### 2.3. Structure du domaine de la topoisomérase II $\alpha$ :

Les structures primaires des topoisomérases II $\alpha$  et II $\beta$  sont très similaires et peuvent être divisées en trois domaines basés sur l'homologie de séquence avec l'enzyme bactérienne de type II, l'ADN gyrase (**Figure I.6**).



**Figure I.6** les domaines de topoisomérase II $\alpha$



- **Le domaine N-terminal** : (~ 670 premiers acides aminés) de la topoisomérase II contient le site de liaison et d'hydrolyse de l'ATP<sup>17,18</sup>. Les structures cristallines de ce domaine ont récemment été résolues pour la topoisomérase II de levure<sup>19</sup> (**figure I.5**) et la topoisomérase humaine Ii $\alpha$ <sup>20</sup>.
- **Le domaine central** (acides aminés ~ 671–1200). Cette partie de l'enzyme contient la tyrosine du site actif (acide aminé 805 pour la topoisomérase II $\alpha$  et 821 pour la topoisomérase II $\beta$ ) requise pour le clivage et la ligature de l'ADN<sup>21</sup>.
- **Le domaine C-terminal** : (acides aminés ~1201–1521 pour la topoisomérase II $\alpha$  et ~1201–1621 pour la topoisomérase II $\beta$ ) est très variable entre les espèces et entre les deux isoformes humaines. Alors qu'il est indispensable pour l'activité catalytique in vitro, ce domaine contient des séquences de localisation nucléaire<sup>22,23</sup> et des sites de phosphorylation<sup>22-25</sup>.

## 2.4. Les fonctions des Topoisomérase II

### 2.4.1. Dans la réplication et la transcription

La TopoII joue un rôle central dans la suppression des surenroulements produits lors de la réplication de l'ADN. Ces surenroulements positifs sont créés en amont de la fourche de réplication par l'action des hélicases. Ces surenroulements sont généralement supprimés par l'action des Topo I et des TopoII au cours de l'élongation, mais peuvent conduire à l'enchevêtrement des duplex d'ADN nouvellement synthétisés, structures que l'on appelle « ADN précaténié »<sup>26</sup> dont l'élimination ne peut être effectuée que par la TopoII, surtout lorsqu'ils sont positionnés dans une région où deux fourches se rencontrent. Cela est justifié expérimentalement par le fait que l'inactivation ou la dégradation de la TopoII n'empêche pas le processus d'élongation des fourches, mais ne permet pas l'achèvement de la réplication au niveau des jonctions de fourches et conduit à la mort des cellules lors de la mitose<sup>27,28</sup>.

### 2.4.2. Dans la ségrégation et la structure des chromosomes

La ségrégation est une étape cruciale pour la répartition des chromosomes nouvellement répliqués. Leur cohésion est assurée par des complexes protéiques appelés cohésines<sup>29</sup>, mais aussi par leur caténation sous contrôle direct de la TopoII. Des études montrent que l'altération de l'activité TopoII par dérégulation de son état de SUMOylation induit une séparation précoce des chromatides sœurs chez la levure, suggérant que la Topo II est nécessaire au maintien de cette cohésion. Cette hypothèse est renforcée par la localisation



de la Topo II au niveau des centromères<sup>30</sup>. L'inhibition de RanBP2, E3 ligase impliquée dans la SUMOylation de la Topo II, inhibe cette localisation centromérique de la Topo II, ce défaut étant restauré par l'expression de Topo II exogène<sup>31</sup>. La Topo II joue également un rôle important dans l'organisation structurale des chromosomes et dans la condensation de la chromatine, même si cette dernière peut avoir lieu en l'absence de Topo II.

### 3. Cycle catalytique de topoisomérase II

Pour accomplir le transport adéquat d'une double hélice d'ADN à travers une seconde, les Topo II doivent catalyser diverses réactions et subir plusieurs changements de conformation bien orchestrés. Dans ce modèle, le transport du segment-T à travers le segment-G et l'enzyme est unidirectionnel.

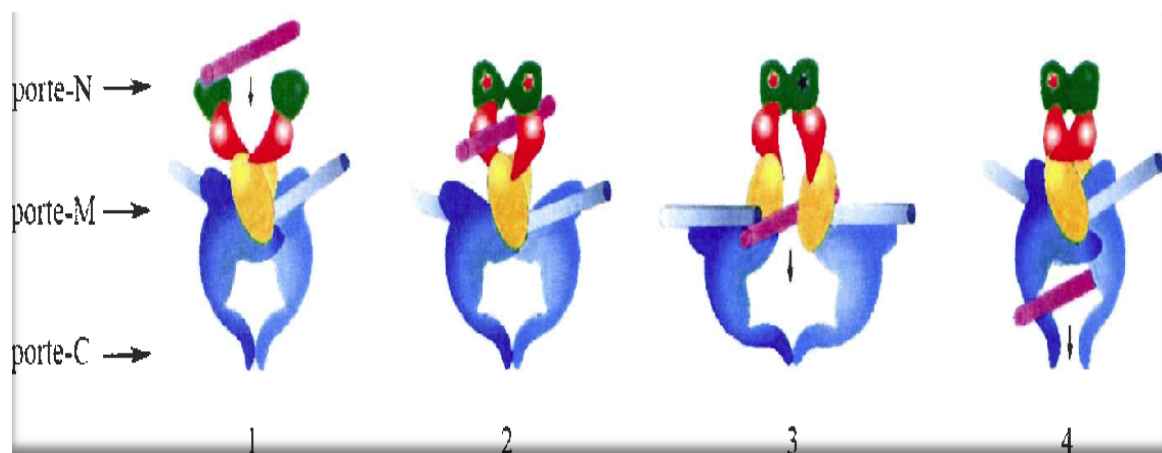
Selon ce modèle, la conformation initiale de l'enzyme ressemble à une structure annulaire sur laquelle le domaine ATPasique prend la forme d'une pince ouverte vers haut. Sous cette forme, seule la porte-N de l'enzyme est ouverte (**Figure I.7.1**). Le segment-G peut ainsi pénétrer à l'intérieur du domaine ATPasique de l'enzyme et accéder au sillon de liaison de l'ADN <sup>32</sup>(**Figure I.8.1**) . La liaison du segment-G d'ADN avec l' enzyme constituerait l'élément déclencheur du cycle catalytique des Topo II. Celui-ci stimulerait la liaison des molécules d'ATP sur le domaine ATPasique de l'enzyme <sup>33</sup> (**Figure I.8.2**), ce qui entraînerait la fermeture de la porte-N et permettrait la capture du segment-T<sup>34,35</sup> (**Figure I.7.2**). Ce premier changement de conformation stimule rapidement l'hydrolyse d'un premier ATP<sup>36</sup> (**Figure I.8.3**) bien que les Topo II soient d'une grande symétrie structurale, ces enzymes procèdent à une hydrolyse séquentielle des ATP liés<sup>37,38</sup>. Aussi, à ce stade du cycle, seulement un des deux ATP liés est hydrolysés. L'ADP alors formé demeure lié à l'enzyme et le Pi est immédiatement relâché. Suite à cette première hydrolyse, les modules GHKL et de captage du domaine ATPasique subissent un changement de conformation qui entraîne le rapprochement des modules 5YCAP du domaine de liaison et de clivage de l'ADN <sup>39,40</sup>.

Une fois les sites actifs de l'enzyme en contact, la réaction de clivage est activée et l'ADN est coupé. Les modules 5Y-CAP sont ensuite séparés et la porte-M s'ouvre (**Figure I.7.3**) . Le segment-T d'ADN serait alors poussé à travers l'ouverture transitoire qui est générée dans le segment-G pour se retrouver dans le cœur de l'enzyme (**Figure I.8.4**). Une fois le transport du segment-T effectué, l'enzyme procède à la ligation du brin d'ADN clivé<sup>41</sup> et au relâchement du premier ADP (**Figure I.8.5**). Le mouvement du domaine de



liaison et de clivage de l'ADN résultant de la ligation du segment-G serait également associée avec l'ouverture du domaine C-terminal . Aussi, rapidement après la fermeture de la porte-M, la porte-C s'ouvre (**Figure I.7.4**) et le segment-T est poussé à l'extérieur de la protéine<sup>35-42</sup> Une fois le transport du segment-T complété, l'enzyme hydrolyse le second ATP<sup>39-41</sup>(**Figure I.8.6**) et procède à la dissociation des modules GHKL.

Aussi, suite à l'ouverture de la porte-N, le segment-G peut se séparer de l'enzyme ou demeurer lié au sillon de liaison pour qu'un deuxième cycle catalytique puisse être initié (**Figure I.8.7**).



**Figure I.7.** Conformation de la Topo II en fonction du cycle catalytique

On peut résumer tous les événements pendant Le cycle catalytique des Topo II est dans ces étapes suivantes :

- Entrée du segment-G d'ADN (vert) dans le domaine ATPasique et sa liaison sur l'enzyme
- Liaison des deux ATP (A) sur le domaine GHKL Gaune) du domaine ATPasique, fermeture du domaine ATPasique et captage du segment-T d'ADN (mauve).
- Liaison du  $Mg^{+2}$ , hydrolyse du premier ATP, libération d'un  $Pi$  et clivage du segment-G
- Passage du segment-T à travers la cassure double brin transitoire.
- Relâchement de l'ADP (D), ligation du segment-G d'ADN, ouverture du domaine C-terminal ou A' (bleu) et sortie du segment- T.





- Hydrolyse du second A TP, relâchement des produits de l'hydrolyse et ouverture du domaine N-terminal.
- Relâchement du segment-G Le domaine t'opprime ou B' est représenté en rouge et le domaine de transmission est en orange.

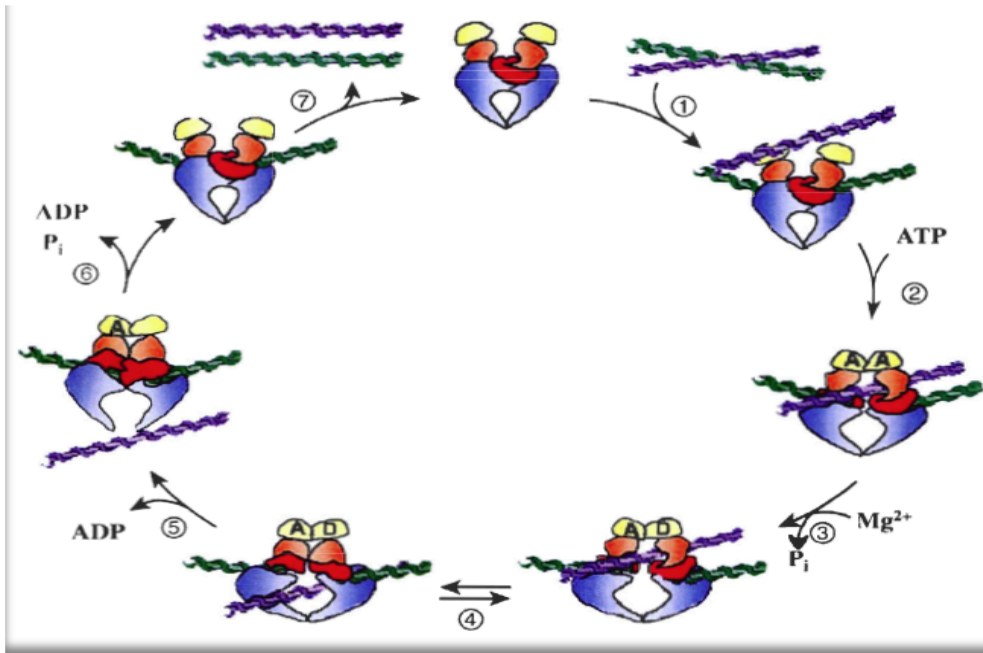


Figure I.8. Cycle catalytique des TopoII : le model des deux portes

#### 4. La topoisomérase II et le traitement du cancer :

L'expression de la TopoII est généralement augmentée dans les cellules de tumeurs malignes. Ceci est probablement dû à la déficience de deux régulateurs de l'expression et de l'activité de TopoII, p53 et pRb, qui sont connus pour être supprimés ou inactivés dans de nombreux cancers. La perte de la fonction de p53 empêchant la détection des dommages de l'ADN et invalidant une importante voie de mort cellulaire, la survie des cellules génétiquement dégradées est alors possible<sup>43</sup>. L'augmentation de l'activité de TopoII ajoutée à la perte de p53 augmente les risques d'instabilité génétique. TopoII est donc une cible de la chimiothérapie prescrite dans le traitement de nombreuses tumeurs (adénocarcinomes, sarcomes, lymphomes, etc...).

##### 4.1. Les inhibiteurs de topoisomérase II $\alpha$

Il existe deux catégories d'inhibiteurs de Topo II : les inhibiteurs catalytiques et les poisons.



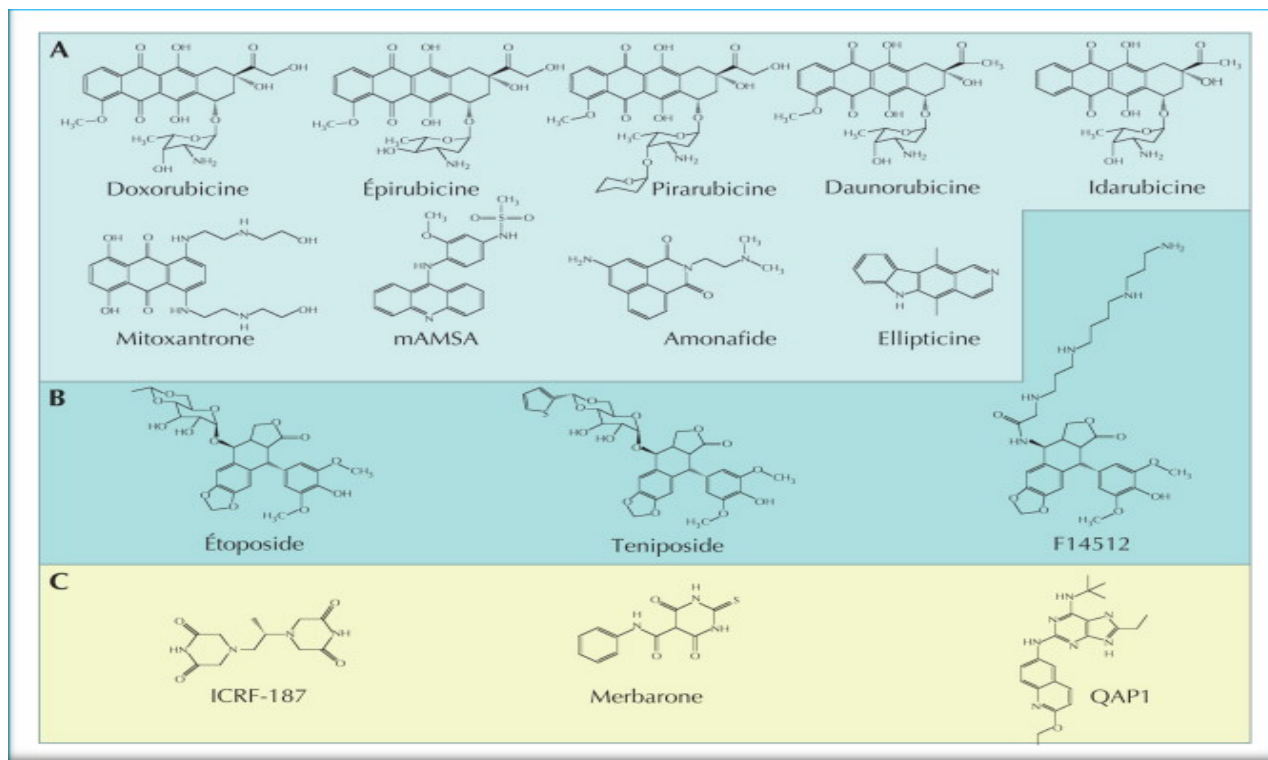
#### 4.1.1. Les poisons

Les drogues qui augmentent la stabilité du complexe de clivage sont appelées poisons de la Topo II, ce sont les poisons de Topo II qui sont les plus utilisés en clinique. Ils appartiennent à plusieurs familles chimiques : les anthracyclines, les épipodophyllotoxines, les amsacrines et les ellipticines (**Figure I.9**). Ces poisons agissent à différents niveaux du cycle catalytique, mais conduisent tous à l'augmentation du nombre de complexes de clivage ADN-enzyme. Principalement reconnues pour leur activité anti-tumorale, ces drogues agissent sur l'enzyme selon deux mécanismes différents<sup>44-47</sup>. Certains poisons, comme l'étoposide et l'amsacrine, stabilisent le complexe de clivage en prévenant la ligature du segment d'ADN clivé. D'autres, dont les quinolones, la genistéine et l'ellipticine, stimulent plutôt l'habileté de l'enzyme à créer des cassures dans l'ADN en générant une distorsion de la double hélice à proximité du site de clivage de l'enzyme, La donaurubicine et l'étoposide sont certainement parmi les molécules les plus prescrites en cancérologie, elles sont très actives. (**Figure I.9**).

#### 4.1.2. Les inhibiteurs catalytiques

Les inhibiteurs catalytiques de la Topo II sont des drogues qui interfèrent avec au moins une des étapes du cycle catalytique des Topo II, excluant le complexe de clivage. Les drogues de cette famille ne favorisent donc pas l'introduction de lésions dans l'ADN et sont, par conséquent, beaucoup moins cytotoxiques que les poisons de la Topo II. Puisque ces inhibiteurs interagissent à différentes étapes du cycle de l'enzyme, plusieurs applications cliniques leur ont été attribuées. Les petites molécules comme les bisdioxopipérazines (ICRF-187 et merbarone) ainsi que le QAP1 (**Figure I.9**) sont des inhibiteurs catalytiques de la Topo II qui ne stabilisent pas le complexe covalent. Les bisdioxopipérazines inhibent de façon non compétitive l'activité ATPase de la Topo II. La merbarone a une certaine spécificité en inhibant la Topo II sans inhiber son interaction avec l'ADN<sup>48</sup>.





**Figure I.9.** Les différentes familles d'inhibiteurs de topoII en clinique et en développement.

**A :** Les antracyclines ,les ansacrine et les elliptiques .

**B :** Les épipodophyllotoxines et dérivés .

**C :** Les inhibiteurs catalytiques des topo II.

## 4.2. Les inhibiteurs de Topo II $\alpha$ à base naturel " XANTHONE "

### 4.2.1. Définition de Xanthone :

Les Xanthonnes sont des composés polyphénoliques naturels avec un squelette simple à trois anneaux, qui existent principalement dans les plantes de Gentianaceae, Moraceae, Guttiferae, Polygalaceae et Leguminosae, ou champignons ainsi que lichen. Il est bien connu que les xanthonnes ont des milliers de dérivés, majoritairement substitués par hydroxyle,méthoxyle, et prényle, etc. Ils ont des propriétés remarquables des activités biologiques et médicinales, notamment antibactériennes, antivirale, anti-oxydante, anti-inflammatoire, antihypertenseur, antithrombotique, anticancéreux, cytotoxique<sup>49</sup>.

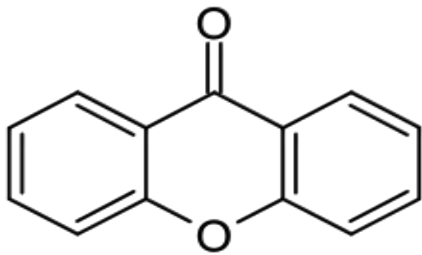
Les xanthonnes sont connues depuis très longtemps ; en 1844 le chimiste écossais Stenhouse (1809-1880) découvre xanthone dans le "jaune indien" un pigment de couleur jaune orangé utilisé en Inde à partir du XV<sup>ème</sup> siècle pour les miniatures ; il était obtenu



après évaporation de l'eau de l'urine des vaches nourries avec des feuilles de manguiers<sup>50</sup>. Quelques xanthones ont également été isolées à partir de champignons<sup>51</sup> et de lichens<sup>52</sup>.

#### 4.2.2. La structure et les propriétés chimique de XANTHONE

Tableau I.1. La structure et les propriétés chimiques de Xanthone

 <p>Structure de la base de XANTHONE</p>	<p>• <b>Quelque propriété chimique</b></p>
	<p><u>La formule chimique</u> : C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub></p>
	<p><u>Aspect</u> : Cristaux en aiguilles lorsque recristallisé dans l'éthanol.</p>
	<p><u>Masse molaire</u> : 196,202 g.mol<sup>-1</sup></p>
	<p><u>Fusion</u> : 174°C</p>
	<p><u>Ébullition</u> : 351°C ; 146°C (sous 3 mm de Hg)</p>
<p><u>Solubilité</u> : Soluble dans l'éthanol, l'éther, le benzène, le chloroforme ; légèrement solubles dans l'éther de pétrole ; insoluble dans l'eau<sup>50</sup></p>	

#### 4.2.3. Le rôle de Xanthone sur la santé :

Les xanthones possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques et biologiques<sup>53</sup>. Elles ont notamment une action bénéfique sur le système nerveux central<sup>54</sup>. La plupart des xanthones sont également antioxydantes et anti-inflammatoires<sup>55</sup>, ces propriétés sont particulièrement intéressantes dans la prévention de certaines maladies, comme le cancer, l'alzheimer ....ect.

Les xanthones ont par ailleurs des propriétés antivirales, antiparasitaires, antifongiques et antibactériennes. Ils sont donc d'une grande aide pour le système immunitaire, constamment sollicité. Pour ne citer que deux exemples, des études ont montré que les xanthones pouvaient détruire le mycobacterium tuberculosis (tuberculose) et la salmonella typhi (fièvre typhoïde)<sup>56</sup>.



**Les références :**

1. Alberts, B « The Structure and Function of DNA ». Molecular Biology of the Cell. 4th edition. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26821/>, al. 2002.
2. Charvin, G. Etudes Des Topoisomérases de Type II Par Micromanipulation d'ADN. These de doctorat, Paris 7, 2004.
3. Hiasa .H. and Marians. K.J. Two distinct modes of strand unlinking during  $\theta$ -type DNA replication. J. Biol. Chem., 271 :21529–21535, 1996.
4. Wang, J. C. DNA topoisomerases. Annu. Rev. Biochem. 54:665–697 , 1985.
5. Wang, J. C. DNA topoisomerases. Annu. Rev. Biochem. 65:635–692 , 1996.
6. DiNardo, S., K. Voelkel, and Sternglanz. R. DNA topoisomerase II mutant for *Saccharomyces cerevisiae*: topoisomerase II is required for segregation of daughter molecules at the termination of DNA replication. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:2616–2620 , 1984.
7. Uemura, T., H. Ohkura, Y. Adachi, K. Morino, K. Shiozaki, and M. Yanagida. DNA topoisomerase II is required for condensation and separation of mitotic chromosomes in *S. pombe*. Cell 50:917–925. 1987.
8. Berger, J. M., S. J. Gamblin, S. C. Harrison, and J. C.. Structure and mécanisme of DNA topoisomerase II. Nature 379:225–232. Wang. 1996
9. Chen, A. Y., and L. F. Liu. 1994. DNA topoisomerases: essential enzymes and lethal targets. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 34:191–218
10. Nitiss, J. L. Roles of DNA topoisomerases in chromosomal replication and segregation. Adv. Pharmacol. 29A:103–134. 1994.
11. Drake, F. H., G. A. Hofmann, H. F. Bartus, M. R. Mattern, S. T. Crooke, and C. K. Mirabelli. Biochemical and pharmacological properties of p170 and p180 forms of topoisomerase II. Biochemistry 28:8154–8160 . 1989.
12. Wang. J. C. Cellular roles of DNA topoisomerases: a molecular perspective.
13. Nat Rev Mol Cell Biol, 3(6):430–40, 2002.
14. Watt PM, Hickson ID: Structure and function of type II DNA topoisomerases. Biochem J 1994, 303:681-695
15. Froelich-Ammon SJ, Osheroff N: Topoisomerase poisons: harnessing the dark side of enzyme mechanism. J Biol Chem 1995, 270:21429-21432
16. Gellert, M.; Mizuuchi, K.; O'Dea, M. H.; Nash, H. A. DNA Gyrase: An Enzyme That Introduces Superhelical Turns into DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences 1976, 73 (11), 3872–3876. <https://doi.org/10.1073/pnas.73.11.3872>.



17. Bailly, C. Contemporary Challenges in the Design of Topoisomerase II Inhibitors for Cancer Chemotherapy. *Chem Rev* 2012, 112 (7), 3611–3640. <https://doi.org/10.1021/cr200325f>.
18. Champoux JJ. DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism. *Annu Rev*;70:369–413. [ PubMed ] [Google Scholar]. *Biochem*. 2001
19. Berger JM, Fass D, Wang JC, Harrison SC. Structural similarities between topoisomerases that cleave one or both DNA strands. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:7876–7881.
20. Classen S, Olland S, Berger JM. Structure of the topoisomerase II ATPase region and its mechanism of inhibition by the chemotherapeutic agent ICRF-187. *Proc Natl Acad Sci U SA*. 2003;100:10629–10634.
21. Wei H, Ruthenburg AJ, Bechis SK, Verdine GL. Nucleotide-dependent domain movement in the ATPase domain of a human type IIA DNA topoisomerase. *J Biol Chem*. 2005;280:37041–37047.
22. Berger JM, Gamblin SJ, Harrison SC, Wang JC. Structure and mechanism of DNA topoisomerase II. *Nature*. 1996;379:225–232.
23. Shiozaki K, Yanagida M. Functional dissection of the phosphorylated termini of fission yeast DNA topoisomerase II. *J Cell Biol*. 1992;119:1023–1036.
24. Cowell IG, Willmore E, Chalton D, Marsh KL, Jazrawi E, Fisher LM, Austin CA. Nuclear
25. DeVore RF, Corbett AH, Osheroff N. Phosphorylation of topoisomerase II by casein kinase II and protein kinase C: effects on enzyme-mediated DNA cleavage/religation and sensitivity
26. Wells NJ, Addison CM, Fry AM, Ganapathi R, Hickson ID. Serine 1524 is a major site of phosphorylation on human topoisomerase II alpha protein in vivo and is a substrate for casein kinase II in vitro. *J Biol Chem*. 1994; 269:29746–29751.
27. Postow L, Peter BJ, Cozzarelli NR. Knot what we thought before: the twisted story of replication. *Bioessays* 1999 ; 21 : 805-8.
28. Bermejo R, Doksan Y, Capra T, et al. Top1- and Top2-mediated topological transitions at replication forks ensure fork progression and stability and prevent DNA damage checkpoint activation. *Genes Dev* 2007 ; 21 : 1921-36.
29. Baxter J, Diffley JF. Topoisomerase II inactivation prevents the completion of DNA replication in budding yeast. *Mol Cell* 2008 ; 30 : 790-802.



30. Diaz-Martinez LA, Gimenez-Abian JF, Clarke DJ. Chromosome cohesion – rings, knots, orcs and fellowship. *J Cell Sci* 2008 ; 121 : 2107-14.
31. Porter AC, Farr CJ. Topoisomerase II: untangling its contribution at the centromere. *Chromosome Res* 2004 ; 12 : 569-83.
32. Dawlaty MM, Malureanu L, Jeganathan KB, et al. Resolution of sister centromeres requires RanBP2-mediated SUMOylation of topoisomerase IIalpha. *Cell* 2008 ; 133 : 103-15.
33. Roca, I. and Wang, I.C. The capture of a DNA double helix by an ATPdependent protein clamp: a key step in DNA transport by type II DNA topoisomerases. *Cell*, 71, 833-840. (1992)
34. Lindsley, J.E. and Wang, IC. On the coupling between ATP usage and DNA transport by yeast DNA topoisomerase II. *J Biol Chem*, 268,8096-8104. (1993)
35. Classen, S., ~Uand, S. and Berger, I.M. Structure of the topoisomerase II A TPase region and its mechanism of inhibition by the chemotherapeutic agent ICRF-187. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100, 10629-10634. (2003)
36. Roca, J. and Wang, IC. DNA transport by a type II DNA topoisomerase: evidence in favor of a two-gate mechanism. *Cell*, 77, 609-616. (1994)
37. Vaughn, J., Huang, S., Wessel, L, Sorensen, T.K., Hsieh, T., Jensen, L.H., Jensen, P.B., Sehested, M. and Nitiss, J.L. Stability of the topoisomerase II closed clamp conformation may influence DNA-stimulated ATP hydrolysis. *J Biol Chem*, 280, 11920-11929. (2005)
38. Harkins, T.T., Lewis, T.J. and Lindsley, J.E. Pre-steady-state analysis of ATP hydrolysis by *Saccharomyces cerevisiae* DNA topoisomerase II. 2. Kinetic mechanism for the sequential hydrolysis of two ATP. *Biochemistry*, 37, 7299-7312. (1998)
39. Baird, C.L., Gordon, M.S., Andrenyak, D.M., Marecek, J.F. and Lindsley, J.E. The ATPase reaction cycle of yeast DNA topoisomerase II. Slow rates of ATP resynthesis and  $\text{pH}$  release. *J Biol Chem*, 276, 27893-27898. (2001)
40. Harkins, T.T. and Lindsley, J.E. Pre-steady-state analysis of ATP hydrolysis by *Saccharomyces cerevisiae* DNA topoisomerase II. 1. A DNA-dependent burst in ATP hydrolysis. *Biochemistry*, 37, 7292-7298. (1998)
41. Morris, S.K., Harkins, T.T., Tennyson, R.B. and Lindsley, J.E. Kinetic and thermodynamic analysis of mutant type II DNA topoisomerases that cannot covalently cleave DNA. *J Biol Chem*, 274, 3446-3452. (1999)
42. Roca, J. The path of the DNA along the dimer interface of topoisomerase II. *J Biol Chem*, 279, 25783-25788. (2004)



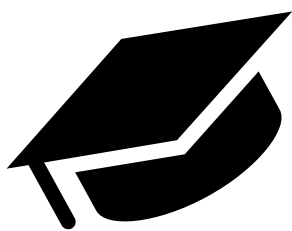


43. Gridelli, C.; Ardizzoni, A.; Le Chevalier, T.; Manegold, C.; Perrone, F.; Thatcher, N.; van Zandwijk, N.; Di Maio, M.; Martelli, O.; De Marinis, F. Treatment of Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer Patients with ECOG Performance Status 2: Results of an European Experts Panel. *Annals of Oncology* **2004**, 15 (3), 419–426. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdh087>.
44. « Topoisomerase Inhibitors ». In *Liver Tox: Clinical and Research Information on Drug-Induced, Liver Injury*, Bethesda (MD): National Institute, of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548372/> 2012.
45. Burden, D.A. and Osheroff, N. Mechanism of action of eukaryotic topoisomerase II and drugs targeted to the enzyme. *Biochim Biophys Acta*, 1400, 139-154. (1998)
46. Fortune, J.M. and Osheroff, N. Topoisomerase II as a target for anticancer drugs: when enzymes stop being nice. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 64, 221- 253. N. (2000)
47. Pommier, Y. DNA Topoisomerase II Inhibitors. *Cancer Therapeutics: Experimental and Clinical Agents*, 153-173. Y. (1997)
48. Fortune, J. M.; Osheroff, N. Merbarone Inhibits the Catalytic Activity of Human Topoisomerase IIalpha by Blocking DNA Cleavage. *J Biol Chem* **1998**, 273 (28), 17643–17650. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.28.17643>.
49. Larsen, A.K., Escargueil, A.E. and Skladanowski, A. Catalytic topoisomerase II inhibitors in cancer therapy. *Pharmacol Ther*, 99, 167-181
50. Zhang, L.; Cheng, Y.-X.; Liu, A.-L.; Wang, H.-D.; Wang, Y.-L.; Du, G.-H. Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Influenza Properties of Components from *Chaenomeles Speciosa*. *Molecules* **2010**, 15 (11), 8507–8517. <https://doi.org/10.3390/molecules15118507>.
51. Huang, Q. « Xanthone Glucosides: Isolation, Bioactivity and Synthesis ». *Molecules* 26(18): 5575. et al. 2021.
52. Ondeyka, J., Dombrowski, A., Polishook, J. et al. Isolation and Insecticidal/Anthelmintic Activity of Xanthonol, a Novel Bis-xanthone, from a Non-sporulating Fungal species. *J Antibiot* **59**, 288–292 (2006). <https://doi.org/10.1038/ja.2006.40>
53. Řezanka, T.; Dor, I.; Prell, A.; Dembitsky, V. M. Fatty Acid Composition of Six Freshwater Wild Cyanobacterial Species. *Folia Microbiol* **2003**, 48 (1), 71–75. <https://doi.org/10.1007/BF02931279>.



- 54.** Fotie, J., Bohle, D. S., Leimanis, M. L., Georges, E., Rukunga, G., & Nkengfack, A. E. Lupeol long-chain fatty acid esters with antimalarial activity from *Holarrhena floribunda*. *Journal of Natural Products*, 69(1), 62-67. (2006).
- 55.** Marona, H.; Szkaradek, N.; Karczewska, E.; Trojanowska, D.; Budak, A.; Bober, P.; Przepiórka, W.; Cegla, M.; Szneler, E. Antifungal and Antibacterial Activity of the Newly Synthesized 2-Xanthone Derivatives. *Archiv der Pharmazie*, 342 (1), 9–18. <https://doi.org/10.1002/ardp.200800089>. 2009
- 56.** Mazimba, O.; Nana, F.; Kuete, V.; Singh, G. S. 11 - Xanthones and Anthranoids from the Medicinal Plants of Africa. In *Medicinal Plant Research in Africa*; Kuete, V., Ed.; Elsevier: Oxford, 2013; pp 393–434. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405927-6.00011-4> .





# Chapitre II

Méthodes de criblage  
virtuel in silico

## 1. Introduction

Les méthodes théoriques utilisées pour l'obtention de modèles permettant de comprendre et de prédire la structure, les propriétés physico-chimiques et les interactions moléculaires sont connues sous le nom de « Modélisation Moléculaire ». Ces méthodes permettent de fournir des informations complémentaires à celles obtenues par des méthodes expérimentales. En effet, le premier domaine d'application de la modélisation moléculaire a été historiquement celui de la chimie<sup>1</sup>.

Les méthodes utilisées sont très nombreuses, chimie quantique mécanique moléculaire, Docking moléculaire, dynamique moléculaire. Ils ont pris une place pour traiter le flot de données produites et optimiser ses avancées<sup>2</sup>.

Dans cette mémoire, nous décrirons simplement les méthodes les plus fréquemment utilisées en chimie computationnelle pour étudier les interactions de complexes telles que la dynamique moléculaire et l'amarrage moléculaire.

## 2. Le criblage virtuel

Le criblage virtuel, analogue in silico de l'HTS, peut schématiquement être assimilé à un entonnoir dans lequel on verse un grand nombre (généralement entre cent mille et dix millions) de composés, constituant la chimiothèque à cribler, pour obtenir, à l'aide d'un algorithme de criblage, un plus faible nombre (quelques dizaines à quelques milliers) de composés qui seront ensuite testés expérimentalement<sup>3</sup>.

Le rôle des méthodes de criblage est donc d'éliminer les composés supposés inactifs ou les molécules indésirables tout en priorisant les composés les plus susceptibles d'être actifs.

## 3. Les stratégies de criblage virtuel

Il faut distinguer deux grandes stratégies de criblage virtuel (**Figure II.1**) :

- **Criblage virtuel basé sur la structure des ligands (« ligand-based virtual screening » ou *LBVS*)** : Les méthodes de criblage virtuel basées sur les ligands reposent sur la connaissance préalable de ligand ayant une activité sur la cible thérapeutique connue. Il



sera ainsi possible d'utiliser ces ligands comme une première base de « Hits » afin d'identifier d'autres composés similaires, présentent des caractéristiques d'activité communes<sup>4</sup>.

- **Criblage virtuel basé sur la structure de la cible (« structure-based virtual screening » ou SBVS) :** conception de médicaments basée sur la structure utilise les interactions perçues au sein des complexes ligands-récepteurs pour générer des modèles de liaison et les utiliser dans la découverte et l'optimisation de nouveaux ligands bioactifs<sup>5</sup>.

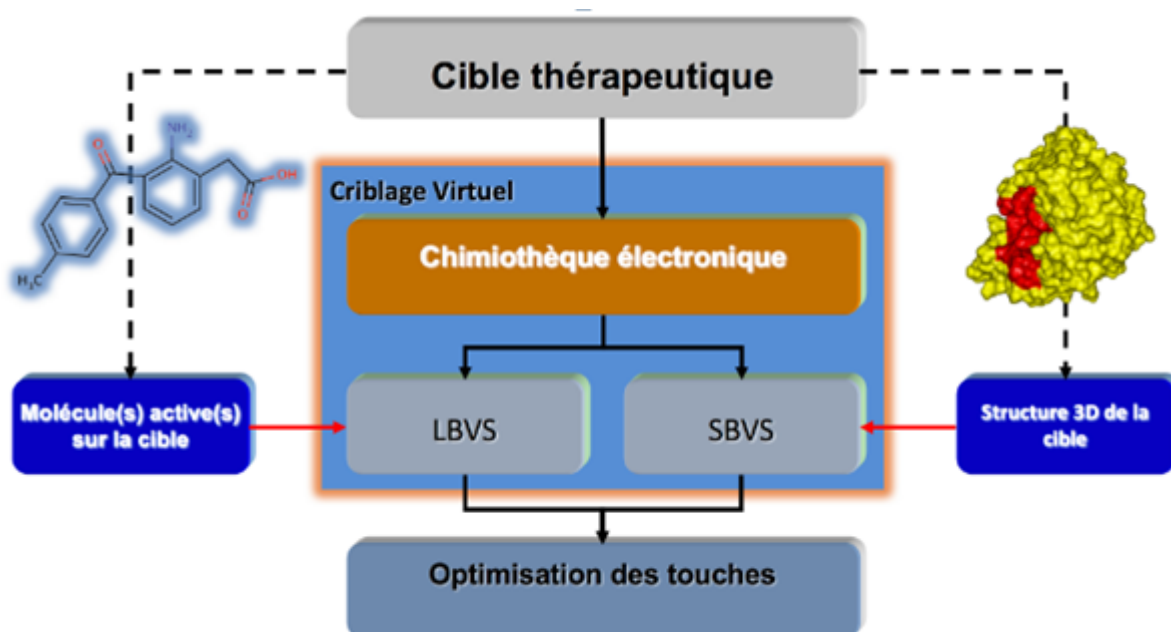


Figure II 1 : les deux grandes stratégies de criblage virtuel (LBVS/SBVS)

#### 4. Le Docking moléculaire

Docking (ancrage ou amarrage en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de Docking) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand). Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme Docking seul est couramment employé pour désigner un « Docking protéine-ligand »<sup>5</sup>. Il est utilisé pour faire des criblages très rapides et peu coûteux.

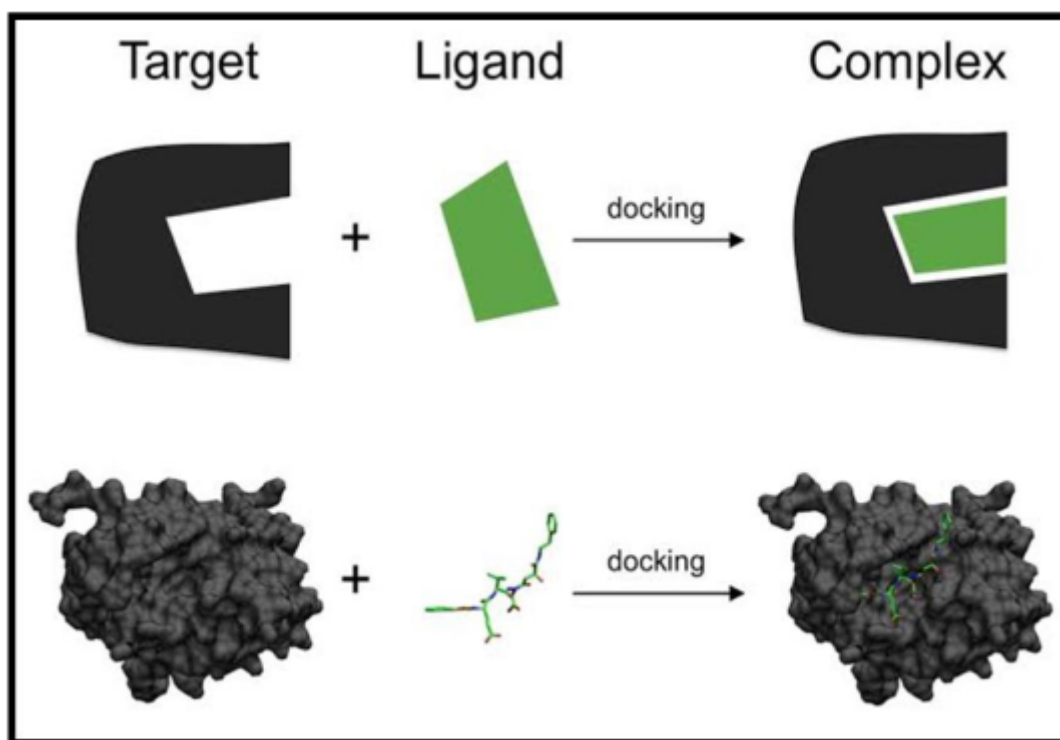
On peut distinguer trois niveaux de Docking :



- **Le Docking rigide** : le Docking rigide, au cours duquel la protéine et le ligand sont tous deux traités comme entièrement rigides. Cette technique reflète le principe de la clé et de la serrure « lock and key »<sup>6,7</sup>.

- **Le Docking semi-flexible** : dans cette technique, le ligand est flexible afin d'explorer toutes ses conformations possibles, alors que la cible est maintenue rigide durant l'assemblage. Ce type de Docking présente, certes l'avantage de nécessiter un temps de calcul relativement court mais il ne tient pas compte des changements conformationnels requis par la cible<sup>8</sup>.

- **Le Docking flexible** : cette technique traite la flexibilité du ligand et du récepteur à la fois. L'un des grands enjeux des méthodes de Docking flexible est d'explorer l'espace conformationnel des ligands dans le but de déterminer d'une part les bonnes poses du ligand dans le site actif de la protéine et d'autre part de trouver les modes de liaison correspondant à une énergie libre de liaison basse<sup>9</sup>.



**Figure II.2** : représentation schématique de Docking

#### 4.1. Le récepteur

Un récepteur est un organe, une cellule ou une molécule qui assure la réception d'information. Dans le cas d'une molécule, le récepteur est une protéine spécialisée capable de se lier spécifiquement et réversiblement à une autre molécule appelée ligand. Les structures



3D que nous utilisons proviennent de la PDB « Protein Data Bank » (en anglais), la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques, comme les protéines et les acides nucléiques (ARN et ADN) <sup>10</sup>.

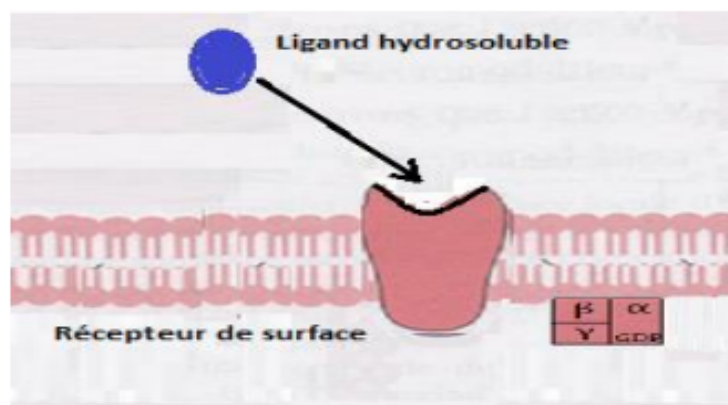
### Les ligands

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux. Le terme de ligand est le plus souvent utilisé en chimie de coordination et en chimie organométallique (branches de la chimie inorganique). En biologie, un ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine ou acide nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal. Ce terme, très utilisé pour l'étude de protéines, désigne les molécules qui interagissent avec la protéine de manière non-covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans ses fonctions<sup>11</sup>.

Le ligand est constitué de deux types :

✚ **Endogène ou naturelle** : comme les hormones, neurotransmetteurs et cytokines. Il existe :

- Les ligands qui se lient à des récepteurs de surface cellulaire (hydrosolubles) :
- Les neurotransmetteurs, ex : l'Ach, GABA, Noradrénaline...
- Les hormones peptidiques, ex : insuline, glucagon.
- Les facteurs de croissance, ex : TGF, EGF, angiopoïétine.



**Figure II.3** : représente le ligand hydrosoluble

- Les ligands qui se lient à des récepteurs intracellulaires (liposolubles) :





Les hormones qui diffusent à travers la membrane plasmique et interagissent avec des récepteurs intracellulaires dans le cytosol ou le noyau : hormones stéroïdiennes, hormones thyroïdiennes.

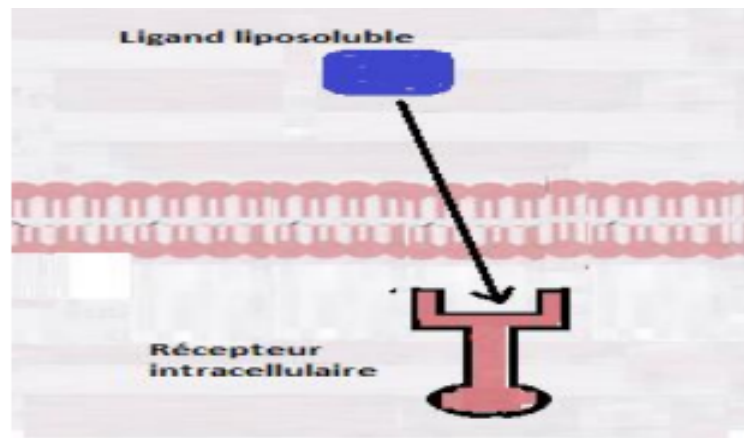


Figure II.4 : représente le ligand liposoluble

🚫 **Exogène** : comme les médicaments qui miment ou bloquent les effets d'un ligand endogène.

#### 4.2. Les interactions protéines-ligands

Les interactions entre les molécules sont à la base de la plupart des mécanismes biologiques. Le Docking moléculaire permet l'étude des interactions non-liantes intervenant lors de la formation de complexes. Cette association est assurée grâce à plusieurs types de liaisons faibles.

##### 4.2.1. Les interactions de Van Der Walls

Elles résultent de l'interaction des nuages électroniques de deux atomes adjacents conduisant à la présence d'une force attractive pour des distances de 3-4 Å. Les interactions de van der Walls sont généralement faibles. Leur importance provient du nombre cumulé de liaisons créées<sup>12</sup>.

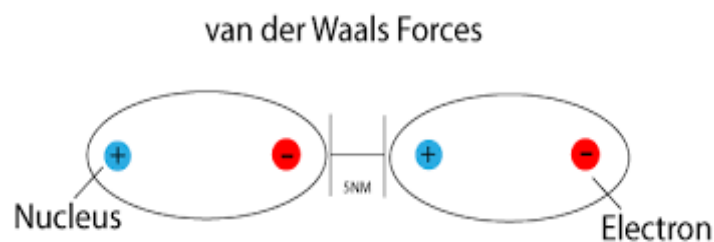


Figure II.5 : les interactions de vand der walls



#### 4.2.2. Les liaisons hydrogènes

Cette liaison intervient lorsqu'un atome d'hydrogène lié à un atome électronégatif (le donneur) est attiré par un autre atome électropositif (l'accepteur). Elle agit à très courte distance (0,8 à 2,8 Å). Les liaisons hydrogènes sont peu nombreuses et s'adaptent très bien à la flexibilité<sup>12</sup>.

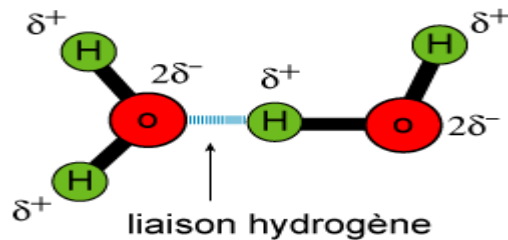


Figure II.6 : les liaisons hydrogènes

#### 4.2.3. Les interactions hydrophobes

Les molécules dépourvues de groupes chargés ou d'atomes capables de former des liaisons hydrogène ne peuvent donc pas s'hydrater, pour cette raison, on les nomme substances hydrophobes. L'effet hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence<sup>12</sup>.

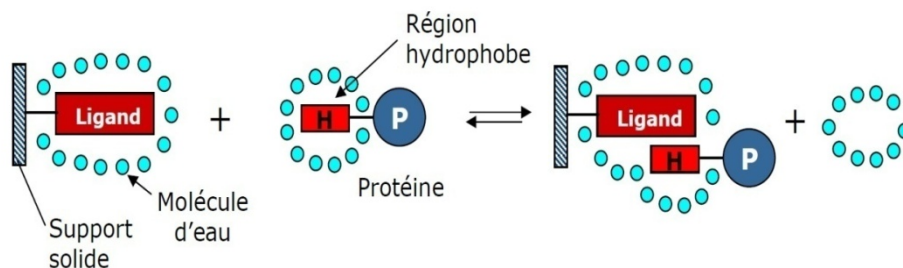


Figure II.7 : Les interactions hydrophobes

#### 4.2.4. Les interactions électrostatiques

Elles agissent à plus grande distance entre dipôles chargés<sup>12</sup>.

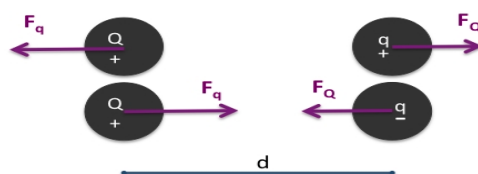


Figure II.8 : Les interactions électrostatiques



## 5. Les étapes de Docking

Une simulation de Docking comprend essentiellement deux étapes :

**5.1. Le Docking** : est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables<sup>13</sup>.

**5.2. Le scoring** : est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de Docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées<sup>14</sup>.

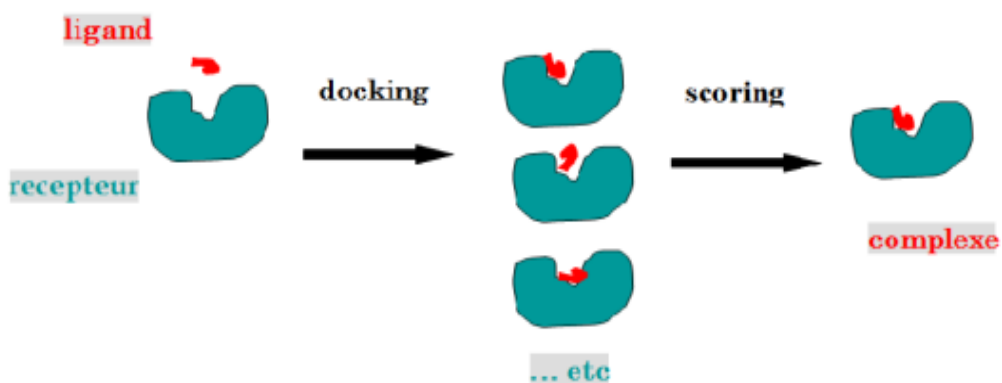


Figure II.9 : les étapes de Docking moléculaire

La procédure typique à mettre en place pour prédire les interactions entre un ligand et son récepteur est présentée en (Figure II.10).

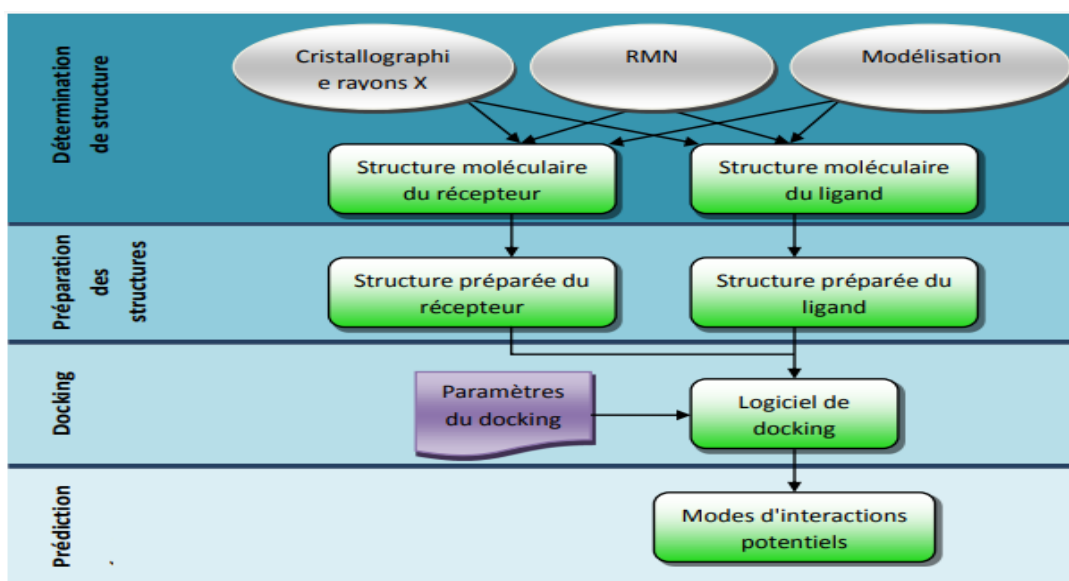


Figure II.10 : les étapes typiques de Docking



## 6. Protocole de Docking

Le protocole contient cinq étapes :

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

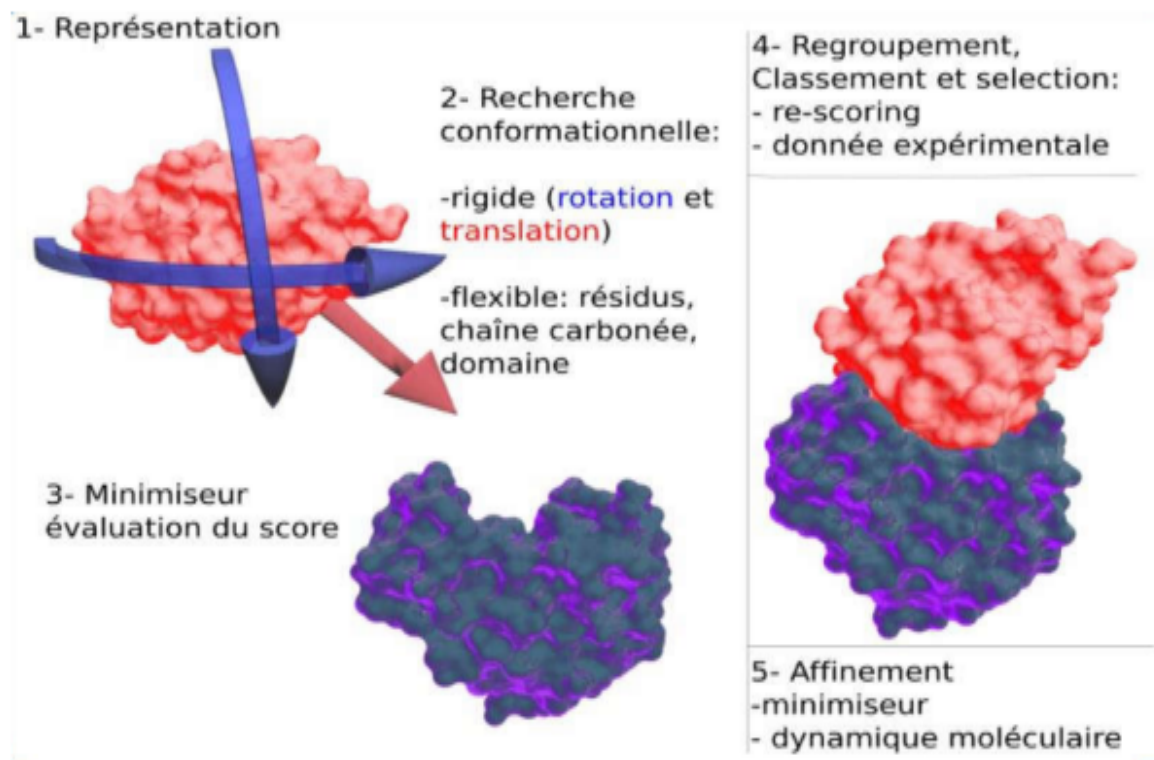


Figure II.11 : protocole générale de Docking<sup>15</sup>.



## 7. Les fonctions de score :

Sont des méthodes mathématiques et des fonctions discriminant les poses de Docking correctes de celles incorrectes. Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe<sup>16</sup>.

### 7.1. Fonctions de score basées sur les champs de force

Est une fonction mathématique exprimant l'énergie d'un système par la somme de divers termes issus de la mécanique moléculaire. L'utilisation de champ de force permet de calculer l'énergie d'interaction du complexe récepteur-ligand (interactions intermoléculaires) et l'énergie interne du ligand.

Les fonctions de score qui se basent sur les champs de force les plus rigoureux comme **AMBER**<sup>17</sup>, **CHARMM** (Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics)<sup>18</sup>.

### 7.2. Fonctions de score empiriques :

Ils estiment l'affinité des complexes protéine-ligand en se basant sur un décompte du nombre d'interactions dans le système protéine-ligand comme par exemple le nombre de liaisons hydrogène, les contacts hydrophobes, les contacts hydrophiles, les contraintes de torsion dues à la formation du complexe protéine-ligand, etc. Elles sont utilisées dans la plupart des algorithmes d'amarrage notamment **Flexx**<sup>19</sup>, **Chemscore** et **LUDI**.

### 7.3. Fonctions de score basées sur la connaissance « knowledge-based »

Ces fonctions statistiques permettent d'établir une corrélation entre l'état thermodynamique du complexe protéine-ligand qui forme un système et la probabilité de trouver ce complexe dans un état microscopique donné. Ainsi les fréquences sont converties en enthalpie libre (énergie) grâce à une distribution de **Boltzmann**, les potentiels sont donc nommés potentiels de force moyenne (Potential of Mean Force : **PMF**).

### 7.4. Fonctions de score consensus

Ils combinent les informations obtenues à partir des différents scores, afin de compenser les erreurs des fonctions de score individuelles. Plusieurs études ont montré que ces fonctions performant le calcul des énergies libres des complexes et ainsi les interactions protéine - ligand mieux que les fonctions individuelles. Un exemple de fonction de score consensus est **X-CSCORE**<sup>21</sup>. Qui combine un **PMF**<sup>22</sup> et **ChemScore**<sup>23</sup>



## 8. Logiciels de Dockings moléculaires

De nombreux logiciels de Docking présentant des algorithmes de recherche et des fonctions de score variées ont été développés au cours du temps. **Tableau II.2** représente quelques exemples de logiciels de Docking classés selon leur gestion de la flexibilité du ligand, leur approche de la recherche conformationnelle des ligands, leurs algorithmes de recherche et leurs fonctions de score.

**Tableau II.3** exemples de logiciels de Docking.

Programme	Traitement du ligand	Recherche conformationnelle	Algorithme de recherche	Fonction de score
AutoDock	Flexible	Stochastique	Génétique	Basée sur les champs de force
Dock	Flexible	Systématique	Fragmentation / reconstruction	Basée sur les champs de force
FlexX	Flexible	Systématique	Fragmentation / reconstruction	Basée sur les connaissances
FRED	Rigide	Systématique	Recherche exhaustive	Basée sur les connaissances
Glide	Flexible	Stochastique	Monte Carlo	Empirique
Gold	Flexible	Stochastique	Génétique	Basée sur les champs de force
ICM	Flexible	Stochastique	Monte Carlo	Basée sur les champs de force
Surflex-Dock	Flexible	Systématique	Hammerhead modifié	Empirique
PRO_LEADS	Flexible	Stochastique	Tabou	Empirique

## 9. Les paramètres de "DRUG-LIKNESS "

Le terme "DRUG-LIKENESS" apparaitre comme un coefficient pour étudier en basant sur les propriétés moléculaires d'un composé qui influent sa pharmacodynamique et pharmacocinétique,<sup>24,25</sup> il est un concept qualitatif utilisé dans la conception de médicament, qui est estimée à partir de la structure moléculaire avant ou après que la substance est synthétisée et testée.



Au fil des ans, des ensembles de règles ou de filtres ont été codifiés afin d'aider à définir l'espace chimique de la ressemblance avec les médicaments. Les critères les plus courants pour l'espace chimique de type médicamenteux sont la règle de LIPINSKI de cinq, qui a gagné en popularité. Néanmoins, d'autres approches ont été proposées par d'autres auteurs, notamment par VEBER, GHOOSE<sup>26, 27</sup>.

### 9.1. Règle de LIPINSKI

La « règle des 5 » a été mise au point à partir de composés administrables par voie orale ayant passé avec succès la phase II des tests cliniques. Ce n'est donc pas une méthode pour distinguer les composés étant potentiellement des médicaments de ceux n'en étant pas, mais plutôt une méthode pour identifier les composés ayant une faible absorption ou une faible perméabilité<sup>28</sup>.

Cette règle est la plus utilisée pour l'identification des composés « DRUG-LIKE ». D'après cette règle, les composés ne validant pas au moins deux des critères suivants ont de très fortes chances d'avoir des problèmes d'absorption ou de perméabilité<sup>29</sup> :

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

### 9.2. Règle de VEBER

Des règles supplémentaires ont été proposées par VEBER et col. Dont deux autres critères introduits, la flexibilité moléculaire et la surface polaire (TPSA : Polar Surface domain) qui sont souvent employés en complément de la règle des 5 de LIPINSKI<sup>30,31</sup>.

La réduction de la flexibilité moléculaire (mesurée par le nombre de liaisons rotatives) et la faible surface polaire sont des prédicateurs importants de la bonne biodisponibilité orale<sup>32</sup>. Pour une biodisponibilité orale idéale, il existe deux descripteurs identifiés par VEBER et Al<sup>33</sup>:

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

Ces limites ont été établies à partir de mesures de la biodisponibilité orale de candidats médicament.





## 10. Les propriétés ADMET

Entre le moment où il est administré et le moment où il atteint sa cible thérapeutique, le principe actif rencontre plusieurs barrières ADME dans l'organisme. Chaque passage d'une barrière ADME est susceptible d'engendrer une diminution de la concentration en principe actif. Or, la concentration de principe actif est déterminante pour obtenir un temps d'exposition assez long avec la cible, afin d'engendrer un effet thérapeutique efficace. Ainsi, une optimisation des leads uniquement orientée sur l'activité biologique peut donner des composés qui sont très efficaces comme ligands pour la cible visée, mais dont les propriétés ADMET peuvent être inadéquates, les empêchant de devenir des médicaments à succès<sup>34</sup>.

Il est possible de décomposer le circuit du médicament dans l'organisme en quatre phases :

- Une phase de résorption, ou d'Absorption, qui correspond au passage du médicament de son site d'administration vers la circulation systémique.
- Une phase de Distribution, correspondant à la diffusion du médicament dans les différents tissus de l'organisme.
- Une phase de Métabolisme, décrivant la transformation du médicament par l'organisme.
- Une phase d'Élimination, s'intéressant aux processus d'élimination du médicament par l'organisme.

L'ensemble de ces quatre phases est fréquemment décrit par le sigle ADME. Les filtres de type ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Élimination et Toxicité) sont rapidement devenus populaires. Ils reposent sur plusieurs critères déterminant les propriétés pharmacocinétiques potentielles des molécules et sont désormais largement utilisés pour réduire le nombre de composés d'une chimiothèque en sélectionnant les plus adaptés à devenir des candidats médicaments, avant tout processus de criblage. L'utilisation de ces filtres a donné de très bons résultats<sup>35</sup>.

### 10.1. Absorption

L'absorption correspond à la pénétration du médicament dans l'organisme. Après administration orale, la phase d'absorption (A) regroupe les phénomènes impliqués dans le transfert d'un xénobiotique du tractus gastro-intestinal (GI), et plus particulièrement de l'intestin grêle, vers la circulation sanguine. Après la désagrégation de la forme galénique et



la dissolution du principe actif dans les sucs digestifs, le xénobiotique en solution va devoir traverser les cellules épithéliales, et plus particulièrement, une ou plusieurs membranes cellulaires via des mécanismes de transport para cellulaire (entre les cellules) ou trans cellulaire (à travers les cellules). Les mécanismes para cellulaires sont généralement observés pour les molécules de petites tailles pouvant être hydrophiles ou polaires. Les membranes plasmiques, constituées d'une bicouche phospholipidique, représentent une barrière presque infranchissable pour les molécules non lipophiles. Les mécanismes transcellulaires permettent de laisser passer une plus grande diversité de molécules. Ces mécanismes peuvent être passifs (diffusion) pour les molécules lipophiles, peuvent faire intervenir des transporteurs<sup>36</sup> (transport facilité ou actif) et dans certains cas des vésicules (transcytose)<sup>37</sup> pour les molécules hydrophiles ou de poids moléculaire plus élevé. Ainsi, la solubilité, la lipophilie ou encore le pKa sont les principales propriétés physicochimiques qui influencent l'absorption d'une molécule dans l'organisme.

### 10.2. La distribution :

La distribution concerne le transfert réversible de substances entre le sang et les différents organes du corps. Une fois absorbée, les substances passent du sang vers les organes selon l'affinité entre eux. Plusieurs facteurs déterminent la dynamique de distribution des substances. Ces facteurs sont en particulier la taille des organes, la perméabilité des membranes des tissus ou encore la perfusion des organes<sup>38</sup>. L'ampleur et la rapidité de ce processus dépend de la fixation réversible du principe actif aux protéines plasmatiques (plus ou moins spécifique) et de sa répartition dans les différents tissus (contenant ou non des récepteurs pharmacologiques)<sup>39</sup>. En effet, la distribution tissulaire des médicaments est proportionnelle à l'importance de ses débits sanguins locaux. Ainsi, elle concerne, en premier lieu, les organes les plus vascularisés à savoir le cerveau, le cœur, le rein, la foi et les poumons. La peau, les muscles et le tissu adipeux sont moins vascularisés. Par conséquent, ces tissus représentent un lieu de stockage avec la possibilité d'atteindre des concentrations toxiques si le médicament est utilisé à long terme<sup>40</sup>.



### 10.3. Métabolisme :

Le métabolisme correspond à la transformation du médicament par le système enzymatique de l'organisme. Cette modification est réalisée dans le but de le rendre plus hydrosoluble et donc plus facilement éliminable. De nombreux organes peuvent réaliser ces transformations (poumons, rein, intestin, etc.) mais c'est le foie qui métabolise majoritairement les médicaments. Les modifications réalisées peuvent rendre les xénobiotiques inactifs mais peuvent également leur conférer une activité médicamenteuse, ou une activité toxique. Deux types de réactions enzymatiques interviennent lors de la biotransformation : les réactions enzymatiques de phase I et celles de phase II<sup>41</sup>.

### 10.4. L'élimination

L'élimination d'un médicament de l'organisme peut se faire par différentes voies : urinaire, biliaire, respiratoire (dans l'air expiré), cutanée (par la sueur), salivaire, ou dans le lait maternel. Les voies principales sont l'élimination par les reins dans les urines, et l'élimination par le foie dans la bile. Pour un certain nombre de voie d'élimination, un phénomène de réabsorption du médicament peut être rencontré, qui contribue à diminuer ou ralentir l'élimination du médicament. Les mécanismes décrits pour l'absorption sont également retrouvés pour l'élimination (diffusion passive, transport actif, pinocytose...)<sup>42</sup>

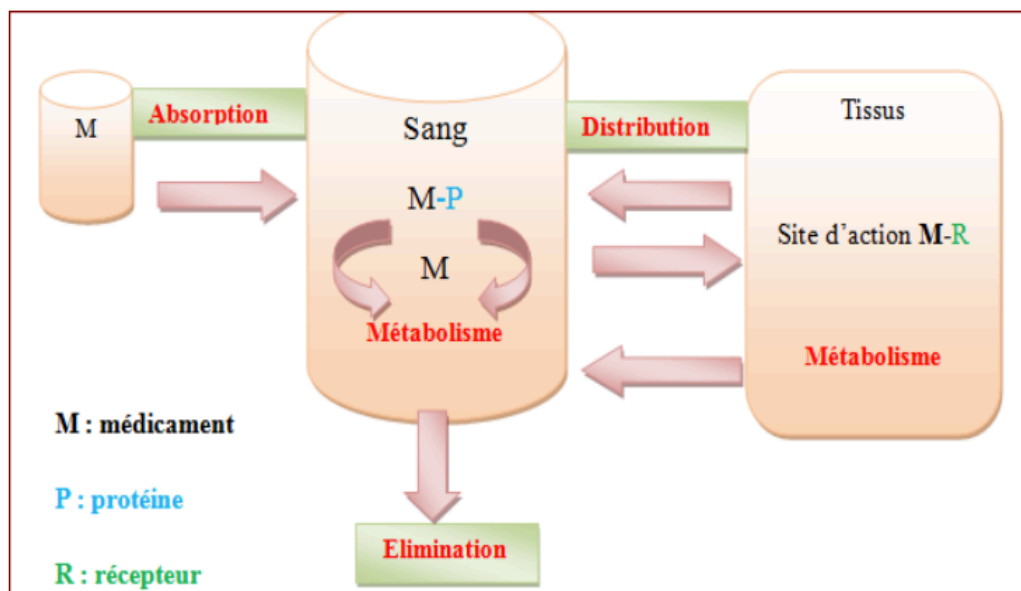


Figure II.12 représentation schématique de devenir d'un médicament dans l'organisme.

### 10.5. La toxicité

La toxicologie est une discipline scientifique qui étudie les effets indésirables d'une molécule chimique sur les organismes vivants, pouvant provoquer des dommages sévères,



voire mortels dans les cas les plus graves. La toxicité d'un candidat-médicament est l'un des paramètres les plus redoutés par les développeurs, surtout lorsqu'il entre en phases cliniques. En effet, un candidat-médicament présentant des effets secondaires graves lors des phases cliniques est immédiatement abandonné, et ce généralement de manière définitive. Il est donc très important de tenter de prédire la toxicité d'un composé à partir de sa structure lors des phases précoces de développement R&D. La toxicité peut être classifiée selon l'organe affecté ou selon le mécanisme de toxicité<sup>43</sup>.

## 11. La dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire (DM), dans sa formulation classique, est un des outils essentiels dans le domaine de la modélisation informatique des processus physiques et chimiques à l'échelle atomique. En effet, cette technique, précédée et complétée par des méthodes de la physique statistique telles que les simulations Monte Carlo<sup>44</sup>, est l'outil principal utilisé pour l'étude des systèmes caractérisés par un grand nombre de degrés de liberté.

De nos jours, le domaine d'application de la DM est extrêmement large puisqu'elle permet, entre autres choses, l'étude de propriétés structurales<sup>45-47</sup>, spectroscopiques<sup>48-50</sup>, thermodynamiques<sup>51-53</sup>, dynamiques<sup>44-55</sup> (telles que la diffusion<sup>56,57</sup>, la viscosité<sup>58,59</sup>, la conductivité thermique<sup>60,61</sup> pour une large variété de systèmes tels que les liquides, les métaux, les semi-conducteurs, les systèmes d'intérêt biologique, les espèces covalentes ou ioniques, les polymères, les cristaux liquides, les agrégats moléculaires et atomiques<sup>62-68</sup>). De plus, elle ne se limite pas à l'étude de systèmes homogènes mais permet de décrire des équilibres de phases, la relaxation d'états métastables et la dynamique de processus aux interfaces. Enfin elle permet de modéliser des réactions chimiques dans des environnements complexes et des processus se déroulant aussi bien à l'équilibre thermodynamique que des processus hors équilibre.

### 11.1. Principe

La dynamique moléculaire tente à simuler le mouvement des atomes et des molécules au cours du temps pour une température supérieure à 0° K. Elle consiste à étudier la trajectoire d'une molécule en appliquant les lois de la mécanique classique Newtonienne et elle permet de simuler les mouvements intramoléculaires que l'on peut visualiser ensuite en



temps réel. Ces mouvements correspondent à des vibrations autour d'un minimum, ou au passage d'un minimum à un autre minimum d'énergie.

### 11.2. Mise en œuvre d'un calcul de DM

Avant de commencer une simulation de DM, il est important d'avoir un modèle de départ proche de la structure réelle.

- Minimisation par mécanique moléculaire : on part, en général d'une conformation optimisée par la MM.
- Dynamique moléculaire : en général, un calcul de DM se décompose en trois phases :
  - Thermalisation : il s'agit de chauffer le système pour l'amener à la température souhaitée (généralement 300 K), cette montée en température demande 2 à 10 ps de simulation (2000 à 10000 pas d'intégration).
  - Équilibration : est une phase importante au cours de laquelle, on stabilise la T du système. Il y a alors un échange important entre l'énergie potentielle et l'énergie cinétique. Cette étape peut durer entre 10 et 20 ps. La température est calculée après chaque étape et ramenée à la T de référence par la formule :

$$\frac{dT}{dt} = \tau^{-1} (T_0 - T)$$

Avec :

$\tau$  : Temps de relaxation, la valeur de doit être assez petite pour permettre un couplage efficace (généralement égale à 10 fs).

$T_0$  : température de référence.

$T$  : température du système.

- Dynamique ou production : c'est la phase réellement exploitable qui dure en moyenne de 60 à 100 ps. Au cours de cette simulation, les conformations sauvegardées toutes les 0.05 ou 0.1 ps.



**Les références :**

1. Claude HERCEND«  
Contribution de la modélisation moléculaire à l'étude de pathologies humaines  
: Application au transporteur ATP7B et au récepteur 5HT2B »
2. Nocedal J., Wright S.J., Quasi-Newton Methods. 'In Numerical Optimization. T.V. Mikosch, S. I. Resnick, S. M. Robinson (Ed.) ' . (2006).
3. Tanrikulu, Y.; Kruger, B.; Proschak, E. The holistic integration of virtual screening in drug discovery. *Drug DiscovToday*, 2013. 18(7-8): p. 358-64.
4. BENTALEB, L. CONCEPTION ET EVALUATION DES MOLECULES ANTICANCEREUSES PAR APPROCHES IN SILICO: Inhibiteurs Des Kinases AKT1 et LMTK3.. (2021)
5. Warren, G.L Webster C. Andrews, A.M. Capelli, B. Clark, J. LaLonde, M.H. Lambert, M. Lindvall, N. Nevins, S.F. Semus, S. Senger, G. Tedesco, I.D. Wall, J.M. Woolven, C.E. Peishoff, M.S. Head. A critical assessment of dockingprograms and scoring functions. *Journal of Medicinal Chemistry* 49, 5912-5931; 2006.
6. Lichtenthaler, F. W., 100 Years "Schlüssel-Schloss-Prinzip": What Made Emil Fischer Use this Analogy? *AngewandteChemie International Edition in English* **1995**, 33, 2364-2374.
7. Vuorinen, A.; Schuster, D., Methods for generating and applying pharmacophore models as virtual screening filters and for bioactivity profiling. *Methods* **2015**, 71, 113- 134.
8. Alvarez, J. C., High-throughput docking as a source of novel drug leads. *Current opinion in chemicalbiology*,8 (4), 365-370. **2004**,
9. Zekri, A. Une Étude Computationnelle Des Relations Structureactivité d'un Ensemble de Composés à Visées Thérapeutiques. doctoral, Université de mohamed kheider biskra, 2021.
10. Kitchen D. B., Decornez H., Furr J. R., Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Drug discovery*. (2004)., 3 .p935.
11. Wang R.X., Lai L.H., Wang S.M., Further development and validation of empirical scoring functions for structure-based binding affinity prediction, *J. Comput. Aided. Mol. Des.* (2002); 16 .p 11.
12. Xing .Du, « Insights into Protein–Ligand Interactions: Mechanisms, Models, and Methods ». *International Journal of Molecular Sciences* 17(2): 144. et al. 2016.



13. Meng, X.-Y.; Zhang, H.-X.; Mezei, M.; Cui, M. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current computer-aided drug design* **2011**, *7* (2), 146. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>.
14. Yan, C.; Zou, X. 3.13 - Modeling Protein Flexibility in Molecular Docking. In *Comprehensive Medicinal Chemistry III*; Chackalamannil, S., Rotella, D., Ward, S. E., Eds.; Elsevier: Oxford, 2017; pp 319–328. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12351-0>
15. Férey N, Bouyer G, Martin C, Drif A, Bourdot P, Ammi M, Nelson J, Burkhart J-M, Autin L. Docking De Protéines En Réalité Virtuelle : Une Approche Hybride Et Multimodale. 2e Soumission A Rsti, **2008**, P 10.
16. Kollman, P.A.; Massova, I.; Reyes, C.; Kuhn, B.; Huo, S.; Chong, L.; Lee, M.; Lee, T.; Duan, Y.; Wang, W.; Domini, O.; Cieplak, P.; Srinivasan, J.; Case, D.A.; Cheatham, T.E.; Calculating structures and free energies of complex molecules: combining molecular mechanics and continuum models *Acc. Chem. Res.* 2000, *33*, 889-897.
17. Weiner P.K., Kollman P.A., AMBER-assisted model building with energy refinement-a general program for modeling molecules and their interactions., *J. Comput. Chem.* (1981); *2* .p 287.
18. Brooks B.R., Bruccoleri R.E., Olafson B.D., States D.J., Swaminathan S., Karplus M., CHARMM-a programm for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations., *J. Comput. Chem.*(1983); *4*. p187.
19. Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm., *J.Mol. Biol.* (1996); *261* .p470.
20. Kitchen D. B., Decornez H., Furr J. R., Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Drug discovery.* (2004)., *3* .p935.
21. Wang R.X., Lai L.H., Wang S.M., Further development and validation of empirical scoring functions for structure-based binding affinity prediction, *J. Comput. Aided. Mol. Des.* (2002); *16* .p 11.
22. Muegge I., PMF scoring revisited., *J .Med .Chem.*(2006); *49* .p5895.
23. Eldridge M.D., Murray C.W., Auton T.R., Paolini G.V., Mee R.P., Empirical scoring functions: I. The development of a fast empirical scoring function to estimate the binding affinity of ligands in receptor complexes. *J. Comput. Aided. Mol. Des* (1997) ; *11* .p425.
24. Lipinski, C. ALombardo, . F. Dominy, B. W. and Feeney, J. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2012; *64*: 4-17.
25. Vistoli, G. Pedretti, A. Testa, B. *Drug. Discov. Today.* 2008; *13*: 285-294.



26. Christopher A Lipinski, Franco Lombardo, Beryl W Dominy, and Paul J Feeney. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23(1-3) :3–25, 1997.
27. OYA. B, GÜLGÜN AYHAN K.L, MeralTuncbilek, and RahmiyeErtan. Studies on the synthesis of some substituted flavonyl thiazolidinedione derivatives-i. *Turkish Journal of Chemistry*, 23(2) :163–170, 1999.
28. Valerio, L.G., Jr. In silico toxicology for the pharmaceutical sciences. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009. 241(3): p. 356-70.
29. Aurélien M. Design and use of optimized chemical databases for “ in silico” research of new bioactive compounds. Theses, Université d’Orléans, November2006.
30. Veber, D. F. Johnson, S. R. Cheng, H. Y. Smith, B. R. Ward, K. W. and Kopple, J. *Med. Chem.* 2002; 45: 2615–2623.
31. Zhou, P. Pan, G. X. Spaccin, R. Piccdo. A. *Eur. J. S. Scien.*, 2010, 6: 213.
32. Daniel F Veber, Stephen R Johnson, Hung-Yuan Cheng, Brian R Smith, Keith W Ward, and Kenneth D Kopple. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of medicinal chemistry*, 45(12) :2615–2623, 2002.
33. OYA B, GÜLGÜN AYHAN KILCIGIL, MeralTuncbilek, and RahmiyeErtan. Studies on the synthesis of some substituted flavonylthiazolidinedionederivatives-i. *Turkish Journal of Chemistry*, 23(2) :163–170, 1999.
34. Babcock, F. Du, H. Yu, B. Zou, J, S. Long, M. Li, *Assay Drug Dev. Technol.*2011, 9, 580–588.
35. Charly E-m. Development of statistical tools for the evaluation of virtual screening methods: predictiveness curves & Screening Explorer. Theses, Conservatoire national des arts et metiers - CNAM, June 2017.
36. Yang, R. D. Benz, M. A. Cheeseman, *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 2006,9, 124–133.
37. Fujitsu T. Kyushu Systems, “ADME Database,” can be found under <http://www.fujitsu.com/jp/group/kyushu/en/solutions/industry/lifescience/admedatabas> E, 2017.
38. McGinnity, D. F.; Grime, K. 4.02 - ADME Optimization in Drug Discovery. In *Comprehensive Medicinal Chemistry III*; Chackalamannil, S., Rotella, D., Ward, S. E., Eds.; Elsevier: Oxford, 2017; pp 34–44. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12365-0>.
39. Toutain, P. L.; Bousquet-Mélou, A. Bioavailability and Its Assessment. *J Vet Pharmacol.* <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2004.00604.x>. *Ther*2004, 27 (6), 455–466



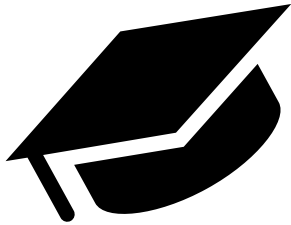


40. Ward, R. M.; Benjamin, D.; Barrett, J. S.; Allegaert, K.; Portman, R.; Davis, J. M.; Turner, M. A. Safety, Dosing, and Pharmaceutical Quality for Studies That Evaluate Medicinal Products (Including Biological Products) in Neonates. *Pediatr Res* **2017**, 81 (5), 692–711. <https://doi.org/10.1038/pr.2016.221>.
41. Doogue, M. P.; Polasek, T. M. The ABCD of Clinical Pharmacokinetics. *Ther Adv Drug Saf* **2013**, 4 (1), 5–7. <https://doi.org/10.1177/2042098612469335>.
42. Garza, Aaron Z., Sharon B. Park, et Remek Kocz. 2022. « Drug Elimination ». In *StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547662/>
43. Valerio, L.G., Jr. In silico toxicology for the pharmaceutical sciences. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009. 241(3): p. 356-70.
44. Allen M. P. Tildesley, D. J. *Computer Simulation of Liquids*, Oxford Science Publications, first ed., 1987.
45. Parrinello M. Rahman, A. *Phys. Rev. Lett.*, 1980, 45, 1196–1199.
46. Gutierrez, R. . Frauenheim, T Kohler, T. Seifert, GMater. *J. Chem.*, 1996, 6, 1657–1663.
47. Ballone, P. Andreoni, W. Car, R. Parrinello, M. *Phys. Rev. Lett.*, 1988, 60, 271–274.
48. Brancato, G. Rega, N. Barone, V. *Chem. . J. Phys.*, 2006, 125, 164515.
49. Vuilleumier R. Borgis, D. *Chem. J. Phys.*, 1999, 111, 4251–4266.
50. Pavone, M. Brancato, G. Morelli, G. Barone, V. *ChemPhysChem*, 2006, 7, 148–156.
51. Briant C. L. Burton, J. J. *Chem. J. Phys.*, 1975, 63, 2045–2058.
52. Honeycutt J. D. Andersen, H. C. *Phys. J. Chem.*, 1987, 91, 4950–4963.
53. Dang L. X. Chang, T.-M. *Chem. J. Phys.*, 1997, 106, 8149–8159.
54. Chandra, A. *Phys. Rev. Lett.*, 2000, 85, 768–771.
55. Kirchhoff, F. Mehl, M. J. Papanicolaou, N. I. . Papaconstantopoulos, F. S. Khan, *Phys. Rev. B*, 2001, 63, 195101.
56. Pranami G. . Lamm, M. H *Chem. J. Theory Comput.*, 2015, 11, 4586–4592.
57. Braga, C. Galindo, A. Müller, E. A. *Chem. J. Phys.*, 2014, 141, 154101. 171
58. . Hess, B *Chem. J. Phys.*, 2002, 116, 209–217.
59. Zhang, Y. Otani, A. . Maginn, E. J. *Chem. J. Theory Comput.*, 2015, 11, 3537–3546.
60. Salaway R. N. Zhigilei, L. V. *Int. J. Heat Mass Transfer*, 2014, 70, 954–964.
61. Volz. S. G. Chen, G. *Phys. Rev. B*, 2000, 61, 2651–2656.



62. VandeVondele, J. Mohamed, F. Krack, M. Hutter, J. . Sprik, M. Parrinello, J. Chem. Phys., 2005, 122, 014515.
63. Kresse G. Hafner, J. Phys. Rev. B, 1993, 48, 13115–13118.
64. Joshi R. P. Ferry, D. K. Phys. Rev. B, 1991, 43, 9734–9739.
65. Huang, Z.-Y. Du, T.-T. Xu, B. Zhang, Y.-J. Su, W. Xue, C.-T. He, W.-X. Chen, Angew. X.-M. Chem. Int. Ed., 2015, 54, 914–918.
66. Raves D. B. G Brault, P. Phys. D: Appl. Phys., 2009, 42, 194011.
67. Chen J. C. Kim, A. S. Colloid Adv. Interface Sci., 2004, 112, 159–173.
68. Frankland, S. J. V. . Harik, V. M Odegard, G. M. . Brenner, D. W Gates, T. S. Compos. Sci. Technol., 2003, 63, 1655–1661.





# **Chapitre III**

## **Resultats et**

## **Discussion**



## 1. Introduction

L'interaction entre une protéine et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. Comprendre son mode de fonctionnement et définir quels sont les résidus mis en jeu, est donc primordial pour pouvoir expliquer les mécanismes qui influent sur l'affinité entre deux molécules. De même, la découverte de nouveaux médicaments activant ou inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective. C'est dans ce but que des techniques de modélisations moléculaires, regroupées sous le nom de "Docking" moléculaire ont été développées<sup>1</sup>.

Ce chapitre présente les résultats de notre étude pratique des interactions entre les différents inhibiteurs avec L'enzyme (1ZXM) par la méthode du Docking moléculaire en utilisant le logiciel MOE. Cette étude est basée sur les principaux paramètres suivants : le score et les distances entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme et ceux d'inhibiteurs et aussi les différents types d'interactions présentes entre certains acides aminés de la protéine étudiée et celle de l'inhibiteur.

Nous allons étudier et présenté également dans ce chapitre les propriétés moléculaires des ligands (DRUG-LIKNESS), les propriétés ADMET et l'étude de dynamique moléculaire (DM).

## 2. Matériel et outils utilisés :

Essentiel de notre travail de master est une initiation aux approches de modélisation par Docking moléculaire afin d'identifier les meilleurs inhibiteurs de l'ADN Topo isomérase II $\alpha$ . Pour ce faire, nous avons utilisé le matériel suivant :

### 2.1. Micro-ordinateur :

Notre travail a été effectué en utilisant deux micro-ordinateurs dont Les caractéristiques sont présentées dans le tableau dessous.



Tableau III.1 présentant les caractéristiques des ordinateurs utilisés

Caractéristiques	Ordinateur 1	Ordinateur 2
Mémoire (RAM)	4 Go	4 Go
Processeur	Intel (R) core (TM)i3 CPU M 380 @2.53 GHz	Intel (R) pentium(R) CPU G620 @2.60 GHz
Système d'exploitation	Windows 7 professionnel	Windows 10 professionnel
Type de système	64 bits	32 bits

## 2.2. Banques (bases) de données et outils logiciels

### 2.2.1. La banque de données sur les protéines « Protein Data Bank (PDB) »

La banque de données sur les protéines est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (ou structure 3D) de macromolécules biologiques : protéines, essentiellement et acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN<sup>2</sup>.

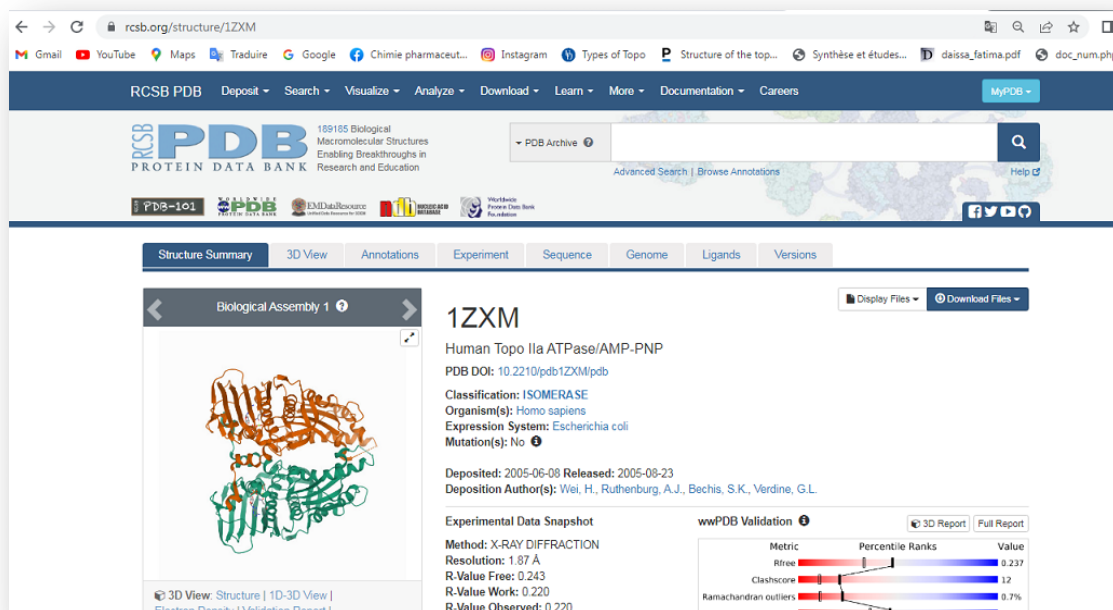
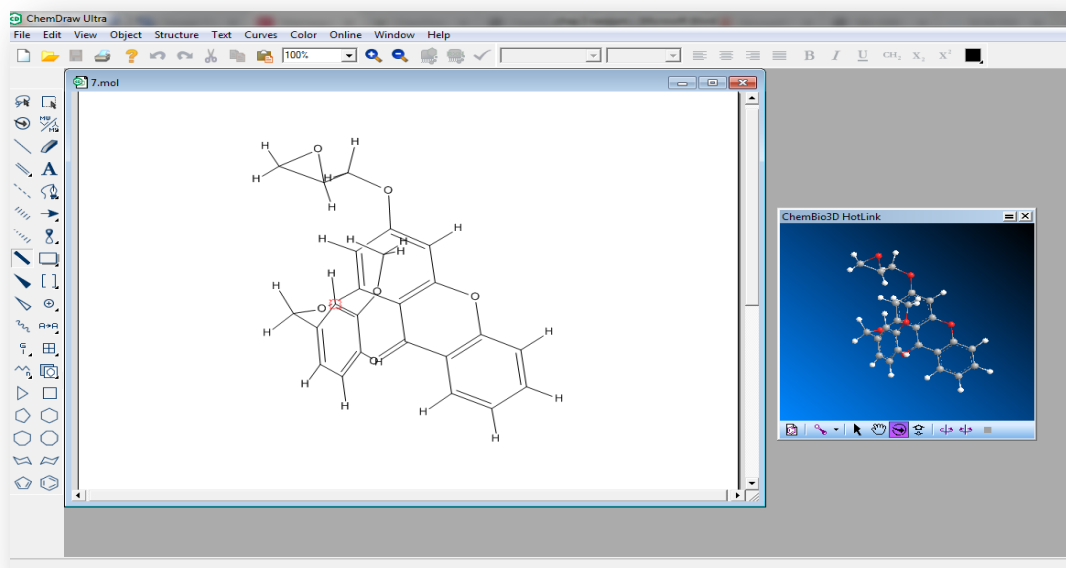


Figure III.3 .interface du site Protein Data Ba



### 2.2.2. ChemDraw Ultra

ChemDraw Ultra est un logiciel développé en 2003 par Cambridge Soft, Cambridge. Ce logiciel permet à l'utilisateur de créer des modèles tridimensionnels, de visualiser, d'analyser et déterminer les propriétés des molécules. C'est un logiciel exhaustif qui offre à l'utilisateur un outil exceptionnel de modélisation et une interface intuitive et facile à utiliser<sup>3</sup>.



**Figure III.4.** Interface du logiciel CHEMDRAW

### 2.2.3. MOE (Molecular Operating Environment)

Est une plate-forme logicielle de découverte de médicaments qui intègre la visualisation, la modélisation et les simulations, ainsi que le développement de méthodologies, dans un seul package. Les applications scientifiques du MOE sont utilisées par les biologistes, les chimistes médicaux et les chimistes computationnels dans la recherche pharmaceutique, biotechnologique et universitaire. MOE fonctionne sous Windows, Linux, Unix et MacOS. Les principaux domaines d'application du MOE comprennent la conception basée sur la structure<sup>4</sup>, la conception basée sur les fragments, la découverte de pharmacophores, les applications de chimie médicinale, les applications biologiques, la modélisation des protéines et des anticorps, la modélisation et les simulations moléculaires, la chimio informatique et le QSAR<sup>5</sup>.



Le programme MOE a été utilisé pour notre étude car :

- Il est facile à manipuler.
- Il a prouvé son efficacité dans plusieurs études <sup>6-15</sup>.



**Figure III.3.** Interface du logiciel Moe

### 2.2.4. HyperChem

Est un environnement de modélisation moléculaire sophistiqué reconnu pour sa qualité, sa flexibilité et sa facilité d'utilisation. Alliant visualisation et animation 3D aux calculs chimiques quantiques, à la mécanique moléculaire et à la dynamique, HyperChem met plus d'outils de modélisation moléculaire à portée de main que tout autre programme Windows. (**Figure.III.4**) représente l'interface de Hyperchem<sup>16</sup>.



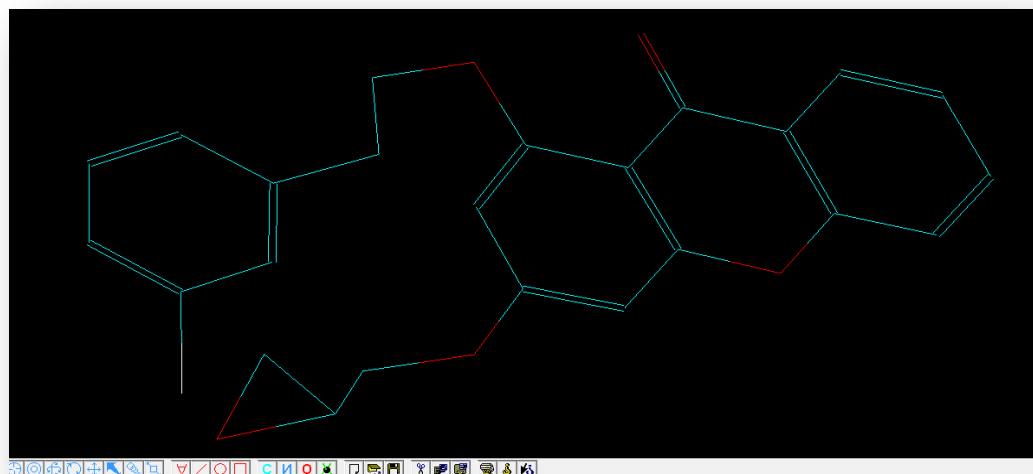


Figure III.4. Interface d'Hyperchem

### 2.2.5. BIOVIA Discovery Studio Visualiser

Est une suite logicielle complète pour l'analyse et la modélisation de structures moléculaires, de séquences et d'autres données pertinentes pour les chercheurs en sciences de la vie. Le produit comprend des fonctionnalités d'affichage et de modification des données ainsi que des outils permettant d'effectuer une analyse de base des données. Ce programme était utile dans la modélisation des interactions générées entre l'enzyme et les inhibiteurs prédits<sup>17</sup>.

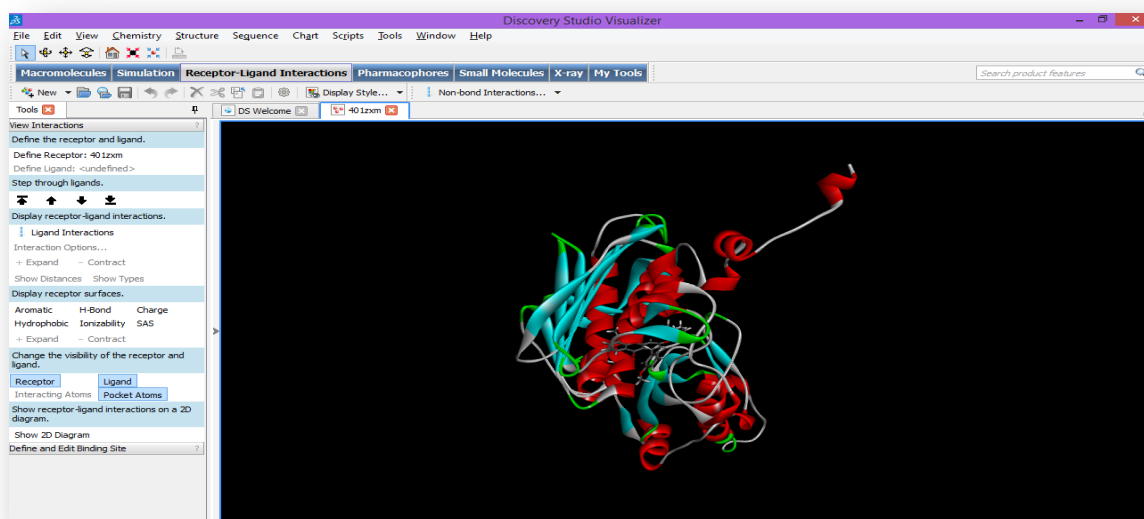


Figure III.5. Interface du logiciel Discovery Studio





### 2.2.6. Molinspiration

Est une société privée axée sur le développement et l'application de techniques modernes de chiminformatique, en particulier en relation avec le Web. Il a été fondé en 1986 par l'Université de Bratislava.

Molinspiration propose une large gamme d'outils logiciels de chimie informatique prenant en charge la manipulation et le traitement des molécules, y compris la conversion SMILES et SDFfile, la normalisation des molécules, la génération de tautomères, la fragmentation des molécules, le calcul de diverses propriétés moléculaires nécessaires dans QSAR, la modélisation moléculaire et la conception de médicaments, la représentation de molécules de haute qualité, des outils de bases de données moléculaires prenant en charge les recherches de sous-structures et de similarités<sup>18</sup>.

The screenshot displays the Molinspiration web interface. At the top, the browser address bar shows the URL <https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>. The page title is "Calculation of Molecular Properties". The main content area shows the original SMILES string: COC1=CC(=CC=C1)COC2=CC(=CC3=C2C(=O)C4=C(O3)C=CC=C4)OCC5CO5 and the normalized SMILES string: COC1=CC(=CC=C1)COC2=CC(=CC3=C2C(=O)C4=C(O3)C=CC=C4)OCC5CO5. Below the SMILES strings is the chemical name: 1-[(3-Methoxyphenyl)methoxy]-3-(oxiran-2-ylmethoxy)xanthen-9-one. A chemical structure diagram of this molecule is shown on the left. To the right of the structure is a table of calculated properties:

Property	Value
miLogP	5.05
TPSA	70.44
natoms	30
MW	404.42
nOH	6
nOHNH	0
nviolations	1
nrotb	7
volume	352.88

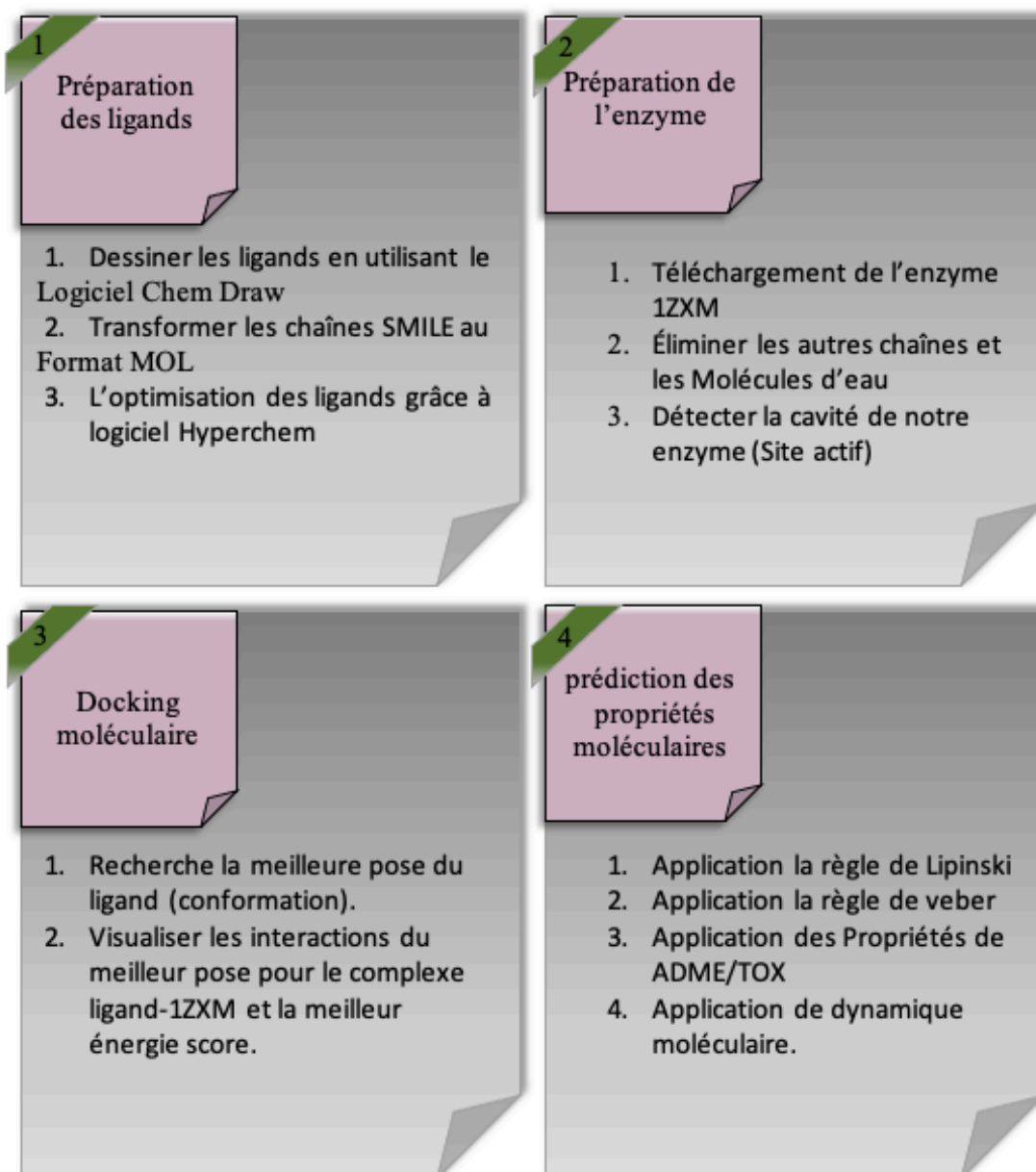
Below the table, there are links for "Get data as text (for copy / paste)." and "Get 3D geometry BETA".

Figure III.6 interfaces du plateforme Molinspiration



### 3. Méthodologie des calculs

Notre étude portera sur l'interaction entre le site actif de l'enzyme **ADN Topoisomirase II $\alpha$**  et les ligands pour former un complexe stable est réalisé à l'aide du logiciel « MOE »<sup>19</sup>. Alors nous avons, schématisé un protocole général de Docking moléculaire (**Figure.III.7**).



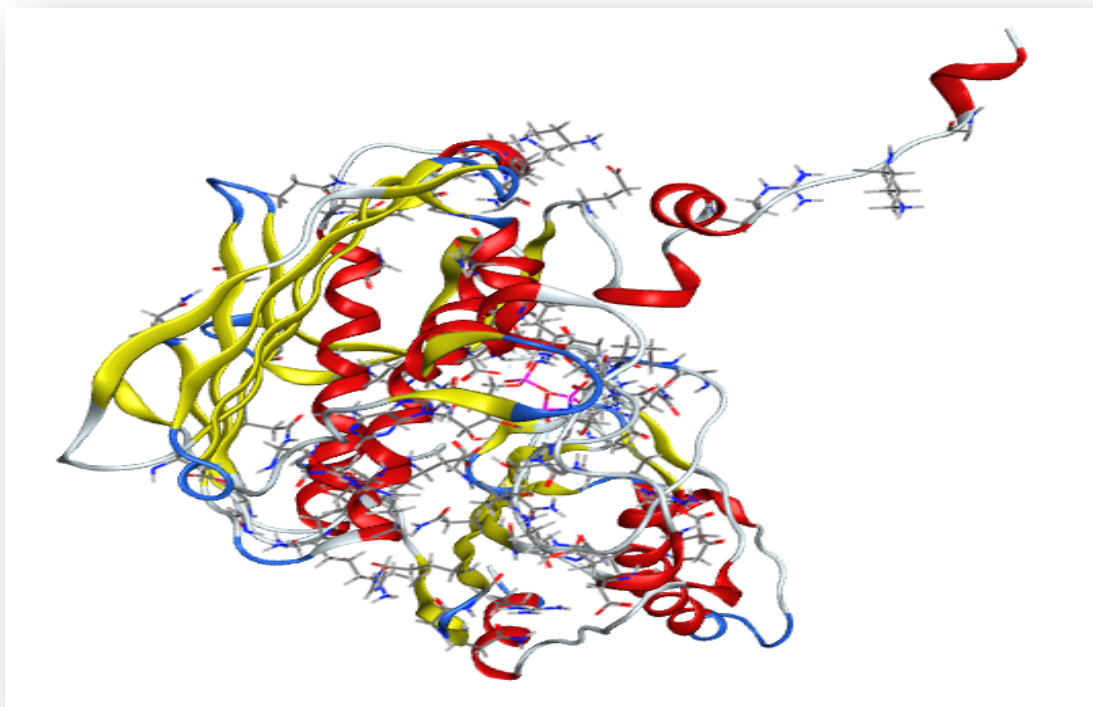
**Figure III.7.** Représente la méthodologie de travaille



### 3.1. Préparations de l'enzyme

Le téléchargement de l'enzyme ADN Topoisomerase II $\alpha$  a été fait à partir de la base de données Protéine Data Bank [www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb)<sup>20</sup>, avec le code d'accès (1ZXM) sous format PDB. La structure tridimensionnelle (Structure 3D) de 1ZXM est correctement définie par diffraction en rayon X avec une résolution égale à 1.87 Å (Figure III.8) Le 1ZXM est Co-cristallisé avec *phosphoaminophosphonic acid-adenylate ester* (C<sub>10</sub> H<sub>17</sub> N<sub>6</sub> O<sub>12</sub> P<sub>3</sub>)ANP.

Lors de la préparation de l'enzyme simplifié, on a éliminé la chaîne B ainsi que les molécules d'eau et l'ion magnésium, ensuite on a ajouté H<sup>+</sup> (protonation) .



**Figure III.8.** La structure 3D de l'enzyme 1ZXM préparé

La structure chimique du ligand Co-cristallisé (ANP) avec le récepteur (1ZXM) est donnée dans la figure suivante (Figure III.9)



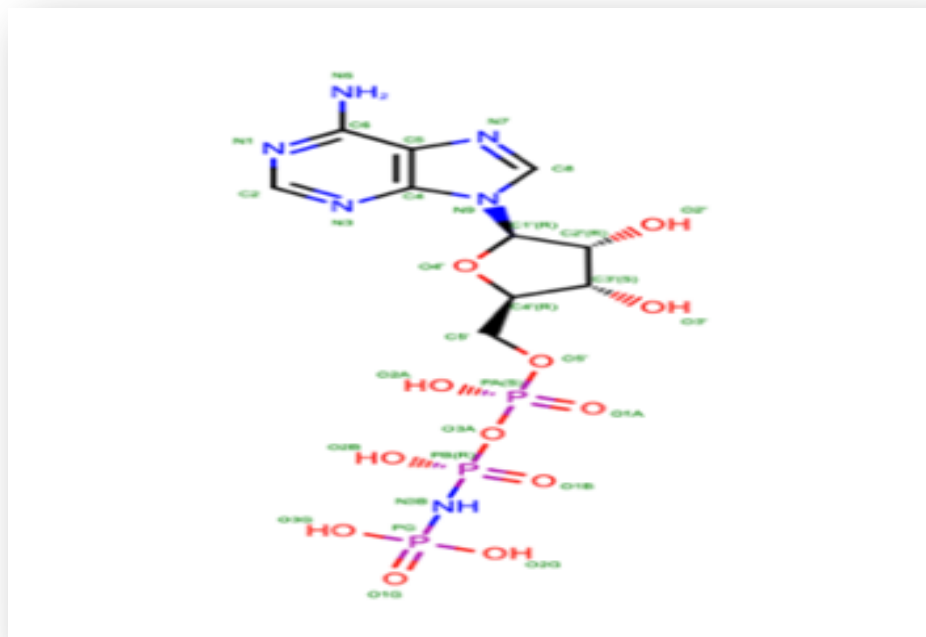


Figure III.9 La structure chimique du ligand Co-cristallisé (ANP)

Tableau III.2. Données cristallographiques

Enzyme	Classification	Chaîne	Résolution	Résidus	Atomes
1ZXM	Isomérase	A	1, 87 Å°	751	6521

### 3.2. Détection de cavité

Dans les enzymes, se trouve une région particulière appelée site actif. Il s'agit d'une région bien déterminée qui joue un rôle direct dans l'activité enzymatique. Le site actif est constitué d'un petit nombre d'acides aminés qui le plus souvent ne se suivent pas dans la séquence polypeptidique. Cependant, le repliement de la protéine rapproche les chaînes latérales de ces acides aminés pour former une cavité qui renferme d'une part, le site de reconnaissance du substrat et d'autre part, le site catalytique où le substrat est transformé en produit(s) par réaction chimique. La spécificité de reconnaissance entre l'enzyme et le substrat et la réaction enzymatique sont basées sur des interactions entre les groupements chimiques des deux partenaires. Il s'établit principalement des liaisons non covalentes de



types hydrogènes, électrostatiques ou hydrophobes, mais parfois aussi des liaisons covalentes<sup>21</sup>.

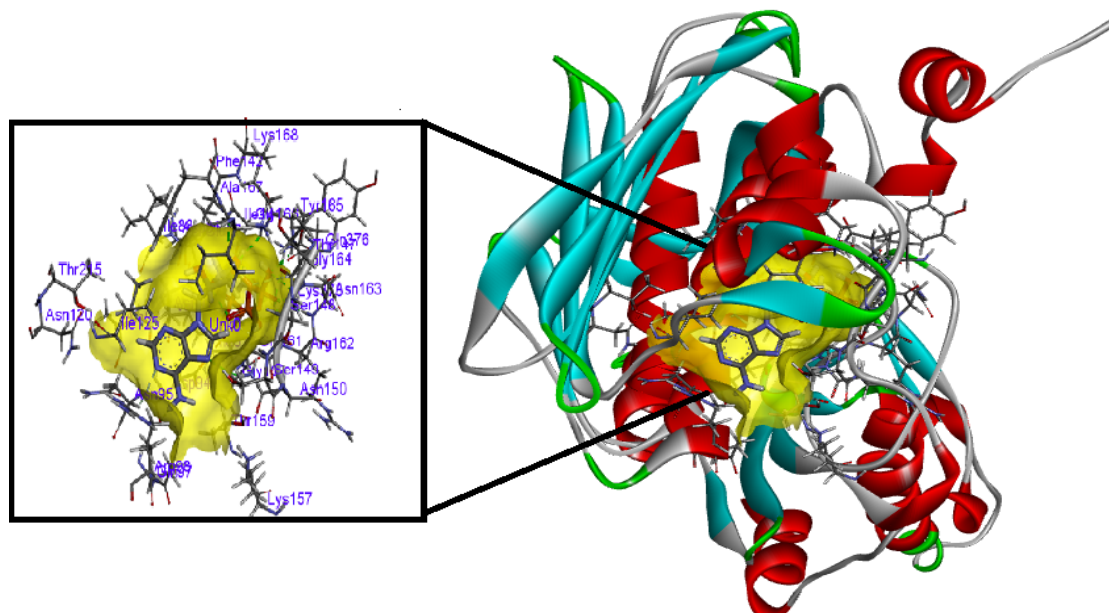
Le site actif est constitué de deux parties<sup>22</sup> :

- Site de reconnaissance (ou site de liaison au substrat), permettant de fixer le substrat grâce à certains acides aminés.
- Site catalytique (ou a lieu la transformation du substrat), permettant de transformer le substrat grâce à des acides aminés qui interagissent avec le substrat.

Dans notre étude 20 cavités ont été détectées dans l'enzyme 1ZXM par le logiciel MOE. Nous avons choisi la cavité 2 pour faire notre calcul de Docking car elle possède :

- Le ligand qui Co-cristallisé est ANP.
- Un volume important par rapport autres cavités.
- Les mêmes résidus de site actif de la littérature<sup>23</sup>.

La cavité sélectionnée (N°2) pour notre étude est illustrée dans la (**Figure III.10**), est obtenus en utilisant la fonction « site Finder » qui est formé par MOE.



**Figure III.10** la cavité choisie de l'enzyme 1ZXM



Le **Tableau III.3** présente les différentes propriétés de la cavité N°2 qui est détecté en utilisant la fonction « site Finder » qui est formé par MOE.

**Tableau III.3** les propriétés de la cavité choisie (site actif) de l'enzyme 1ZXM

Site	Size	Hyde	Résidus
2	108	22	val90 Ala93 Asp94 Lys96 Gln97 Val158Thr159Gly160Ala247 Gly248 Ser249 Thr250 Lys257 Asp258 Val253Lys254 Val264Lys265Gly266 Phe267Gln292Asn294His295Arg296 Trp297Glu298 Asn315 Ser316 Asn365 Ala366 Leu367

### 3.3. Préparations des ligands

Le choix du ligand est une étape importante dans le Docking moléculaire, il doit être sous forme 3D. Pour obtenir, il existe deux moyens :

- La première souvent d'aspect commercial ; est constituée de bases de données de structures chimiques appelées : chimiothèques.
- Le second moyen consiste à utiliser ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol...etc.)

Les ligands utilisés dans notre travail sont les dérivés de Xanthone<sup>24,25</sup> qui sont capables de faire des interactions avec l'enzyme ADN topoisomérase II $\alpha$  et par la suite forment des complexes stables qui sont dessinés en utilisant le logiciel CHEMDRAW, ils sont enregistrés sous forme MOL. L'optimisation de la géométrie des ligands a été effectuée à l'aide du logiciel HYPERCHEM en utilisant la méthode semi-empirique PM<sub>3</sub> et la méthode mécanique moléculaire en utilisant le champ de force MM<sup>+</sup>. Les structures 2D des 121 inhibiteurs sont représentés dans l'Annexe N° 01.

### 3.4. Simulation de Docking moléculaire

Dans la mise au point de nouveaux médicaments, l'amarrage (Docking) est basé sur un type semi-flexible, le ligand étant considéré comme flexible et la chaîne principale de l'enzyme a été maintenue rigide, tandis que les chaînes latérales restent flexibles. Il utilise le champ de force MMFF94x pour optimiser les conformations au cours de calcul<sup>26</sup>.



L'étude de l'interaction entre le site actif de la protéine 1ZXM et les dérivés de Xanthone pour former des complexes stables est réalisée à l'aide du logiciel MOE, une fois que le complexe ligand-récepteur est formé, celui-ci va adapter la conformation la plus stable, c'est à dire le niveau énergétique le plus faible. Le processus de Docking comprend deux étapes fondamentales : la prévision de la conformation du ligand ainsi que sa position et son orientation au sein de ces sites (généralement appelés pose) et l'évaluation de l'affinité de liaison<sup>27</sup>.

### 3.5. Prédiction des propriétés moléculaires des ligands

Les descripteurs moléculaires et les propriétés de probabilité médicamenteuse des composés basés sur la règle de LIPINSKI et VEBER ont été analysés à l'aide de l'outil serveur Molinspiration <http://www.molinspiration.com>.

Nous suivons les étapes suivantes pour chaque complexe :

- Conversion d'un ligand d'un fichier MOL à un fichier SDF
- Ensuite, on copie le Smile de chaque ligand de translator Smile
- Finalement on colle le Smile dans l'outil Molinspiration et on calcule les propriétés de complexe.

### 3.6. Prédiction des propriétés ADMET

La bonne pharmacocinétique ainsi que l'efficacité sont parmi les principaux déterminants du développement réussi du médicament<sup>28</sup>. Par conséquent, une mauvaise absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité (ADMET) cause des échecs coûteux aux stades avancés du développement du médicament. Ainsi, il est obligatoire que ces domaines soient pris en compte aux premiers stades du processus de découverte de médicaments<sup>29</sup>.

La structure chimique du composé a été soumise sous la forme d'un système d'entrée de ligne d'entrée moléculaire simplifié (SMILE), pour estimer plusieurs paramètres pharmacocinétiques « Absorption, distribution, métabolisme, élimination et toxicité »,

In silico à l'aide de l'outil « PKCSM » <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction> le profil pharmacocinétique du composé a été évalué.



### 3.7. Simulation de dynamique moléculaire

Les simulations MD permettent d'étudier les propriétés thermodynamiques et les phénomènes dépendant du temps (c'est-à-dire cinétiques). Cela permet de développer une compréhension des différents aspects dynamiques de Structure, reconnaissance et fonction biomoléculaires. Cependant, lorsqu'il est utilisé seul, le MD est d'une utilité limitée. Une trajectoire MD (c'est-à-dire la progression de la structure simulée par rapport au temps) ne fournit généralement des données qu'au niveau des positions atomiques, des vitesses et des énergies ponctuelles. Obtenir les propriétés macroscopiques auxquelles on s'intéresse habituellement nécessite l'application de la mécanique statistique, qui relie simulations microscopiques et observables macroscopiques<sup>30</sup>.

Afin de trouver le meilleur inhibiteur, des simulations MD ont été réalisées pour évaluer les changements conformationnels et comprendre la stabilité des complexes formés entre le récepteur et les inhibiteurs<sup>31,32</sup>. Les complexes composé-1ZZM avec les meilleurs scores d'amarrage ont été considérés comme des fichiers d'entrée pour les simulations de dynamique moléculaire (MD) à 1000 Ps (1ns).





## 4. Résultats et discussion

### 4.1. Résultats de Dockings moléculaires

Le Docking moléculaire permet de positionner les molécules ou les ligands choisis de dérivés des Xanthones au sein du site actif de la protéine (ID : 1ZXM). Le complexe ligand-récepteur formé adoptera la conformation la plus stable au niveau énergétique le plus faible.

Dans notre étude nous avons étudiés en détail les interactions entre l'enzyme (1ZXM) et les inhibiteurs par l'utilisation de logiciel Discovery studio, en comparant les interactions de ligand de référence (ANP) et le médicament Mitoxantrone <sup>33</sup>(Figure III.11) qui est similaire à nos inhibiteurs dans sa structure avec notre enzyme.

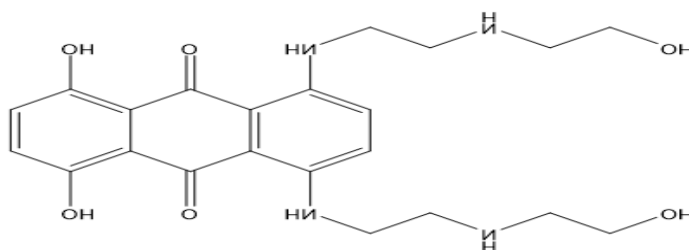


Figure III.11 la structure chimique de Mitoxantrone

Tout d'abord nous allons présenter les résultats de scores (kcal/mol) et du RMSD de meilleure pose pour chaque ligand obtenu par logiciel Moe (Tableau III.4). Sachant que :

- **Le Score** : Des poses est obtenue après 30 tours de recherche. Ce résultat permet de classer les meilleures poses en se basant sur leurs énergies d'interactions obtenues par le « E score » <sup>34</sup>
- **Le RMSD (Root Mean Square Deviation)** : Le RMSD est la détermination de la position du ligand calculé par le logiciel de Docking par rapport au ligand de référence existant au niveau de la PDB (déterminer expérimentalement). La prédiction est acceptable si sa valeur ne dépasse pas 2 angströms. La norme actuelle pour évaluer les performances d'un programme de Docking est de faire un test à partir de plusieurs centaines de complexes protéine-ligand<sup>35</sup>. Ses applications sont diverse et inclure la surveillance des changements structurels dans les simulations de repliement et dynamique des protéines, évaluation de la



qualité de schémas de prédiction de structure, comparant les diversité des structures modèles issues des expériences, évaluant les propriétés des approches de modélisation à différents niveaux de résolution et la définition de haute-formes de résolution des polymères. De plus, la structure diversité d'un ensemble de structures biomoléculaires obtenues par des simulations informatiques est fréquemment analysé par calcul d'une distribution tous contre tous des valeurs RMSD<sup>36</sup>.

**Tableau III.4** Résultats de RMSD et SCORE de l'enzyme 1ZXM avec les ligands

Ligand	S-score	RMSD	Ligand	S-score	RMSD
	(Kcal/mol)			(K cal/mol)	
<b>1</b>	-5.40	3,43	<b>62</b>	-7.68	2,55
<b>2</b>	-5.39	3,43	<b>63</b>	-7.40	2,18
<b>3</b>	-5.40	3,43	<b>64</b>	-7.99	1,86
<b>4</b>	-7.42	1,82	<b>65</b>	-7.01	0,7
<b>5</b>	-8.21	1,69	<b>66</b>	-7.81	1,32
<b>6</b>	-6.55	1,00	<b>67</b>	-6.30	2,06
<b>7</b>	-7.35	2,20	<b>68</b>	-8.39	1,37
<b>8</b>	-7.23	1,79	<b>69</b>	-7.49	3,57
<b>9</b>	-7.63	2,08	<b>70</b>	-6.94	1,44
<b>10</b>	-6.13	1,02	<b>71</b>	-6.55	2,45
<b>11</b>	-7.43	1,56	<b>72</b>	-6.62	2,14
<b>12</b>	-7.83	2,47	<b>73</b>	-6.86	1,50
<b>13</b>	-7.52	0,96	<b>74</b>	-6.43	1,31
<b>14</b>	-6.67	2,78	<b>75</b>	-6.21	1,41
<b>15</b>	-6.39	1,10	<b>76</b>	-7.69	1,87
<b>16</b>	-6.35	1,90	<b>77</b>	-7.06	1,33
<b>17</b>	-7.70	2,47	<b>78</b>	-7.06	1,33



## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

<b>18</b>	-6.93	1,36	<b>79</b>	-7.60	3.21
<b>19</b>	-7.42	4,25	<b>80</b>	-7.69	1.87
<b>20</b>	-7.34	2,06	<b>81</b>	-7.95	0.65
<b>21</b>	-8.21	2,41	<b>82</b>	-8.36	1.51
<b>22</b>	-6.50	1,49	<b>83</b>	-8.11	1.77
<b>23</b>	-6.06	1,32	<b>84</b>	-7.97	2.62
<b>24</b>	-6.97	1,78	<b>85</b>	-7.86	2.06
<b>25</b>	-6.98	1,74	<b>86</b>	-8.07	1.82
<b>26</b>	-7.93	2,03	<b>87</b>	-7.55	1.70
<b>27</b>	-7.49	1,24	<b>88</b>	-7.61	2.43
<b>28</b>	-6.16	1,56	<b>89</b>	-7.63	1.46
<b>29</b>	-8.41	1,10	<b>90</b>	-8.00	4.18
<b>30</b>	-7.23	2,19	<b>91</b>	-8.28	2.34
<b>31</b>	-8.34	1,24	<b>92</b>	-8.17	1.79
<b>32</b>	-7.97	2,45	<b>93</b>	-7.93	1.76
<b>33</b>	-6.46	1,54	<b>94</b>	-8.64	1.70
<b>34</b>	-6.82	3,44	<b>95</b>	-8.31	1.75
<b>35</b>	-7.34	2,28	<b>96</b>	-8.18	1.83
<b>36</b>	-7.40	1,42	<b>97</b>	-7.93	1.34
<b>37</b>	-7.50	1,67	<b>98</b>	-7.86	1.38
<b>38</b>	-6.81	1,04	<b>99</b>	-7.92	2.00
<b>39</b>	-7.84	1,44	<b>100</b>	-8.45	1.66
<b>40</b>	-7.37	2,10	<b>101</b>	-8.35	1.53

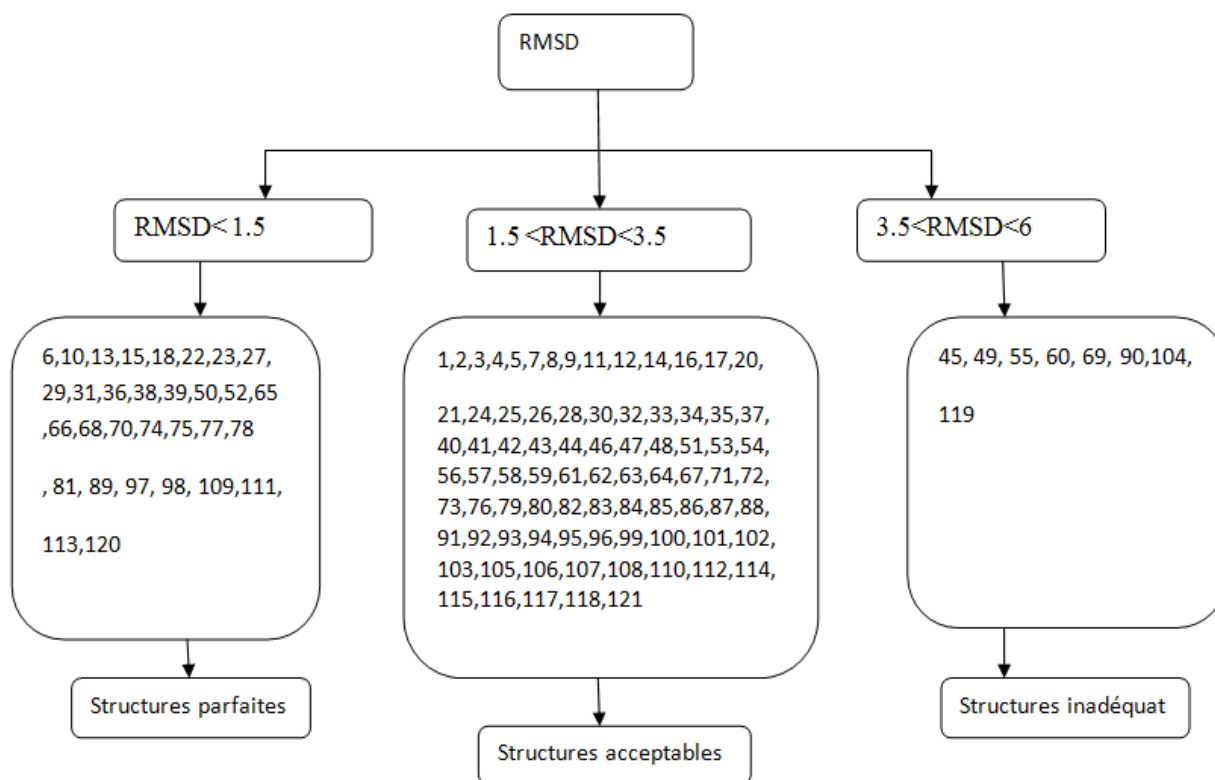


## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

<b>41</b>	-7.76	3,02	<b>102</b>	-9.03	1.81
<b>42</b>	-7.55	2,12	<b>103</b>	-8.59	2.02
<b>43</b>	-7.37	2,60	<b>104</b>	-8.89	4.75
<b>44</b>	-7.37	2,68	<b>105</b>	-8.46	1.75
<b>45</b>	-6.03	4,19	<b>106</b>	-8.87	2.12
<b>46</b>	-7.24	1,51	<b>107</b>	-9.30	2.69
<b>47</b>	-6.95	1,68	<b>108</b>	-8.77	1.71
<b>48</b>	-7.33	1,94	<b>109</b>	-8.56	1.13
<b>49</b>	-7.02	4,94	<b>110</b>	-8.04	2.21
<b>50</b>	-6.76	1,43	<b>111</b>	-8.79	1.47
<b>51</b>	-7.67	2,67	<b>112</b>	-8.95	2.77
<b>52</b>	-9.89	1,50	<b>113</b>	-9.00	1.43
<b>53</b>	-8.84	2,80	<b>114</b>	-9.65	1.70
<b>54</b>	-7.76	1,62	<b>115</b>	-9.48	1.90
<b>55</b>	-5.97	3,52	<b>116</b>	-9.08	2.65
<b>56</b>	-7.35	1,58	<b>117</b>	-9.35	1.90
<b>57</b>	-6.89	1,86	<b>118</b>	-9.10	1.54
<b>58</b>	-7.50	2,07	<b>119</b>	-7.76	3.56
<b>59</b>	-6.51	1,51	<b>120</b>	-5.78	1.46
<b>60</b>	-7.75	3,70	<b>121</b>	-7.73	1.68
<b>61</b>	-7.63	2,99	/	/	/
<b>L. réf</b>	-7.17	1.66	/	/	/
<b>Mitoxantrone</b>	-8.31	1.74	/	/	/



La classification de tous les ligands en fonction des valeurs de RMSD est montrée dans la **Figure III.10** :



**Figure III.12.** Représente les résultats de RMSD de tous les ligands

#### 4.1.1. Étude des interactions enzyme -ligand :

Une fois le complexe enzyme-inhibiteur formé, il adoptera la conformation la plus stable correspondant au niveau d'énergie le plus bas. Cette étude est réalisée sur les sept meilleurs ligands (**29, 52, 102, 114, 115, 117, 118**) qui ont les énergies de score les plus faibles par rapport à l'ANP et à la Mitoxantrone. Les résultats des interactions entre ces ligands et l'enzyme sont présentés dans le **Tableau III.5**. Les structures 2D, 3D des interactions protéine-ligand ont été visualisées par le programme Discovery studio. Dans cette analyse, les composés ont interagi avec les résidus d'acides aminés du site actif par le biais de forces d'interaction telles que la liaison hydrogène (liaison conventionnelle et liaison hydrogène carbone) et l'interaction hydrophobe (interactions empilées Pi-alkyle, Pi -Sigma et amide -Pi).



Tableau III.5 les interactions des meilleurs inhibiteurs de l'enzyme 1ZXM

Complexes (Ligands -1ZXM)	Les interactions	Les Categories	Les types
29-1ZXM	THR215	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	THR215	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	ASN120	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	SER148	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	SER149	Hydrogène	Pi-hydrogène donneur bond
	ILE141	Hydrophobe	Pi-sigma
	ALA92	Hydrophobe	Alkyl
	ALA167	Hydrophobe	Alkyl
	VAL137	Hydrophobe	Alkyl
	ILE118	Hydrophobe	Alkyl
	ILE217	Hydrophobe	Alkyl
	ILE88	Hydrophobe	Alkyl
	ILE217	Hydrophobe	Alkyl
	PHE142	Hydrophobe	Pi-alkyl
ILE125	Hydrophobe	Pi-alkyl	
52-1ZXM	LYS123	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	SER149	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	THR215	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ALA92	Hydrophobe	Alkyl
	ALA167	Hydrophobe	Alkyl
	ILE88	Hydrophobe	Alkyl
	ILE217	Hydrophobe	Alkyl
	PHE142	Hydrophobe	Pi-alkyl
	ILE125	Hydrophobe	Pi-alkyl
ILE141	Hydrophobe	Pi-alkyl	
102-1ZXM	ASN91	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	THR147	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ASN91	Hydrophobe	Amide-pi stack- Ade
	ALA92	Hydrophobe	Amide-pi stack- Ade
	VAL90	Hydrophobe	Alkyl
	ILE125	Hydrophobe	Pi-alkyl
	PRO126	Hydrophobe	Pi-alkyl
	ILE141	Hydrophobe	Pi-alkyl
114-1ZXM	SER148	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	THR147	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ILE141	Hydrophobe	Pi-sigma
	ASN91	Hydrophobe	Amide-pi stack- Ade
	PRO126	Hydrophobe	Pi-alkyl
	ILE125	Hydrophobe	Pi-alkyl
	VAL90	Hydrophobe	Alkyl
	VAL137	Hydrophobe	Alkyl
115-1ZXM	ARG98	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	ALA92	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ASN120	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	THR147	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ASN91	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	PRO126	Hydrophobe	Pi-alkyl
	ILE125	Hydrophobe	Pi-alkyl
	SER149	Hydrogène	Pi-donneur hydrogène bond
	ASN120	Halogène	Halogène (fluorine)
ASN91	Halogène	Halogène (fluorine)	
PRO126	Hydrophobe	Pi-alkyl	



La suite de tableau III.5

<b>117-1ZXM</b>	LYS168	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	ILE141	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	THR147	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ALA92	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	SER149	Hydrogène	Pi-donneur hydrogène bond
	ASN120	Halogène	Halogène (fluorine)
	ASN91	Halogène	Halogène(fluorine)
	PRO126	Hydrophobe	Pi-alkyl
	VAL137	Hydrophobe	Pi-alkyl
	ILE141	Hydrophobe	Pi-alkyl
VAL90	Hydrophobe	Alkyl	
<b>118-1ZXM</b>	SER149	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	LYS168	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	ARG98	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ASN120	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	THR147	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ILE125	Hydrophobe	Pi-alkyl
	ILE141	Hydrophobe	Pi-alkyl
	ILE125	Hydrophobe	Pi-alkyl
	VAL90	Hydrophobe	Alkyl
<b>ANP-1ZXM</b>	ASP94	Électrostatique	Charge attractive
	GLU87	Électrostatique	Charge attractive
	ASN91	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	ASN150	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	ARG162	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	ASN163	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	GLY164	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	TYR165	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	GLN376	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	LYS378	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	GLU87	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	ASP94	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	ILE141	Hydrogène	Conventionnelle hydrogène bond
	GLU87	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ASN95	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	GLY161	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	GLY164	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	LYS378	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
<b>Mitoxantrone-1ZXM</b>	SER149	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ARG98	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ASN91	hydrogène	Conventionnellehydrogène bond
	SER148	hydrogène	Conventionnellehydrogène bond
	LYS123	hydrogène	Conventionnellehydrogène bond
	SER149	hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ILE125	hydrophobe	Pi-alkyl
	ILE141	hydrophobe	Pi-alkyl

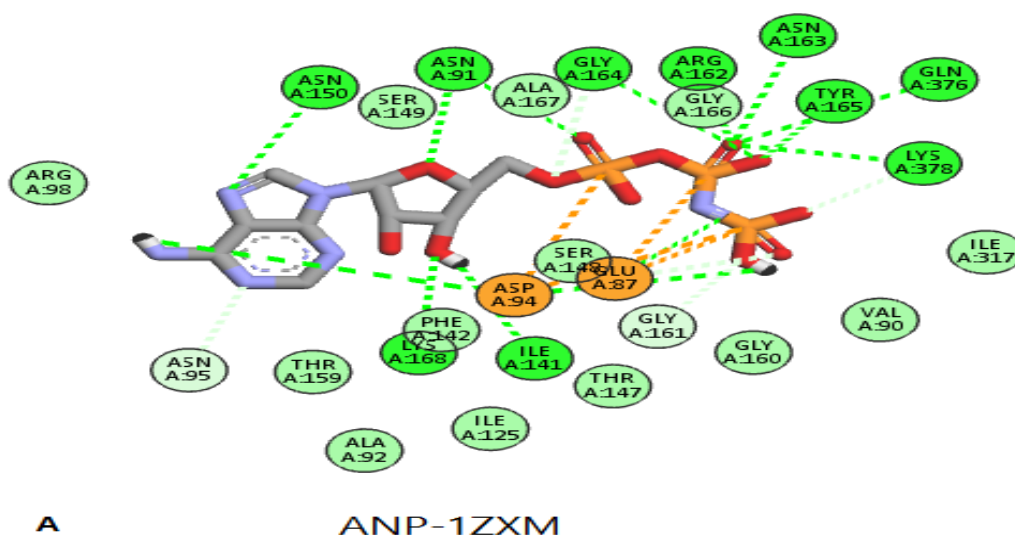


- **Les interactions enzyme -ligand de référence :**

Afin de proposer de nouveaux inhibiteurs, mieux vaut prendre en compte le mécanisme d'inhibition généré par le meilleur composé actif (référence) présent dans la chimio thèque pour comparer les liaisons qui lient ce dernier à l'enzyme avec les autres inhibiteurs étudiés. La reconstruction du ligand de référence par Docking moléculaire avec « Moe » montre un score s'évaluant à -7.17 (kcal/mol).

On observe que le ligand de référence à établi 17 liaisons avec le récepteur 1ZXM

- Dix liaisons de type hydrogène formés entre l'atome d'oxygène du ligand et les résidus de l'enzyme ASN 91, ASN 163, LYS 378, ARG 162, GLN 376, ASN 91, ASN 91, LYS 168, GLY 164 et TYR 165 par la distance respectivement de 2.47, 2.46, 2.35, 2.18, 2.71, 2.90, 2.84, 2.55, 2.64 et 2.09Å
- Deux liaisons de type hydrogène formés entre cycle purine du ligand et les résidus ASN 150 et ASN 95 par distance 2.94 et 2.84 Å respectivement.
- IL existe aussi autres interactions entre les atomes C du ligand et les résidus ASP 94 et GLU 87 séparés par la distance 5.15 et 4.27 Å respectivement qui sont des interactions hydrophobiques participant à la stabilité du complexe 1ZXM ligand de référence.



**Interactions**

- van der Waals
- Attractive Charge

- Conventional Hydrogen Bond
- Carbon Hydrogen Bond





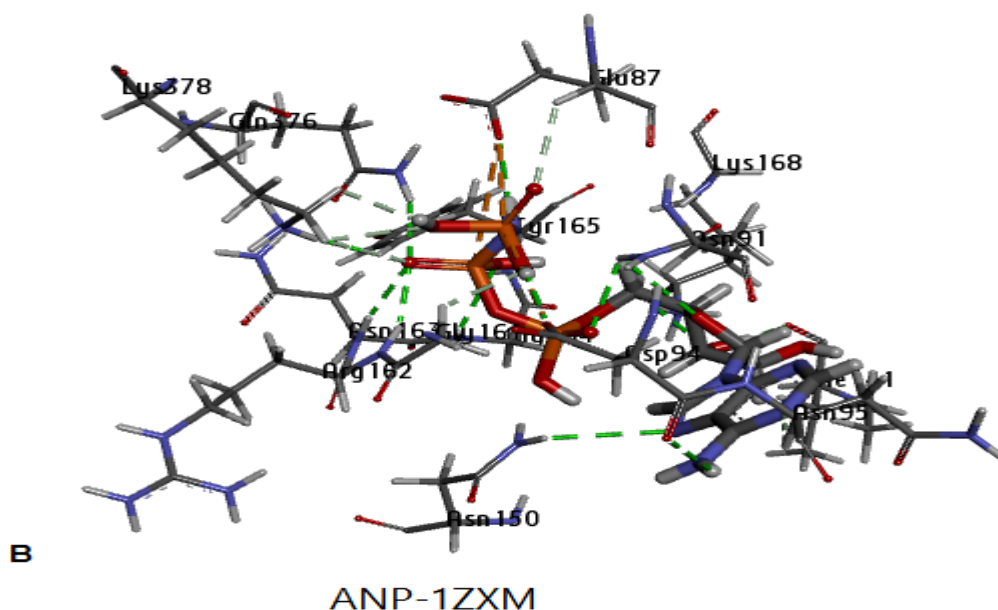


Figure III.13 Interactions entre le ligand de référence et les résidus de 1ZXM (A/2D, B/3D)

Tableau III.6 Interactions entre le ligand de référence et les résidus de site actif de l'enzyme 1ZXM

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 :UNK0:P - A:ASP94:OD2	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Orange	Ligand Non-bond...	5,15169	Electrostatic	Attractive Charge
2 :UNK0:P - A:GLU87:OE2	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Orange	Ligand Non-bond...	4,26554	Electrostatic	Attractive Charge
3 :UNK0:P - A:GLU87:OE2	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Orange	Ligand Non-bond...	3,26506	Electrostatic	Attractive Charge
4 :UNK0:P - A:ASP94:OD2	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Orange	Ligand Non-bond...	4,41526	Electrostatic	Attractive Charge
5 A:ASN91:HD22 - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,84456	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
6 A:ASN91:HD22 - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,4692	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
7 A:ASN150:HD22 - :UNK0:N	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,94195	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
8 A:ARG162:H - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,18449	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
9 A:ASN163:H - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,46181	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
10 A:GLY164:H - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,63822	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
11 A:TYR165:H - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,09122	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
12 A:LYS168:H22 - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,5525	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
13 A:GLN376:HE22 - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,71315	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
14 A:LYS378:H23 - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,35459	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
15 :UNK0:H - A:GLU87:OE2	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,14051	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
16 :UNK0:H - A:ASP94:OD2	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,15781	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
17 :UNK0:H - A:ILE141:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,05098	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
18 :UNK0:H2 - A:ASP94:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond...	2,65619	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
19 A:GLU87:HA - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond...	2,807	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
20 A:ASN95:HA - :UNK0:N	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond...	2,83947	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
21 A:GLY161:HA3 - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond...	2,27619	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
22 A:GLY164:HA3 - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond...	2,89623	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
23 A:LYS378:HE2 - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond...	2,88972	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
24 A:LYS378:HE2 - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond...	2,57848	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
25 A:LYS378:HE3 - :UNK0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond...	2,78869	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond

• **L'interaction Mitoxantrone – 1ZXM :**

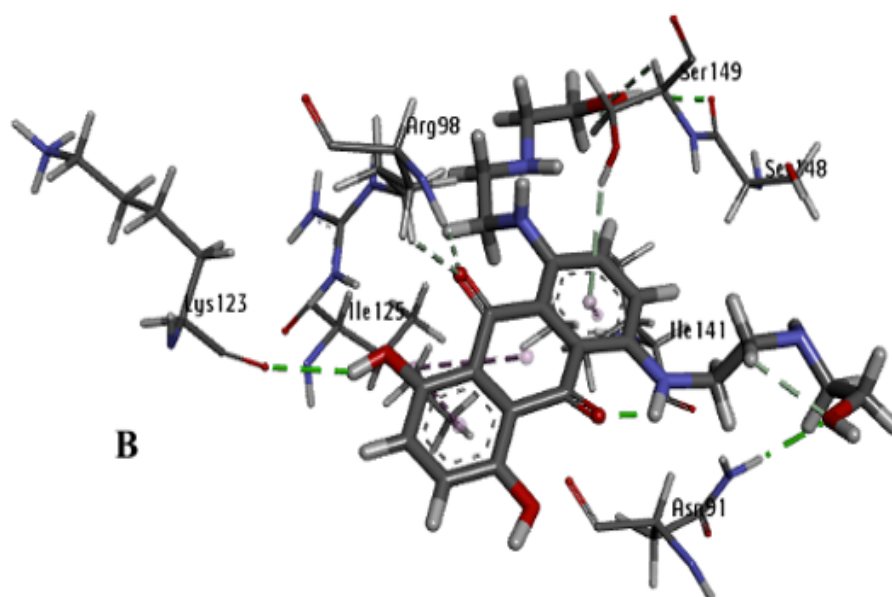
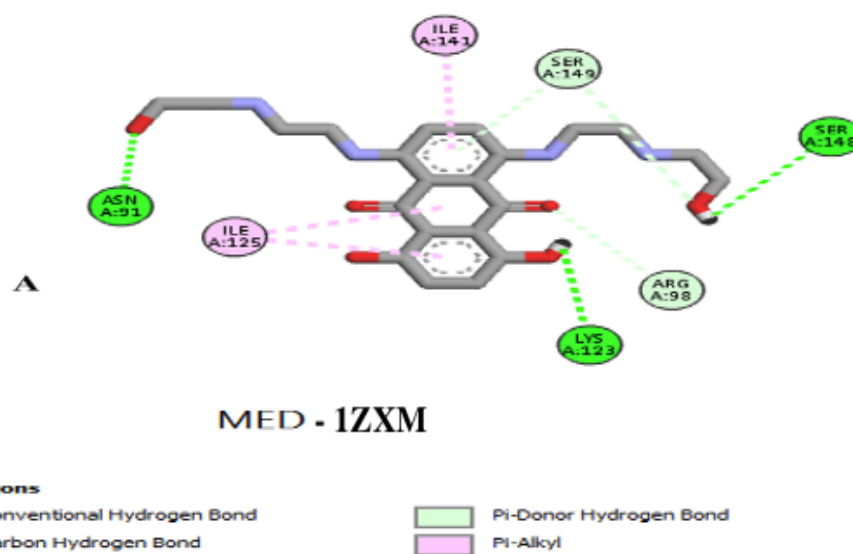
L'interaction du Mitoxantrone avec le site actif de l'enzyme 1ZXM donne le score - 8,31 kcal/mol, Ce médicament forme 9 liaisons avec les résidus de cavité sachant que :

- Six liaisons fortes sont de type liaisons d'hydrogène, trois liaisons sont liées respectivement entre 3 atomes d'oxygène de médicament et les résidus de site actif : SER149,



ARG98, ASP91, avec les distances : 2,87Å ; 2,76 Å et 2,06 Å, par contre les 3 autres liaisons sont liées entre les atomes d'hydrogène de médicament et les résidus suivants : SER148 à une distance 2,44 Å, LYS123 à une distance 2,63 Å et SER149 à une distance 2,98 Å.

- Nous notons également que ce complexe forme trois liaisons hydrophobique sont liés avec le cycle de benzène et le cycle hexan -1,4 -one de médicament et les résidus : ILE125 à deux même valeur de distance 5,14 Å et ILE141 à une distance 4,84 Å, pour stabiliser le complexe.



**Figure III.14.** L'interaction entre le Mitoxantrone et les résidus de 1ZXM (A/2D, B/3D)



**Tableau III.7** les interactions entre le Mitoxantrone et l'enzyme 1ZXM

	Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1	A:ASN91:HD22 - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand Non-bond...	2.06287	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2	*O:H - A:LYS123:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand Non-bond...	2.6332	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3	*O:H - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand Non-bond...	1.95086	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4	*O:H - A:SER148:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand Non-bond...	2.44858	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5	A:ARG98:HD2 - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand Non-bond...	2.76202	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
6	A:SER149:HA - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand Non-bond...	2.87946	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
7	A:SER149:HB2 - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand Non-bond...	3.0653	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8	*O:H - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand Non-bond...	2.62241	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
9	*O:H - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand Non-bond...	2.55962	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
10	A:SER149:HG - :*O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand Non-bond...	2.98411	Hydrogen Bond	Pi-Donor Hydrogen Bond
11	*O - A:ILE125	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand Non-bond...	5.14275	Hydrophobic	Pi-Alkyl
12	*O - A:ILE125	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand Non-bond...	5.14145	Hydrophobic	Pi-Alkyl
13	*O - A:ILE141	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand Non-bond...	4.84815	Hydrophobic	Pi-Alkyl

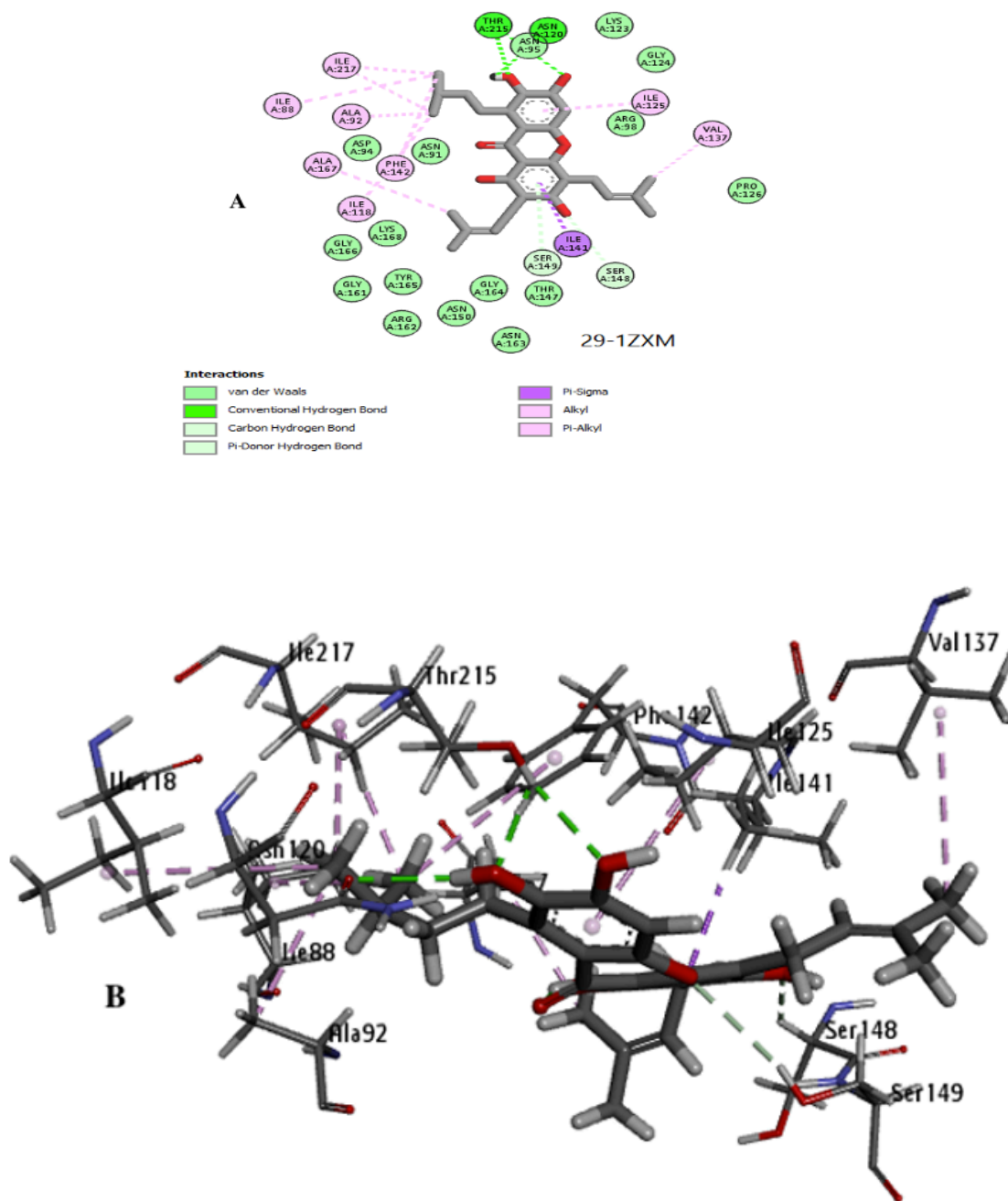
• **Les interactions 29-1ZXM :**

Ce complexe montre un score de -8.41 kcal/mol, il forme 15 liaisons :

• Cinq liaisons de type hydrogène trois formés entre l'atome d'oxygène et le résidu THR215 avec deux distances respectivement 2,16 Å et 2,53 Å et l'autre résidu SER148 avec une distance 2,55 Å. Les deux autres liaisons de types H, l'une est liée entre l'hydrogène de ligand et le résidu ASN120 avec une distance 2,47 Å, l'autre lié entre le cycle benzène et le résidu SER149 à une distance 3,17 Å.

• Dix liaisons de type hydrophobique : deux liaisons sont liées entre le cycle de benzène de ligand et les résidus ILE125 et ILE141 avec les distances respectivement 4,62 Å et 2,80 Å. Les autres liaisons sont liées entre l'atome de carbone et les résidus : ALA92 , ALA167, VAL137 , ILE118, ILE217, ILE88, ILE217 et PHE142 avec les distances respectivement : (4,12 Å , 4,09 Å , 4,48 Å , 5,43 Å , 4,46 Å , 4,58 Å , 4,15 Å et 5,20 Å )





**Figure III.15** Interactions entre le ligand 29 et l'enzyme 1ZXm (A/2D, B/3D)



Tableau III.8 Interactions entre le ligand 29 et les résidus de l'enzyme 1ZXM

	Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1	A:THR215:HG1 - : *O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	2,16477	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2	A:THR215:HG1 - : *O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	2,53309	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3	: *O:H - : *O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	1,92722	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4	: *O:H - A:ASN120:OD1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	2,47845	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5	A:SER148:HA - : *O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	2,55932	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
6	A:SER149:HG - : *O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	3,17956	Hydrogen Bond	Pi-Donor Hydrogen Bond
7	A:ILE141:HD11 - : *O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	2,80113	Hydrophobic	Pi-Sigma
8	A:ALA92 - : *O:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4,12767	Hydrophobic	Alkyl
9	A:ALA167 - : *O:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4,09075	Hydrophobic	Alkyl
10	: *O:C - A:VAL137	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4,48911	Hydrophobic	Alkyl
11	: *O:C - A:ILE118	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	5,43591	Hydrophobic	Alkyl
12	: *O:C - A:ILE217	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4,46584	Hydrophobic	Alkyl
13	: *O:C - A:ILE88	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4,58111	Hydrophobic	Alkyl
14	: *O:C - A:ILE217	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4,15919	Hydrophobic	Alkyl
15	A:PHE142 - : *O:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	5,2036	Hydrophobic	Pi-Alkyl
16	: *O - A:ILE125	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4,6249	Hydrophobic	Pi-Alkyl

• **L'interaction 52-1ZXM :**

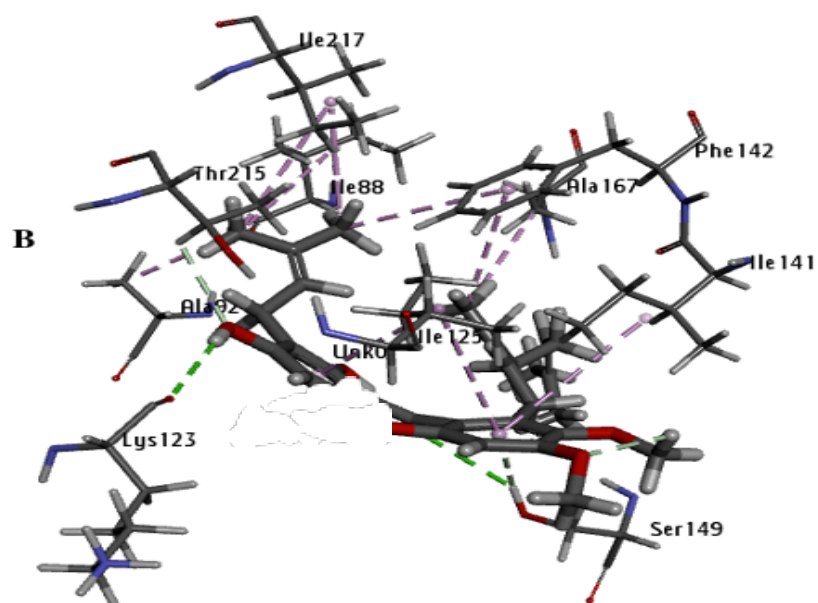
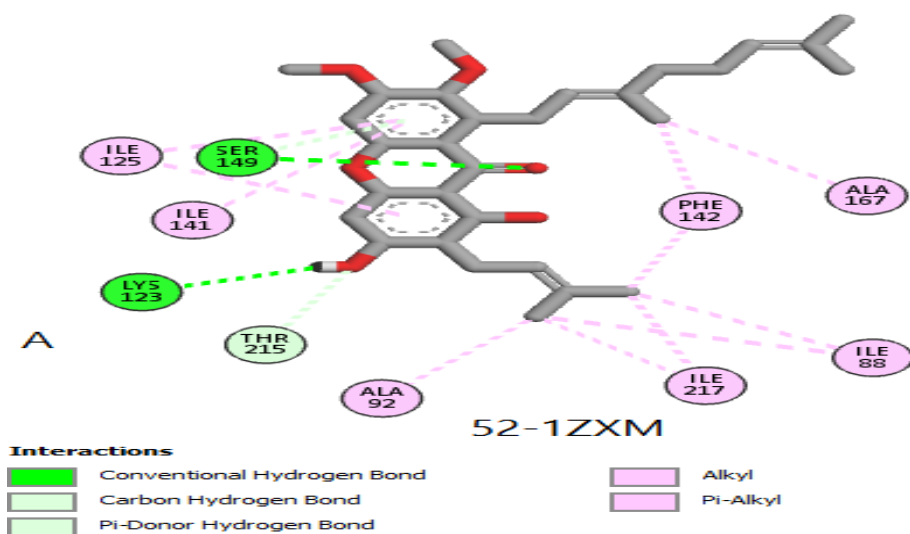
Le complexe 52-1ZXM a une faible énergie de score -9,89Kcal/mol, ce composé a le meilleur score de Docking moléculaire par rapport aux autres composés c'est à dire le meilleur inhibiteur sorti de notre criblage virtuel où il forme avec l'enzyme 14 liaisons :

• Nous avons observé que le ligand 52 établit trois liaisons fortes d'hydrogène, l'une est liée entre l'atome d'hydrogène et le résidu : LYS123 à une distance 2,69Å et les deux autres liaisons sont liées entre l'atome d'oxygène de ligand et les résidus : SER149 à une distance 3,02 Å, THR215 à une distance 2,85 Å.

• De plus, ce complexe forme 11 liaisons hydrophobique, 8 liaisons sont liées entre l'atome de carbone et les résidus : ALA92à une distance 3,90 Å, ALA167 à une distance 4,36 Å, ILE88avec deux distances 4,63 et 5,48, ILE217 à une distance 4,84 Å et PHE142 avec deux distances 4,85 Å et 4,46 Å.

• Les deux autres liaisons hydrophobiques sont liées entre les deux cycles de benzène de ligand et les résidus ILE125 avec deux distances 4,78 Å et 4,88 Å, ILE141 à une distance 5,02 Å.





**Figure III.16** Interactions entre le ligand 52 et l'enzyme 1ZXM (A/2D, B/3D)



**Tableau III.9** Interactions entre le ligand 52 et les résidus du site actif d'enzyme 1ZXM

	Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1	:SER149:HG - :*:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	3.01857	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2	:*:H - :LYS123:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	2.69293	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3	:*:H - :*:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	1.97002	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4	:THR215:HB - :*:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	2.85625	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
5	:*:H - :*:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	2.4169	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
6	:SER149:HG - :*O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	3.09991	Hydrogen Bond	Pi-Donor Hydrogen Bond
7	:ALA92 - :*:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	3.90355	Hydrophobic	Alkyl
8	:ALA167 - :*:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4.36829	Hydrophobic	Alkyl
9	:*:C - :ILE88	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4.6306	Hydrophobic	Alkyl
10	:*:C - :ILE217	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4.19613	Hydrophobic	Alkyl
11	:*:C - :ILE88	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	5.48907	Hydrophobic	Alkyl
12	:*:C - :ILE217	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4.844	Hydrophobic	Alkyl
13	:PHE142 - :*:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4.85677	Hydrophobic	Pi-Alkyl
14	:PHE142 - :*:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4.46609	Hydrophobic	Pi-Alkyl
15	:*O - :ILE125	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4.78535	Hydrophobic	Pi-Alkyl
16	:*O - :ILE141	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	5.01688	Hydrophobic	Pi-Alkyl
17	:*O - :ILE125	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond ...	4.88486	Hydrophobic	Pi-Alkyl

- **L'interaction 114-1ZXM :**

Les résultats montrent que ligand 114 se caractérise par l'énergie de score -9,65 Kcal/mol, ce complexe est impliqué dans la réalisation de 9 liaisons avec le site actif de notre enzyme 1ZXM, on peut classer comme suit :

- La formation de deux liaisons fortes type hydrogène (carbone hydrogène bond), l'une liée entre l'atome d'oxygène de ligand et le résidu SER148 à une distance 2,58Å l'autre liée entre l'atome d'hydrogène et le résidu THR147 à une distance 2,64 Å.

- Le composé 114 forme 7 liaisons de type hydrophobique, les trois liaisons sont liées entre les deux cycles de benzène de ligands et les résidus : ILE141 à une distance 2,80 Å, ASN91 à une distance 5,05 Å, PRO126 à une distance 4,56Å. Deux liaisons entre le cycle de benzène et le cycle hexane et le résidu ILE125 de deux distances 5,19 Å et 4,99 Å.

- Par contre les deux autres liaisons hydrophobiques, l'une lié entre le carbone de ligand et le résidu : VAL90 à une distance 4,37 Å et l'autre liaison lié entre l'atome de chlore et le résidu : VAL137 à une distance 4,48. Å





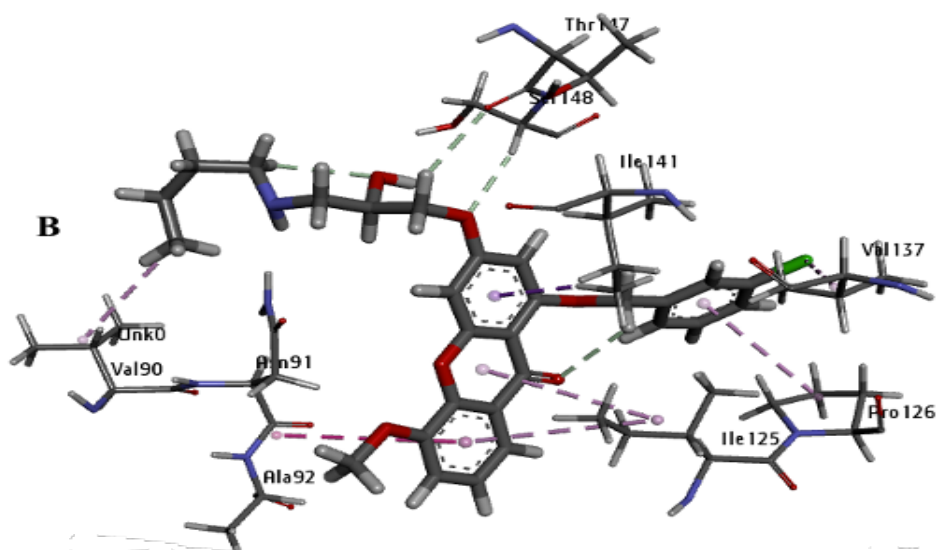
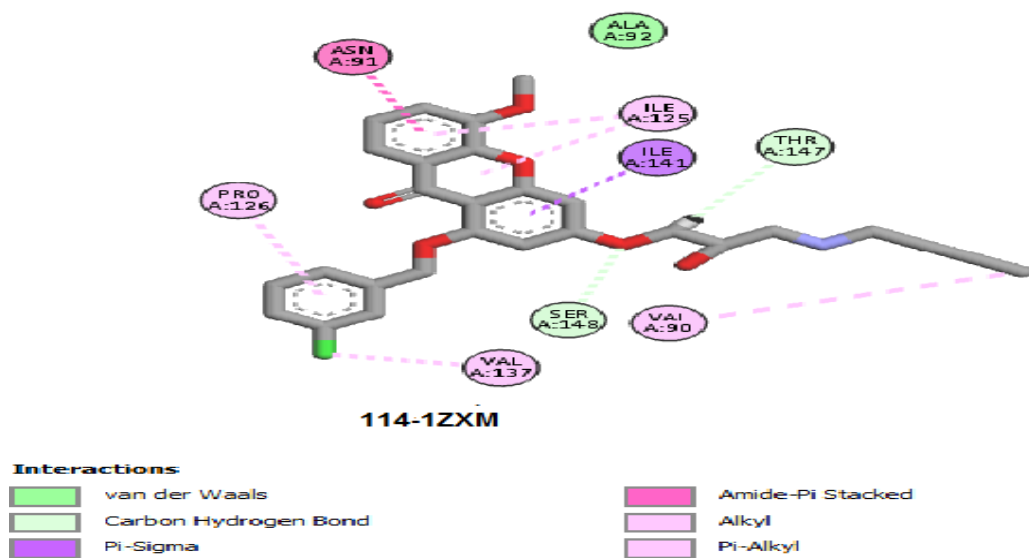


Figure III.17 Interactions entre le ligand 114 et l'enzyme 1ZXM (A/2D, B/3D)





**Tableau III.10** les interactions entre le ligand 114 et les résidus du site actif de 1ZXM

	Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1	A:SER148:HA - :*0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2.58726	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
2	*:0:H - :*0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2.85147	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
3	*:0:H - A:THR147:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2.64397	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
4	*:0:H - :*0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2.8821	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
5	A:ILE141:HD11 - :*0	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: purple;">■</span>	Ligand No...	2.80695	Hydrophobic	Pi-Sigma
6	A:ASN91:C,O;ALA92:N - :...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	5.05363	Hydrophobic	Amide-Pi Stacked
7	*:0:C - A:VAL90	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand No...	4.378	Hydrophobic	Alkyl
8	*:0:CL - A:VAL137	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand No...	4.48261	Hydrophobic	Alkyl
9	*:0 - A:ILE125	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand No...	5.19045	Hydrophobic	Pi-Alkyl
10	*:0 - A:ILE125	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand No...	4.99305	Hydrophobic	Pi-Alkyl
11	*:0 - A:PRO126	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: pink;">■</span>	Ligand No...	4.56419	Hydrophobic	Pi-Alkyl

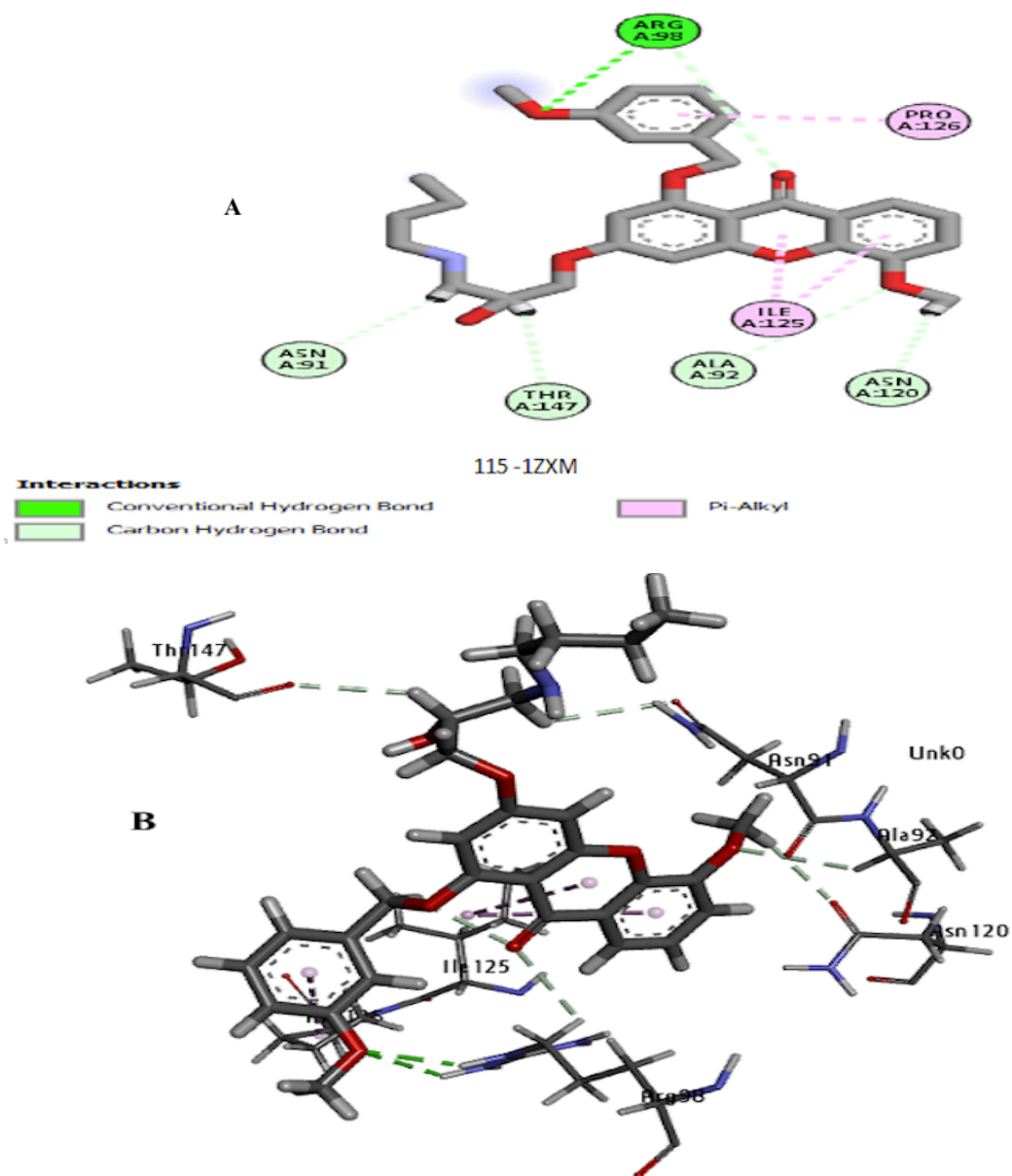
- **L'interaction 115 -1ZXM :**

L'analyse visuelle montre que le ligand 115 a un score -9.48kcal/mol et forme avec l'enzyme 9 liaisons, en sachant que :

- Ce complexe forme six liaisons fortes de type hydrogène, trois liaisons sont liées entre l'atome d'oxygène de composé et les résidus suivants : ARG98 avec deux distances 2,35 Å et 3,09 Å selon la catégorie « conventionnel hydrogène bond » et ALA92 à une distance :2,93 Å selon la catégorie « carbone hydrogène bond ».les autres liaisons hydrogènes sont liées entre l'atome d'hydrogène de ligand et les résidus :ASN120 ,THR147 et ASN91 avec les distances respectivement sité :2,62 Å, 2,66 Å et 3,01 Å .

- D'autre part, ce ligand forme trois liaisons de type hydrophobique, l'une est lié entre le cycles benzène de ligand et le résidu : PRO126 à une distance 4,59 Å et les autres sont liés entre cycle benzène et le cycle hexane et le résidu ILE125 avec deux distances différentes 5,21 Å et 5,37 Å. Pour stabiliser le complexe.





**Figure III.18** Interactions entre le ligand 115 et l'enzyme 1ZXM (A/2D, B/3D)



**Tableau III.11** l'interaction entre le ligand 115 et les résidus de site actif de 1ZXM

	Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1	A:ARG98:HE - : *O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand Non-bond ...	2.35553	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2	A:ARG98:HH22 - : *O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand Non-bond ...	2.69379	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3	A:ALA92:HA - : *O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand Non-bond ...	2.93532	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
4	A:ARG98:HD2 - : *O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand Non-bond ...	3.09991	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
5	: *O:H - : *O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand Non-bond ...	2.73602	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
6	: *O:H - A:ASN120:OD1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand Non-bond ...	2.625	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
7	: *O:H - A:THR147:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand Non-bond ...	2.6675	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8	: *O:H - A:ASN91:OD1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand Non-bond ...	3.01755	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
9	: *O - A:ILE125	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand Non-bond ...	5.21431	Hydrophobic	Pi-Alkyl
10	: *O - A:ILE125	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand Non-bond ...	5.37024	Hydrophobic	Pi-Alkyl
11	: *O - A:PRO126	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand Non-bond ...	4.5947	Hydrophobic	Pi-Alkyl

- **Interaction ligand 117- enzyme :**

Les résultats montrent que ce ligand représente un score de -9.35 kcal/mol. L'analyse visuelle nous montre qu'il y a 12 liaisons sont formées avec les acides aminés de récepteur 1ZXM :

- Cinq liaisons de type hydrogène :

Deux formés entre l'oxygène du ligand et les résidus LYS 168 et ILE141 par une distance de 2.38 et 2.80 Å.

Deux formés entre l'atome H du ligand et les résidus THR147 et ALA 92 par 2.72 et 2.60 Å.

Une de type Pi-donneur entre l'atome C du cycle de benzène et le résidu SER149 par une distance 2.43Å.

- Deux liaisons de type halogène (fluorine) observés entre l'atome du fluoret les acides aminés ASN120 avec 3.47 Å et ASN91 avec 2.92 Å

Les cinq autres liaisons sont de type hydrophobe interviennent également pour stabiliser le complexe :

- Trois liaisons de type pi-alkyl formés entre les deux cycle de benzène et le cycle hexane du ligand et les résidus PRO 126, VAL 137, par les distances respectivement 4.61, 5.43 et le résidu ILE de deux distances 4.81 et 4.49 Å.

- Une liaison de type alkyl entre l'atome C du ligand et le résidu VAL 90 avec distance de 4.31 Å.



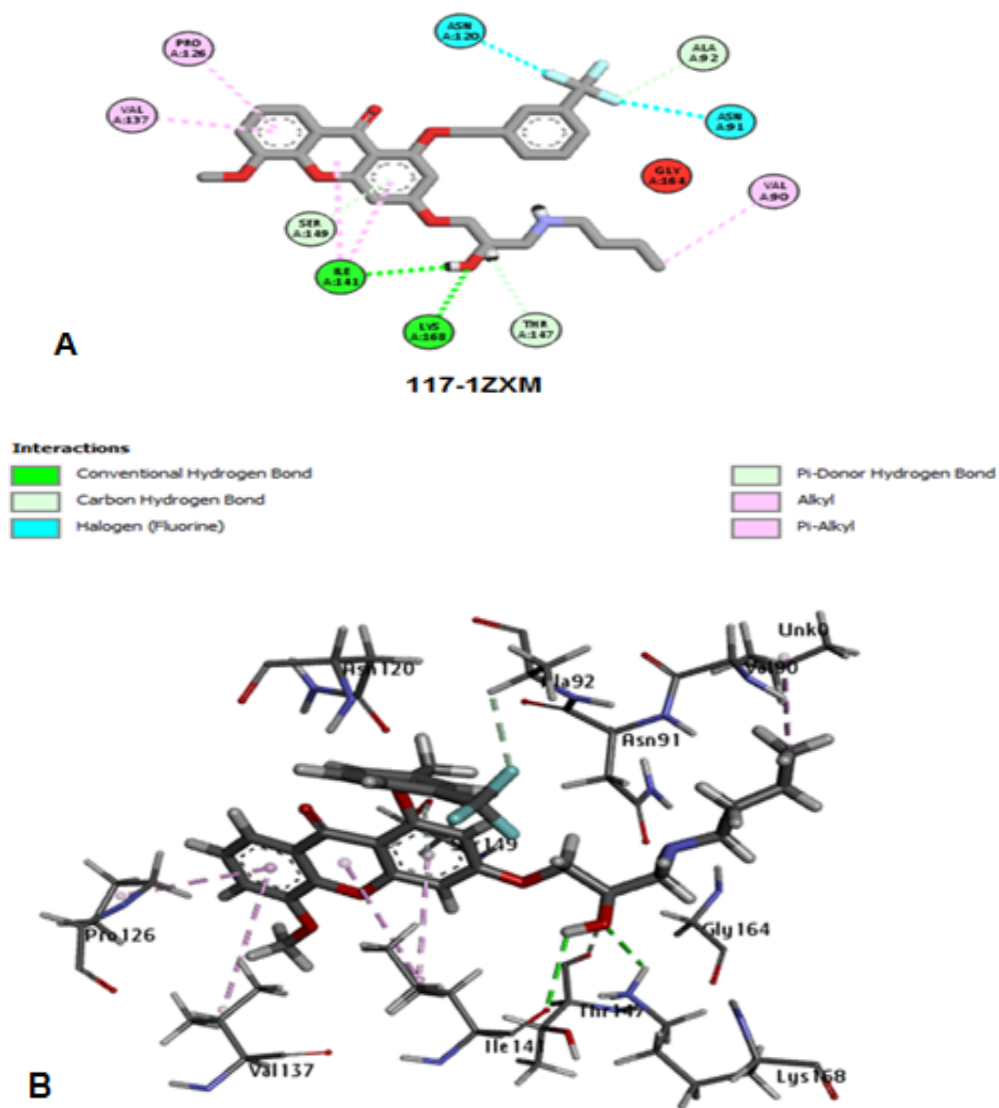


Figure III.19. Interactions entre ligand 117 et l'enzyme 1ZXM (A/2D, B/3D)



**Tableau III.12** Interaction entre ligand 117 et les résidus de l'enzyme 1ZXM

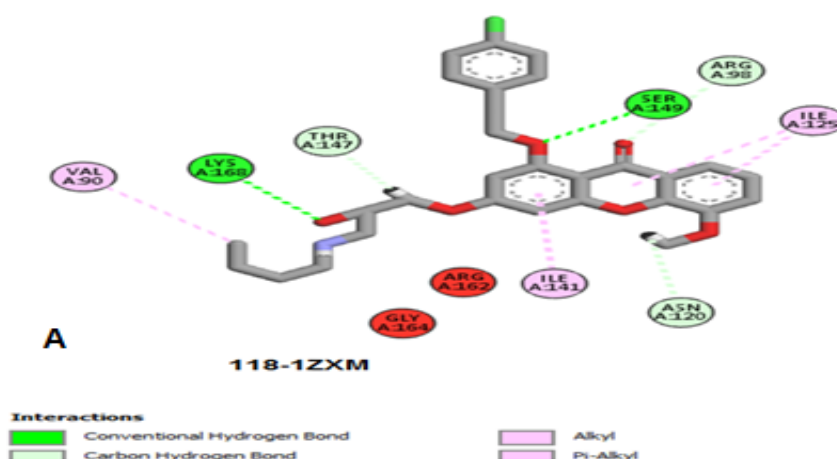
Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:LYS168:H22 - :*:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond ...	2.3809	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2 :*:H - A:ILE141:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond ...	2.80957	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3 A:ALA92:HA - :*:F	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond ...	2.60307	Hydrogen Bond;Halogen	Carbon Hydrogen Bond;Halogen...
4 :*:H - A:THR147:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond ...	2.7247	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
5 A:ASN91:C - :*:F	<input type="checkbox"/> No	Cyan	Ligand Non-bond ...	2.92129	Halogen	Halogen (Fluorine)
6 A:ASN120:OD1 - :*:F	<input type="checkbox"/> No	Cyan	Ligand Non-bond ...	3.47639	Halogen	Halogen (Fluorine)
7 A:SER149:HG - :*:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond ...	2.43266	Hydrogen Bond	Pi-Donor Hydrogen Bond
8 :*:C - A:VAL90	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond ...	4.31858	Hydrophobic	Alkyl
9 :*:O - A:PRO126	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond ...	4.61308	Hydrophobic	Pi-Alkyl
10 :*:O - A:VAL137	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond ...	5.43518	Hydrophobic	Pi-Alkyl
11 :*:O - A:ILE141	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond ...	4.81364	Hydrophobic	Pi-Alkyl
12 :*:O - A:ILE141	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond ...	4.49169	Hydrophobic	Pi-Alkyl

• **Interaction ligand 118 - enzyme :**

Ce ligand représente un score de -9.10 kcal/mol, la figure dessous montre qu'il ya 10 liaisons formées par ce complexe :

• Il existe cinq liaisons hydrogène dont deux sont formés entre l'atome oxygène du ligand et les résidus SER 149 et LYS 168 par distance respectivement de, 2.11 et 2.59 Å et les trois restés entre l'atome H du ligand et les résidus ARG98, ASN 120, et THR 147 avec distance de 2.78, 2.65 et 2.61 Å.

• Les quatre autres liaisons sont de type hydrophobique pour stabiliser le complexe : trois liaisons de type Pi-alkyl formés entre l'hétérocycle et les résidus ILE 125, ILE 141, ILE125 et une entre l'H du ligand et résidu VAL 90



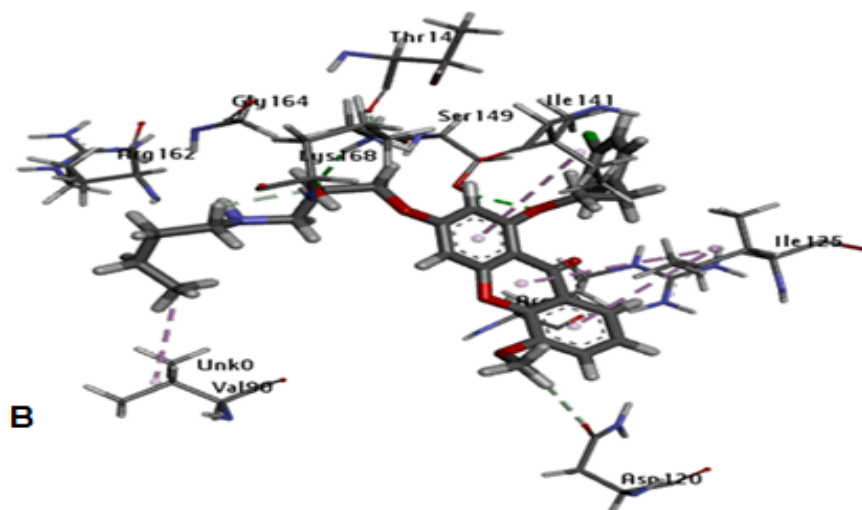


Figure III.20 Interactions entre ligand 118 et l'enzyme 1ZXM (A/2D B/3D)

Tableau III.13 Interactions entre ligand 118 et les résidus de l'enzyme 1ZXM

Name	Color	Parent	Distance	Visible	Category	Types
1 A:SER149:HG - :*:O	Green	Ligand Non-bond ...	2.11153	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2 A:LYS168:H22 - :*:O	Green	Ligand Non-bond ...	2.59078	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3 A:ARG98:HD2 - :*:O	Light Green	Ligand Non-bond ...	2.78112	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
4 :*:H - A:THR147:O	Light Green	Ligand Non-bond ...	2.6589	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
5 :*:H - A:ASN120:OD1	Light Green	Ligand Non-bond ...	2.61591	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
6 :*:H - :*:O	Light Green	Ligand Non-bond ...	2.42484	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
7 :*:C - A:VAL90	Pink	Ligand Non-bond ...	4.45149	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Hydrophobic	Alkyl
8 :*:O - A:ILE125	Pink	Ligand Non-bond ...	5.21433	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Hydrophobic	Pi-Alkyl
9 :*:O - A:ILE125	Pink	Ligand Non-bond ...	5.35186	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Hydrophobic	Pi-Alkyl
10 :*:O - A:ILE141	Pink	Ligand Non-bond ...	5.31904	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Hydrophobic	Pi-Alkyl

• **Interactions ligand 102-enzyme :**

Les résultats de score de ce ligand est -9.03 kcal/mol, l'analyse visuelle nous montre qu'il existe 11 interactions dans ce complexe :

• Cinq liaisons de type hydrogène :

Deux formés entre l'oxygène du ligand et résidus ASN 91 avec distance 2.41 et 2.64Å. Les trois autres formés sont type liaison hydrogène carbone.

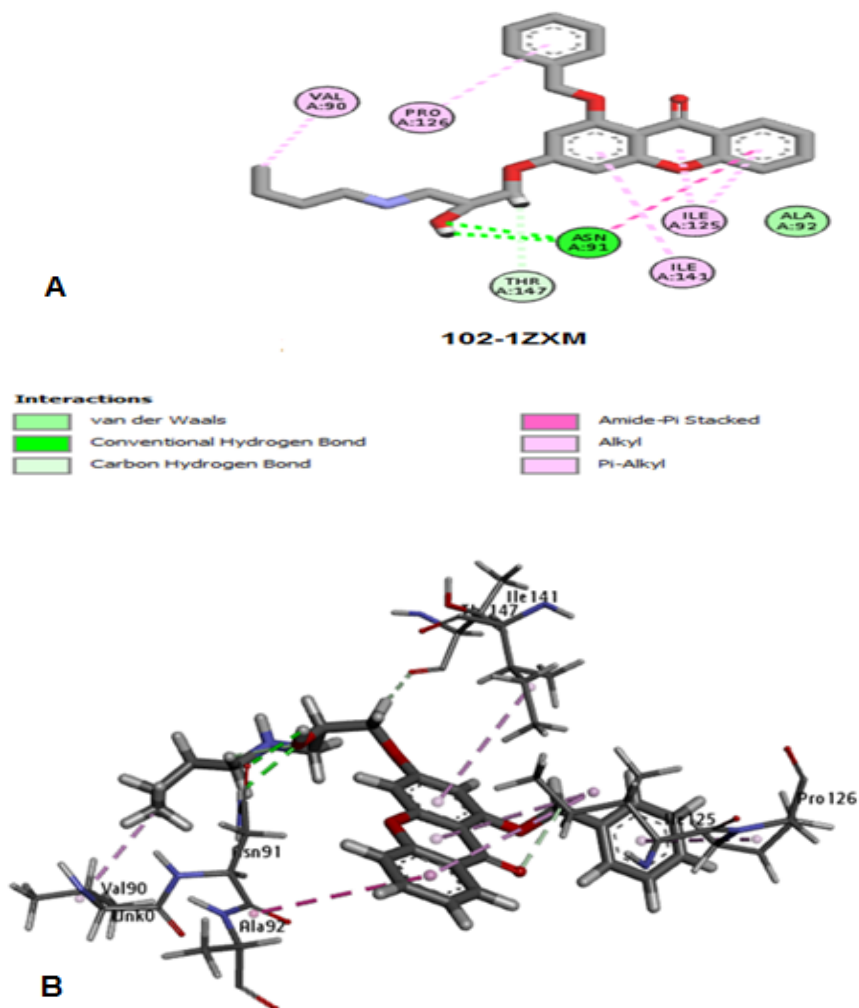
• Les six liaisons restées sont de type hydrophobique pour stabiliser le complexe

Une de type alkyl entre le résidu VAL90 et l'atome H de ligand.

Quatre liaisons de type Pi-alkyl relier l'hétérocycle avec les résidus ILE 125, ILE125, PRO126et ILE 141 séparés par distance respectivement de 5.22, 5.08, 4.55 et 4.9 Å.



Une liaison de type amide formé entre l'hétérocycle et résidu ASN 91 par distance 5.06 Å.



**Figure III.21** Interactions entre ligand 102 et l'enzyme 1ZXM (A/2D B/3D)



**Tableau III.14** Interactions entre ligand 102 et les résidus du site actif de l'enzyme 1ZXM

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:ASN91:HD22 - :*0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand No...	2.41263	Hydrogen Bond	Conventi...
2 :*0:H - A:ASN91:OD1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand No...	2.64485	Hydrogen Bond	Conventi...
3 :*0:H - :*0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand No...	2.82782	Hydrogen Bond	Carbon H...
4 :*0:H - A:THR147:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand No...	2.58415	Hydrogen Bond	Carbon H...
5 :*0:H - :*0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand No...	2.43746	Hydrogen Bond	Carbon H...
6 A:ASN91:C,O;ALA92:N - :*0	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand No...	5.06451	Hydrophobic	Amide-Pi ...
7 :*0:C - A:VAL90	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand No...	4.32158	Hydrophobic	Alkyl
8 :*0 - A:ILE125	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand No...	5.22789	Hydrophobic	Pi-Alkyl
9 :*0 - A:ILE125	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand No...	5.08264	Hydrophobic	Pi-Alkyl
10 :*0 - A:ILE141	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand No...	4.91001	Hydrophobic	Pi-Alkyl
11 :*0 - A:PRO126	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand No...	4.55567	Hydrophobic	Pi-Alkyl

#### 4.1.2. Discussion de Docking moléculaire

Les résultats présentés dans le (tableau III.4) montrent que :

Après la comparaison des valeurs de Score de ANP et Mitoxantrone avec tous les ligands, nous avons choisi que 25 inhibiteurs qui possèdent des faibles énergies (Score < Mitoxantrone < ANP).

Les sept ligands **29,52, 102, 114, 115, 117 et 118** formants des complexes avec le récepteur 1ZXM, possèdent les plus Petites valeurs de Score par rapport à ligand de référence et Mitoxantrone, ceci montre que ces complexes sont les plus stables.

D'autre part, on peut classer ces ligands selon un ordre suivant par rapport au ligand de référence :

**L52 <L114 <L 115 <L117 <L 118 <L 102 <L29 <Mitoxantrone <ANP**

D'après le (tableau III.5) on peut conclure que :

D'après Anne Imbert et al<sup>37</sup>, les interactions ayant des distances comprises entre 2.5 Å et 3.1 Å sont considérées comme fortes et celles comprise entre 3.1 Å et 3.55 Å sont supposées moyennes et quand leurs distances sont supérieures à 3.55 Å elles sont considérées faibles.

Les résultats ont également révélé les acides aminés suivants, SER149, THR147, ILE141, VAL90, ASN120, PRO126, ILE125, LYS168 ; se sont avérés jouer un rôle important dans les conformations les plus favorables, ils se sont également avérés être les principaux résidus interagissant dans le site actif de la cible.





L'analyse visuelle des meilleures poses des ligands **29, 52, 114, 115, 117,118 et 102** montre que ces derniers sont entourés par les résidus du site actif définis précédemment, confirmant ainsi ses orientations vers ce site qui est similaire de celui du ligand de référence.

Les composés **29, 52, 114, 115, 117,118 et 102 (Figure III.15 – Figure III.21)** ont montré une bonne affinité pour le récepteur par rapport ANP et Mitoxantrone. Ces composés sont plus actifs en raison aux groupements plus lipophiles tels que les hétérocycles et groupements hydrophile tels que les atomes hydrogène et oxygènes respectivement.

#### 4.2. Résultats des propriétés moléculaires (DRUG LIKNESS) :

D'après l'étude précédente, nous avons récupéré **25** composés comme meilleurs inhibiteurs par rapport au ligand de référence et Mitoxantrone. Pour une étude plus détaillée nous évaluons des propriétés moléculaires de ces composés sous différentes règles :

##### 4.2.1. Application de la règle de cinq (règle de LIPINSKI)

**Tableau III.15:** présente les résultats de l'évaluation de la règle de LIPINSKI pour les meilleurs inhibiteurs. Ces résultats sont obtenus en utilisant l'outil web Molinspiration.

**Tableau III.15** présente les résultats de l'évaluation de la règle de LIPINSKI pour les meilleurs inhibiteurs sur 1ZXM

Composé N°	N°ON	N°OHNH	Masse(UMA)	Log p	Nombre de violation
<b>29</b>	6	4	466,57	7,85	1
<b>31</b>	6	2	424,49	6,63	1
<b>52</b>	6	2	492,61	8,39	1
<b>53</b>	7	2	508,61	6,89	2
<b>82</b>	6	0	404,42	5,05	1
<b>94</b>	7	0	434,44	5,08	1
<b>100</b>	6	2	413,51	5,25	1
<b>101</b>	6	2	427,54	5,76	1
<b>102</b>	6	2	447,53	5,41	1
<b>103</b>	6	2	481,98	6,06	1
<b>104</b>	7	2	477,56	5,44	1



## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

105	7	2	477,56	5,47	1
106	6	2	515.53	6.2	2
107	6	2	496.00	6.27	1
108	6	2	496.00	6.30	1
109	7	2	415.49	4.20	0
111	7	2	443.54	5.26	1
112	7	2	457.57	5.77	1
113	7	2	477.56	5.42	1
114	7	2	512.00	6.07	2
115	8	2	507.58	5.45	2
116	8	2	507.58	5.47	2
117	7	2	545.55	6.29	2
118	7	2	526.03	6.31	2
ANP	18	9	506,20	-3,73	3
Mitoxantrone	10	8	444,49	0,36	1

*N°ON : Liaisons hydrogène accepteurs, N° OHNH : Liaisons hydrogène donneurs*

Les résultats du **Tableau III.15** montrent que :

🚦 **Les valeurs de log p :** Le coefficient de partage, est une manière de mesurer la tendance d'une molécule à se dissoudre dans les membranes, qui est corrélée à sa tendance à se dissoudre dans un solvant organique.

Les valeurs de **log P** de composé **109** et le médicament sont inférieures à 5 avec une valeur positive pour log P qui indique que ces composés sont trop lipophiles, donc ils ont : une bonne perméabilité à travers la membrane biologique, une meilleure liaison aux protéines plasmatiques, une bonne élimination par le métabolisme, mais une faible solubilité et une mauvaise tolérance gastrique.

Par contre notre ligand de référence a une valeur négative de log p donc il est hydrophile. Il a par conséquent, une mauvaise perméabilité à travers la membrane, par contre, il a une meilleure tolérance gastrique, et meilleure solubilité.



🚦 **Le poids moléculaire :** Les ligands **82, 94, 100, 101, 102, 103, 104, 29, 105, 31, 52, 107, 108, 109, 111, 112, 113** et le médicament ont des valeurs du poids moléculaire inférieur à 500 UMA, donc sont facilement à traverser les membranes cellulaires.

Par contre les composés **53, 106, 114, 115, 116, 117, 118** et ANP ont une masse supérieure à 500 UMA, ce qui les rend difficile à pénétrer la membrane cellulaire.

🚦 **Nombre es liaisons d'hydrogène accepteur et donneur :** Tous les ligands ont un nombre accepteur d'hydrogène inférieur et égal à 10 et un nombre donneur d'hydrogène inférieur à 5 qui conduit à une meilleure perméabilité.

A part le ligand de référence ANP a un nombre accepteur d'hydrogène supérieure à 10 par contre le médicament a un nombre donneur d'hydrogène supérieur à 5, ce conduit à une faible perméabilité à travers une membrane bicouche.

🚦 **Le nombre de violation :** Nous remarquons que le composé 109 a une violation nulle par contre les 16 composés **82, 94, 100, 101, 102, 103, 104, 29, 105, 31, 52, 107, 108, 111, 112, 113** et le médicament ont  $N_v=1$ , Cela est dû qu'ils ont une valeur de  $\log p$  supérieur à 5 à l'exception le médicament a un nombre donneur d'hydrogène supérieur à 5.

Nous pouvons conclure que les composés **82, 94, 100, 101, 102, 103, 104, 29, 105, 31, 52, 107, 108, 109, 111, 112, 113** et le médicament sont en accord avec la règle de cinq de LIPINSKI, ce qui suggère que ces composés théoriquement n'auront pas des problèmes avec la biodisponibilité orale.

### 4.2.2. Application de la Règle de VEBER

Le **Tableau III.16** présente les résultats des propriétés concernant la règle de VEBER en utilisant plateforme Molinspiration.



**Tableau III.16** Résultats de l'application de la Règle VEBER pour les meilleurs inhibiteurs de 1ZXM.

Composé N°	TPSA (Å <sup>2</sup> )	NRB
29	111,12	7
31	89,14	6
52	89,14	9
53	98,37	8
82	70,44	3
94	79,67	1
100	80,93	6
101	80,93	13
102	80,93	11
103	80,93	11
104	90,17	12
105	90,17	12
106	80,93	12
107	80,93	12
108	80,93	12
109	90,17	11
111	90,17	13
112	90,17	14
113	90,17	12
114	90,17	12
115	99,40	13
116	99,40	13
117	90,17	13
118	90,17	13
ANP	281,94	8
Mitoxantrone	163,16	12



D'après les résultats du **Tableau III.16** en remarquant que :

### Pour les NRB :

Les composés **82, 94, 29, 31, 52, 53, 100** et ANP ont des valeurs de liaisons rotatives inférieures à 10 donc une flexibilité réduite pour ces composés ce qui indique que lorsqu'ils se lient à une protéine ne changent que légèrement leur conformation.

Par contre les ligands **101,102,103,104,105,106,107,108,109,111 ,112 ,113 ,114 ,115, 116, 117, 118** et le médicament Mitoxantrone ont un NRB > 10 (une grande flexibilité) donc sera une mauvaise biodisponibilité.

### Pour la surface (TPSA) :

Tous les composés étudiés ont des valeurs inférieures à 140 Å ce qui montre la bonne prédiction de la biodisponibilité orale et le transport à travers les membranes biologiques. Alors que le ligand de référence ainsi que le ligand et le médicament possèdent un TPSA supérieure à 140 donc mauvaise transport à traverser les membranes.

D'après les résultats obtenus lors de l'application des règles VEBER et LIPINSKI nous trouvons que seuls les composés **94, 82, 31,29, 100, 52** et ANP sont respectés les règles précédentes.

### **4.3. Résultats des propriétés ADMET**

L'étude du profil ADMET pour les sept composés est très importante afin de comprendre la capacité de ces composés à produire un effet thérapeutique comme souhaité et pour éviter la survenue d'effets secondaires pouvant entraîner des résultats négatifs. D'un autre côté, l'objectif de prédire l'ADMET nous permet également de déterminer plus facilement le meilleur composé potentiel de tous les composés récupérés.

#### **4.3.1. Absorption**


Dans l'objectif d'évaluer la bonne absorption à partir de plusieurs paramètres sur les meilleurs inhibiteurs, le tableau suivant présenter les résultats obtenus :





Tableau III.16 les résultats de l'absorption.

Composé N°	Solubilité dans l'eau (Log. Mol/L)	Perméabilité Caco2 (Log Papp an 10 <sup>-6</sup> cm/s)	Absorption intestinale (humain Absorbé%)	Perméabilité cutanée (Log.kp)	Glycoprotéine P de la Substrat
82	-5.359	1.024	100	-2.735	Non
94	-5.065	1.053	100	-2.736	Non
29	-3,134	0,137	83,982	-2,735	Oui
31	-4,344	1,206	96,274	-2,735	Oui
52	-4,211	1,222	95,632	-2,735	Oui
100	-5,656	1,104	94,012	-2,735	Oui
ANP	-2,807	-0,841	21,211	-2,735	Oui
Mitoxantrone	-2,915	0,349	31,608	-2,735	Oui

D'après les résultats du tableau III.16 :

 **La solubilité dans l'eau** : est une propriété importante qui influence sur l'absorption<sup>38</sup>. D'après le tableau, les composés **82 , 94 , 31, 52 ,100** sont inférieurs à -4 donc sont considérés comme des molécules modérément solubles. D'autre part, les composés **29, ANP** et les médicaments sont inférieurs à -2 donc ces composés sont solubles.

 **Perméabilité caco2** : Les lignées cellulaires Caco2 ou d'adénocarcinome colorectal épithélial humain sont largement utilisées comme modèles in vitro pour prédire l'absorption d'un médicament administré par voie orale dans la muqueuse intestinale humaine<sup>39</sup>. D'après les résultats : seuls Les composés **82, 94, 31, 52 et 100** ont des valeurs prédites supérieures à 0,90 donc présentent une haute perméabilité au caco2 par rapport à les autres composés, ANP ainsi que le Mitoxantrone .

 **Absorption intestinale** : L'intestin est considéré comme le principal site d'absorption d'un médicament administré par voie orale en raison de sa grande surface<sup>40</sup>. Une molécule avec une absorbance moins que 30% est considéré comme peu absorbé.



On prévoyait que les composés **82, 94, 29, 31, 52, 100** et le médicament seraient fortement absorbés dans les intestins humains, tandis que le ligand de référence « ANP » est mal absorbé.

🚦 **Perméabilité cutanée** : La perméabilité cutanée est importante dans le développement de systèmes d'administration transdermique de médicaments et d'autres formulations de médicaments topiques<sup>41</sup>.

Si le  $\log k_p > -2,5$  donc on va voir une bonne pénétration dans la peau.

D'après les résultats obtenues tous les composés ont une mauvaise pénétration dans la peau.

🚦 **Substrat P-glycoprotéine** : La glycoprotéine p (P-gp) est le membre le plus important des transporteurs de cassettes de liaison à l'ATP<sup>42</sup>. Il a un rôle vital dans la réduction de l'absorption des xénobiotiques, tels que les médicaments, et des toxines en extrudant ces composés et en protégeant les cellules contre la toxicité. C'est aussi la cause de la résistance des cellules cancéreuses aux agents chimio-thérapeutiques<sup>43</sup>.

D'après l'analyse, les composés qui sont considérés comme un substrat de la glycoprotéine p sont : **29, 31, 52, 100**, ANP et le médicament. Alors on peut conclure que la possibilité qu'un composé soit un substrat de la P-gp est importante dans la phase précoce de la découverte de médicaments<sup>44</sup>.

### 4.3.2. Distribution

Pendant le développement du médicament, nous avons étudié les différents paramètres de distribution sur les meilleurs inhibiteurs, les résultats d'évaluation sont présentés dans le tableau suivant :



Tableau III.17 les résultats de distribution

Composé N°	Vds (humain)	Perméabilité BBB	Perméabilité du SNC
82	-0.259	-0.813	-2.371
94	-0,268	-1,031	-3,122
29	-1,007	-1,25	-1,89
31	-0,737	-0,107	-2,019
52	-0,999	-0,061	-1,756
100	0 ,934	-0,565	-2,818
ANP	-0,271	-3,369	-5,801
Mitoxantrone	1,968	-1,73	-3,981

🚦 **Le volume de distribution (Vds) :** Vds est un paramètre pharmacocinétique important nécessaire à la conception d'un schéma posologique de médicament approprié<sup>45</sup>. Il s'agit du volume de plasma ou de sang dans lequel le composé semble être dissous à un état stable ou à l'équilibre <sup>46</sup>.

Le Vds est considéré comme faible s'il est inférieur à -0,15 et élevé s'il est supérieur à 0,45. D'après les résultats les composés **29 ,82, 94, 31, 52** et ANP ont une VDS faible par contre le composé **100** et le médicament est considéré comme élevé. Plus le volume de distribution est élevé, plus un composé est distribué dans les tissus que dans le plasma<sup>39</sup>.

🚦 **Perméabilité BBB :** Prédire la capacité d'un composé à traverser la barrière hémato-encéphalique (BBB) aide à réduire les toxicités ou les effets secondaires des composés du plomb. Il peut également aider à améliorer l'efficacité des médicaments qui exercent une activité pharmacologique dans le cerveau<sup>40</sup>.

Les molécules avec un log BBB supérieur à 0,3 peuvent facilement traverser la barrière, tandis que les composés avec un log BBB inférieur à -1 sont mal distribués dans le cerveau<sup>39</sup>. Les composés **94, 29, ANP** et le médicament sont inférieur à -1 donc sont mal distribués dans le cerveau.

🚦 **Perméabilité de SNC :** est une mesure plus directe que la mesure de la perméabilité BBB puisqu'elle est générée à partir de perfusions cérébrales in situ avec le composé





directement injecté dans l'artère carotide. Cette méthode est exempte d'effets de distribution systémique qui peuvent fausser la perméation cérébrale<sup>47</sup>.

Les composés avec un log PS supérieur à -2 peuvent pénétrer dans le système nerveux central ou le SNC, tandis que ceux avec un log PS inférieur à -3 sont incapables de pénétrer dans le SNC<sup>47</sup>. D'après nos résultats les composés qui sont inférieurs à -3 sont les composés 94, ANP et le médicament, donc ils n'ont pas la capacité de pénétrer dans le SNC, ce qui signifie qu'ils ne peuvent pas exercer une activité pharmacologique ou induire des effets secondaires dans le SNC.

#### 4.3.3. Métabolisme :

Les modèles "Oui" ou "Non" renvoient si la molécule étudiée a une probabilité élevée d'être inhibiteur ou non inhibiteur d'un CYP donné<sup>48</sup>.

**Tableau III.18** les résultats de métabolisme

Composés N°	Inhibiteur du CYP1A2	Inhibiteur du CYP2C19	Inhibiteur du CYP2C9	Inhibiteur du CYP2D6	Inhibiteur du CYP3A4
82	Oui	Oui	Oui	Non	Oui
94	Oui	Oui	Oui	Non	Oui
29	Non	Oui	Non	Non	Non
31	Oui	Oui	Oui	Non	Oui
52	Oui	Oui	Oui	Non	Oui
100	Oui	Non	Non	Oui	Oui
ANP	Non	Non	Non	Non	Non
Mitoxantrone	Oui	Non	Non	Non	Non

**Les isoformes du CYP450 :** Les enzymes du cytochrome P450 (CYP450) sont responsables d'environ 95 % du métabolisme des médicaments<sup>49</sup>. Les isoformes du CYP450 responsables de 90 % du métabolisme des médicaments sont le CYP1A2, le CYP2C9, le CYP2C19, le CYP2D6 et le CYP3A4<sup>50</sup>. Le CYP450 peut considérablement modifier



l'ADMET des composés. Ainsi, il est important d'évaluer si un composé est un substrat ou un inhibiteur de ces enzymes<sup>39</sup>. Les inhibiteurs sont des composés qui se lient ou bloquent le site de liaison du substrat, ce qui modifie la propriété catalytique de l'enzyme<sup>51</sup>.

**Tableau III.18** exprime que Le composé **29** inhibe l'isoenzyme CYP2C19 par contre, il n'est pas considéré comme inhibiteur pour les isoenzymes : CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4. Par contre le médicament inhibe seulement CYP1A2, donc la probabilité de trouver les interactions médicamenteuses est faible et sont facilement métabolisés. On remarque que le composé **52** et **31**, ne sont pas des inhibiteurs pour l'enzyme CYP2D6 et le composé **100** n'est pas un inhibiteur pour CYP2C19 et CYP2C9 seulement mais sont considérés comme des inhibiteurs pour les autres isoenzymes. Par ailleurs, le ligand de référence n'inhibe aucune des isoenzymes, ce qui indique l'absence des problèmes d'interactions médicamenteuses. On prévoyait que les composés **82** et **94** ne sont pas également des inhibiteurs pour CYP2D6 mais ils inhibent la plupart des isoenzymes : CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9 et CYP3A4. Tous ces composés peuvent provoquer des interactions médicamenteuses lorsqu'ils sont pris avec des médicaments ou des pro médicaments qui sont métabolisés par les isoenzymes. L'interaction médicamenteuse peut entraîner une diminution de la clairance du médicament, ce qui peut entraîner une toxicité ou réduire l'effet pharmacologique d'un pro médicament qui doit être métabolisé pour être activé.

#### 4.3.4. Élimination :

L'étape finale du devenir du médicament est son élimination de l'organisme ou excrétion est une très importante dans l'organisme, le tableau suivant représente les résultats des principaux paramètres de cette étape :



Tableau III.19 les résultats d'élimination

Composés	Clearance totale (Log ml/min/kg)	Substrat OCT2 rénal
82	0.416	No
94	0.419	No
29	-0.043	No
31	0.617	No
52	0.248	No
100	0,972	No
ANP	-0.375	No
Mitoxantrone	1.399	No

🚦 **La clairance totale** : est la combinaison des clairances hépatique et rénale et est liée à la biodisponibilité. Il est important de déterminer les taux de dosage pour atteindre des concentrations à l'état d'équilibre.

On prévoyait que les ligands **94, 31, 82 et 100** ainsi que le médicament avaient la clairance totale les plus élevées, 0.419, 0.617, 0.416 et 1.399 respectivement. Cela signifie qu'ils sont plus rapidement éliminés du corps, par contre les autres ligands et ANP sont éliminés plus lentement du corps.

🚦 **Le transporteur rénal de cations organiques 2 (OCT2)** : est important dans l'excrétion rénale des médicaments cationiques. Cela soulève un risque d'interactions médicamenteuses, en particulier dans les composés qui inhibent ce transporteur, ce qui diminue la clairance du substrat OCT2<sup>52</sup>. Les résultats ont montré qu'aucun des composés n'était censé être un substrat rénal de l'OCT2.

#### 4.3.5. Toxicité


L'étude de la toxicité d'une substance est l'ensemble des essais pharmacologiques, qui déterminent le degré ou le caractère nocif de cette dernière afin de réglementer son utilisation. L'action d'une substance toxique est évaluée en fonction de plusieurs paramètres




entre autres son mode d'administration<sup>53</sup>. Le tableau dessous représente les différents paramètres de toxicité étudiés.

**Tableau III.20** les résultats de toxicité

Composé	Toxicité AMES	Toxicité aiguë (LD50) « Mol/kg »	Sensibilisation cutanée
<b>82</b>	Oui	2.271	Non
<b>94</b>	Oui	2.301	Non
<b>29</b>	Non	2.278	Non
<b>31</b>	Oui	1.893	Non
<b>52</b>	Non	2,011	Non
<b>100</b>	Oui	2,207	Non
<b>ANP</b>	Non	2.448	Non
<b>Mitoxantrone</b>	Non	2.295	Non

 **AMES toxicité** :le test AMES est une méthode largement utilisée pour évaluer le potentiel mutagène d'un composé à l'aide de bactéries. Un test positif indique que le composé est mutagène et peut donc agir comme cancérigène<sup>39</sup>.

Il a été prédit que les ligands **82, 94, 31** et **100** étaient mutagènes. Ainsi, ils peuvent agir comme cancérigènes. D'autre part le ligand **52, 29, ANP** et le médicament présentent un test négatif qui indique l'absence du risque mutagène

 **La dose létale médiane ou (LD50)** : est utilisée pour mesurer la toxicité aiguë chez le rat, qui évalue la toxicité relative d'un composé<sup>39</sup>. Plus la LD50 est basse, plus le composé est mortel. Les ligands **82, 94, 29, 52,100** ainsi que ANP et le médicament ont la LD50 prévue la plus élevée (2.271, 2.301, 2, 278, 2,011, 2.448 et 2.295 mol/kg), ce qui signifie qu'elles sont les moins létales parmi les meilleurs composés de liaison.



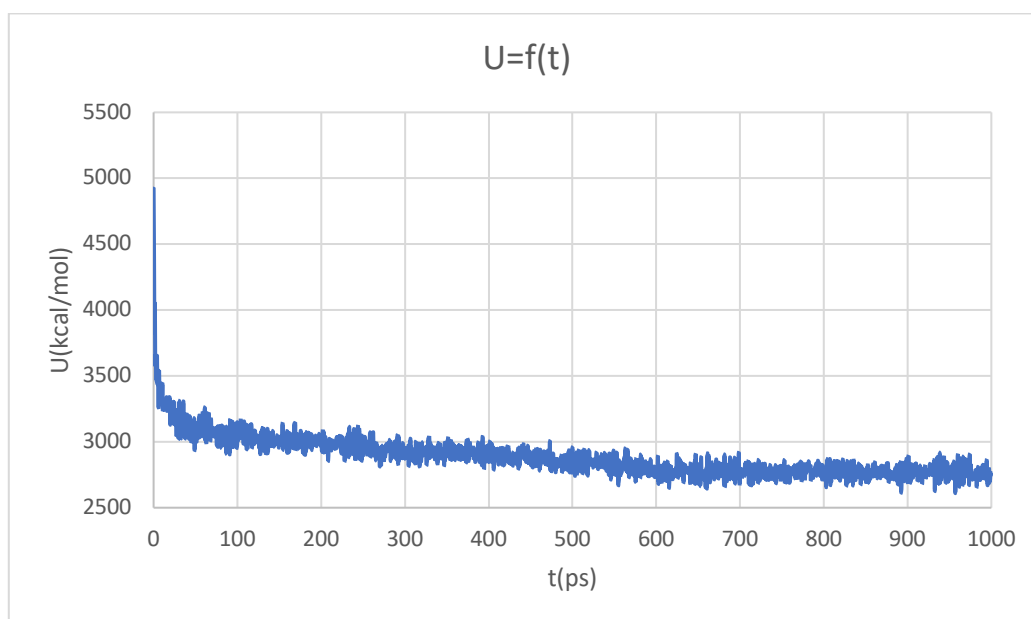
✚ **La sensibilisation cutanée** : entraînant une dermatite de contact allergique, est un autre problème induit par les médicaments qui peut déclencher des problèmes de santé potentiellement mortels<sup>54</sup>. Aucun des meilleurs composés liants ne devait être un allergène cutané.

#### 4.4. Résultats de dynamique moléculaire

Les simulations de dynamique moléculaire sont réalisées sur les deux meilleurs inhibiteurs de l'enzyme 1ZXM, qui sont résulté d'après l'étude de Docking moléculaire et les paramètres ADMET. Pour cela on va utiliser l'énergie potentielle (U) pour notre but d'évaluer et vérifier la stabilité de ces deux complexes.

La **Figure III.22** et La **Figure III.23** dessous montre la variation de l'énergie potentielle des complexes 29-1zxm et 52-1zxm respectivement en fonction du temps pendant 1000 Pico seconde lors de la simulation de la dynamique moléculaire.

##### ✚ Le complexe 29-1ZXM :



**Figure III.22**évaluation de l'énergie potentielle de complexe 29-1ZXM en fonction de temps



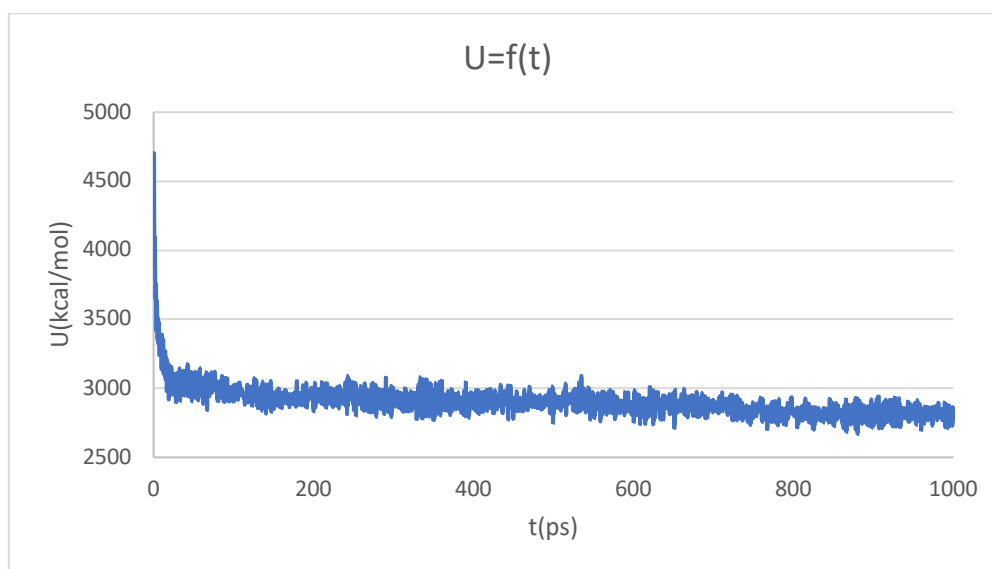
### 🚦 L'interprétation :

**L'intervalle 1 (0-100 Ps) :** ce premier intervalle montre que l'énergie potentielle variant de 4928.54 à 3021.37 kcal/mol entre 0 et 100 Ps. C'est le plus grand changement d'énergie potentielle.

**L'intervalle 2 (100 Ps – 600 Ps) :** on remarque que la variation d'énergie potentielle est moyenne de 3021.37 à 2766.34 kcal/mol.

**L'intervalle 3 (600 Ps – 1000 Ps) :** finalement ce dernier intervalle indiquant que la variation de l'énergie potentielle est assez faible de 2766.34 à 2746.87 kcal/mol.

### 🚦 Le complexe 52-1zxm :



**Figure III.23**évaluation de l'énergie potentielle de complexe 52-1ZXM en fonction de temps

### 🚦 L'interprétation :

**L'intervalle 1 (0-100 PS) :** Dans ce premier intervalle, la courbe du complexe 52-1ZXM a montré qu'un grand changement d'énergie potentielle de 4537,7 à 2981,9 kcal/mol entre 0 et 100 Ps.

**L'intervalle2 (100 Ps – 600 Ps) :** on remarque aussi une légère variation du potentiel d'énergie : 2981,9 à 2899,8 kcal/mol.



**L'intervalle 3 (600 Ps – 1000 Ps) :** nous peut clairement voir que le dernier intervalle indiquant que l'énergie potentielle varié entre 600 Ps et 1000 Ps d'une valeur 2899,8 à 2771,1 kcal/mol.

➦ Après l'interprétation des courbes des complexes 29-1ZXN et 52-1ZXN, on peut conclure que ces derniers conservent une stabilité après 600 Ps.

**Tableau III.21** regroupe les résultats de dynamique moléculaire pour les 2 meilleures poses.

Complexe(Ligands-1ZXN)	Score (Kcal/mol)	Les interactions	Les résidus	Les types	Les distances Å
52-1ZXN	-9,89	LYS123	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond	2,69
		SER149	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond	3,01
		THR215	Hydrogène	Carbone hydrogène bond	2,85
		SER149	Hydrogène	Pi-donneur hydrogène bond	3,09
		ALA92	Hydrophobe	Alkyl	3,90
		ALA167	Hydrophobe	Alkyl	4,36
		ILE88	Hydrophobe	Alkyl	4,63
		ILE217	Hydrophobe	Alkyl	4,19
		PHE142	Hydrophobe	Pi-alkyl	4,85
		ILE125	Hydrophobe	Pi-alkyl	4,78
ILE141	Hydrophobe	Pi-alkyl	5,01		
29-1ZXN	-8,41	THR215	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond	2,16
		THR215	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond	2,53
		ASN120	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond	2,47
		SER148	Hydrogène	Carbone hydrogène bond	2,55
		SER149	Hydrogène	Pi-hydrogène donneur bond	3,17
		ILE141	Hydrophobe	Pi-sigma	2,80
		ALA92	Hydrophobe	Alkyl	4,12
		ALA167	Hydrophobe	Alkyl	4,09
VAL137	Hydrophobe	Alkyl	4,48		

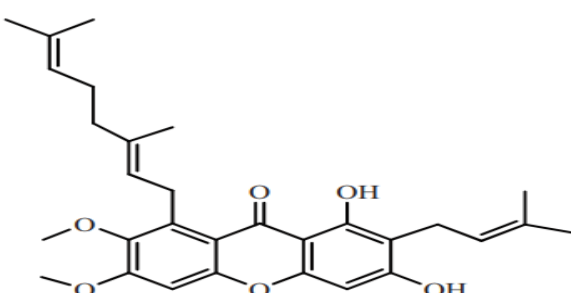
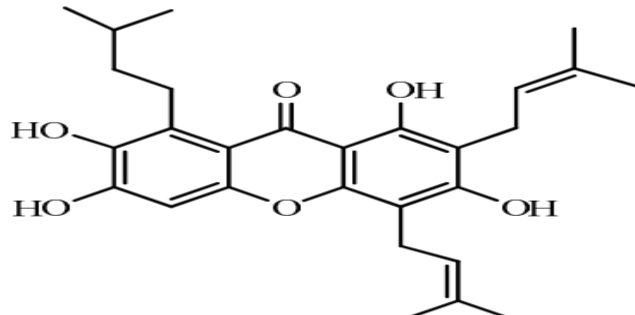


		ILE118	Hydrophobe	Alkyl	5,43
		ILE217	Hydrophobe	Alkyl	4,46
		ILE88	Hydrophobe	Alkyl	4,58
		ILE217	Hydrophobe	Alkyl	4,15
		PHE142	Hydrophobe	Pi-alkyl	5,20
		ILE125	Hydrophobe	Pi-alkyl	4,62

☑ D'après le tableau ci-dessus, nous avons remarqué facilement que selon la dynamique moléculaire, les deux composés conservent presque les mêmes types d'interactions avec les résidus de sites actifs de la cible (1ZXM) comparant avec les résultats de Docking moléculaire.

Le **Tableau III.22** représente la structure chimique et la nomenclature de meilleurs inhibiteurs qui nous avons résulté d'après notre étude.

**Tableau III.22** : structures et nomenclature des meilleurs inhibiteurs.

Ligand	Nomenclature	Structure
52	6-O-méthylcowanin	
29	Costatin	





**Les références**

1. Abdelouahab, C.; Hanane, B. Etude theorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la methionine aminopeptidase de mycobacterium tuberculosis par diverses molecules. 2017.
2. Assia, M. Etude physico-chimique des conducteurs moléculaires à base d'accepteur de TCNQ. 2016.
3. Reynolds CH, Merz KM, Ringe D, eds. Drug Design: Structure- and Ligand-Based Approaches (1 ed.). Cambridge, UK: Cambridge UniversityPress. ISBN:978-0521887236. (2010).
4. Erlanson DA, McDowell RS, O'Brien T ."Fragment-based drug discovery". J. Med. Chem. 47 (14): 3463–82. doi:10.1021/jm040031v. PMID 15214773. (July 2004).
5. Eman K.A. Abdelall, Phoebe F. Lamie, Waleed A.M. Ali Cyclooxygenase-2 and 15-lipoxygenase inhibition, synthesis, anti-inflammatory activity and ulcer liability of newcelecoxib analogues: Determination of region-specific pyrazole ring formation by NOESYBioorganic& Medicinal Chemistry Letters 2016.
6. Matteo Aldeghi, Alexander Heifetz, Michael J. Bodkin, Stefan Knapp, and Philip C. BigginJ. Am. Chem. SocPredictions of ligand selectivity from Absolute binding free energycalculations, Publication Date (Web): Downloaded from <http://pubs.acs.org> onDecember 25, 2016.
7. Sarah T. A. Al-Rashood a, Ghada S. Hassan b, Shahenda M. El-Messery c, Kamal E. H. ElTaher d, Mohamed M. Hefnawy a, Mahmmmed A. Al-Omar a, Hussein I. El-Subbaghb,e,Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of some new thiazolodiazepine analogs as CNS active agents , Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters2015.
8. Khac-Minh T, Duy-PhongLe,Nguyen-Viet-KhoaTran,Thi-Thu-HaNguyen, Thanh-DaoTran,Minh-TriLe,Computational assayofZanamivirbindingaffinitywithoriginalandmutantinfluenza neuraminidase9usingmoleculardocking Journal of Theoretical Biology 385,31–39 , 2015.
9. Somaia S. Abd El-Karim a, Manal M. Anwar a, ↑, Neama A. Mohamed a, Tamer Nasr b,Samia A. Elseginy,c,d Design, synthesis, biological evaluation and molecular dockingstudies of novel benzofuran–pyrazole derivatives as anticancer agents Bioorganic Chemistry63, 1–12 2015.



10. Sheng Liu a, Wanxing Wei a, Yubin Li b, Xu Liu a, Xiaoji Cao c, Kechan Lei a, MinZhou a Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of phenylpropanoid derivatives as potent anti-hepatitis B virus agents *European Journal of Medicinal Chemistry* 95 ,473e482 , 2015.
11. Tamer Nasr a, Samir Bondock b, c, SamehEid d Design, synthesis, antimicrobial evaluation and molecular docking studies of some new thiophene, pyrazole and pyridine derivatives bearing sulfisoxazole moiety *European Journal of Medicinal Chemistry* 84,491e504 2014.
12. Jiansong Fanga, P, Ranyao Y, Li Gaoa, Chao Lia, D, SongWua,c, Ai-Lin Liua,b,c,n, Guan-Hua Dua,b,c,n Inhibition of acetylcholinesterase by twogenistein derivatives: kinetic analysis, molecular docking and molecular dynamicssimulation *Acta Pharmaceutica Sinica B*;4(6):430–437 2014.
13. Sally S. El-Nakkady a, Mona M. Hanna b,\*, Hanaa M. Roaiah a, Iman A.Y. Ghannama Synthesis, molecular docking study and antitumor activity of novel 2-phenylindole derivatives *European Journal of Medicinal Chemistry* 47 387e398 ,2012 .
14. Ismail D ,Nadjib M, Toufik S, Said Ghalem, “Combined QSAR, molecular docking and molecular dynamics study on new Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase inhibitors” *Computational Biology and Chemistry* 74 304–326. 2018.
15. HyperChem v8. Molecular Modelling System, Hypercube Inc., 1115 NW 4th Street, Gainesville, FL 32601, USA (2009) 2018
16. (Boulhissa, I.; Chikhi, A. Conception de nouveaux inhibiteurs de la N-acétylglucosamine-3-oenolpyruvyltransferase par criblage virtuel et applications sur certaines bactéries pathogènes. Thesis, Université Frères Mentouri - Constantine 1, 2021.
17. Molinspiration .<https://www.molinspiration.com/> consulté le 19/05/2022
18. Molecular Operating Environment Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, 2015. (MOE), 2015.10;
19. Berman, H. M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. N.; Weissig, H.; Shindyalov, I. N.; Bourne, P. E., The protein data bank. *Nucleic Acids Research* 2000, 28 (1), 235-242.
20. Fatma D. « Développement d’un nouveau biocapteur enzymatique ultrasensible pour la détection conductimétrique de l’ochratoxine A dans l’huile d’olive. » Ingénierie des aliments. Université de Lyon, 2016. Français.



21. Jonathan B and Michael A Walters. Chemistry : Chemical con artists foil drug discovery. *Nature News*, 513(7519) :481, 2014.
22. Ayyamperumal, « Molecular docking analysis of  $\alpha$ -Topoisomerase II with  $\delta$ -Carboline derivatives as potential anticancer agents ». *Bioinformation* 17(1): 249-65. Selvaraj et al. 2021.
23. Yang, C.; Ma, L.; Wei, Z.; Han, F.; Gao, J. Advances in Isolation and Synthesis of Xanthone Derivatives. *Chinese Herbal Medicines* 4 (2), 87–102. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-6384.2012.02.003>. 2012,
24. Rahmani, N.; Abbasi-R, Z.; Riahi, S.; Mohammadi-Khanaposhtani, M. Predictive QSAR Models for the Anti-Cancer Activity of Topoisomerase II $\alpha$  Catalytic Inhibitors against Breast Cancer Cell Line HCT15: GA-MLR and LS-SVM Modeling. <https://doi.org/10.1007/s11224-020-01543-7>. *Structural Chemistry* 2020, 31.
25. Ajay M. A.; Murcko, J., *J. Med. Chem.*, 1995, 38, 4953-4967.
26. Hong-Xing et Mezei Mihaly et Cui Meng Meng, Xuan-Yu et Zhang. Amarrage moléculaire : une approche puissante pour la découverte de médicaments basée sur la structure. *Conception actuelle de médicaments assistée par ordinateur*, 7 :146–157.
27. Moroy, G., JP Alix, A., Sapi, J., Hornebeck, W., & Bourguet, E. (2012). Neutrophil elastase as a target in lung cancer. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 12(6), 565-579.
28. Pelkonen, T., Roine, I., Cruzeiro, M. L., Pitkäranta, A., Kataja, M., & Peltola, H. (2011). Slow initial  $\beta$ -lactam infusion and oral paracetamol to treat childhood bacterial meningitis: a randomised, controlled trial. *The Lancet infectious diseases*, 11(8), 613-621.
29. Hollingsworth, Scott A., and Ron O. Dror. "Molecular dynamics simulation for all." *Neuron* 99.6 (2018): 1129-1143
30. Aier, Imlimaong, Pritish Kumar Varadwaj, and Utkarsh Raj. "Structural insights into conformational stability of both wild-type and mutant EZH2 receptor." *Scientific reports* 6.1 (2016): 1-10.
31. Michael S Lajiness, Michal Viet, and Jon Erickson. Molecular properties that influence
32. <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/>

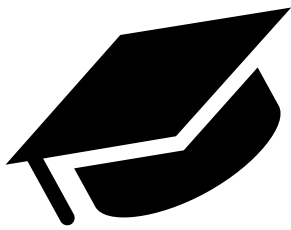


- 33.** Bhakat, S.; Åberg, E.; Söderhjelm, P. Prediction of Binding Poses to FXR Using Multi-Targeted Docking Combined with Molecular Dynamics and Enhanced Sampling. *J Comput Aided Mol Des* **2018**, *32* (1), 59–73. <https://doi.org/10.1007/s10822-017-0074-x>.
- 34.** Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de Cellules cancéreuses. Mémoire de magistère en Biochimie. Université Mentouri Constantine I. Algérie. 100p. Teniou S. 2012.
- 35.** Kelly L., Damm., Heather Carlson Gaussian-Weighted RMSD Superposition of Proteins: A Structural Comparison for Flexible Proteins and Predicted Protein Structures. *Biophysical Journal*. *90* :4558-4573 .A. 2006.
- 36.** A.Imberty, K. D. Hardman, J.P. Carver, S. Perez:” Molecular of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavaline A”, *G L Y C O B I O L O G Y* , *1*, 631–642. 1991.
- 37.** OTTAVIANI G, GOSLING DJ, PATISSIER C, RODDE S, ZHOU L, FALLER B. 2010. What is modulating solubility in simulated intestinal fluids? *European Journal of Pharmaceutical Sciences* *41*(3–4): 452–457 (Ottaviani et al. 2010 ;).
- 38.** PIRES DE, BLUNDELL T L, ASCHER DB. 2015. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of Medicinal Chemistry* *58*(9): 4066–4072 (Pires et al. 2015).
- 39.** ARTURSSON P, NEUHOFF S, MATSSON P, TAVELIN S. 2007. Passive permeability and active transport models for the prediction of oral absorption. In: *Comprehensive Medicinal Chemistry II*, Vol. 5. Taylor JB, Triggler DJ eds. Amsterdam: Elsevier. p. 259–278 (Artursson et al. 2007 ).
- 40.** SUPE S, TAKUDAGE P. 2021. Methods for evaluating penetration of drug into the skin: a review. *Skin Research and Technology* *27*(3): 299–308 (Supe et Takudage 2021).
- 41.** DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep* *7*: 42717. (Daina et al. 2017)
- 42.** WOLF KK, PAINE MF. 2018. Metabolic barrier of the gastrointestinal tract. In: *Comprehensive Toxicology Third Edition*, Vol. 3. McQueen CA ed. Amsterdam: Elsevier. p. 74–98. (Wolf et Paine 2018).
- 43.** MONTANARI F, ECKER GF. 2015. Prediction of drug ABC-transporter interaction—recent advances and future challenges. *Advanced Drug Delivery Reviews* *86*: 17–26. (Montanari et Ecker 2015).
- 44.** ZHIVKOVA ZD, MANDOVA T, DOYTCHINOVA I. 2015. Quantitative structure – pharmacokinetics relationships analysis of basic drugs: volume of distribution. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* *18*(3): 515–527 (Zhivkova et al. 2015).



- 45.** FREITAS AA, LIMBU K, GHAFOURIAN T. 2015. Predicting volume of distribution with decision treebased regression methods using predicted tissue: plasma partition coefficients. *J Cheminform* 7(6): 1–17 (Freitas et al. 2015).
- 46.** SUENDERHAUF C, HAMMANN F, HUWYLER J. 2012. Computational prediction of blood-brain barrier permeability using decision tree induction. *Molecules* 17(9): 10429–10445. (Suenderhauf et al. 2012).
- 47.** Fidelis ToloyiNdombera, Geoffrey KK Maiyoh, and Vivian C Tuei. Pharmacokinetic, physicochemical and medicinal properties of n-glycoside anti-cancer
- 48.** XU L, DAS B, PRAKASH C. 2012. CYP450 enzymes in drug discovery and development: an overview. In: *Encyclopedia of Drug Metabolism and Interactions*, First Edition. Lyubimov AV ed. New Jersey: Wiley. p. 1–35 (Xu et al. 2012).
- 49.** CHENG F, YU Y, ZHOU Y, SHEN Z, XIAO W, LIU G, LI W, LEE PW, TANG Y. 2011. Insights into molecular basis of cytochrome P450 inhibitory promiscuity of compounds. *Journal of Chemical Information and Modeling* 51(10): 2482–2495 Cheng et al. 2011).
- 50.** GOMES AR, ROCHA-SANTOS TAP. 2019. Bioassay: Enzyme Assay. In *Encyclopedia of Analytical Science* Third Edition. Worsfold P, Poole C, Townshend A, Miró M eds. Amsterdam: Elsevier. p. 271–277 (Gomes et Rocha-Santos 2019).
- 51.** HACKER K, MAAS R, KORNHUBER J, FROMM MF, ZOLK O. 2015. Substrate-dependent inhibition of the human organic cation transporter OCT2: a comparison of metformin with experimental substrates. *PLoS One* 10(9): e0136451 (Hacker et al. 2015).
- 52.** MULLINER D, SCHMIDT F, STOLTE M, SPIRKL HP, CZICH A, AMBERG A. 2016. Computational models for human and animal hepatotoxicity with a global application scope. *Chemical Research in Toxicology* 29(5): 757–767. (Mulliner et al. 2016)
- 53.** CHONG LH, LI H, WETZEL I, CHO H, TOH Y. 2018. A liver-immune coculture array for predicting systemic drug-induced skin sensitization. *Lab on a Chip* 18(21): 3239–3250 (Chong et al. 2018).





# **CONCLUSION**

# **GENERALE**

Grâce aux avancées technologiques dans les méthodes de criblage virtuel et aux découvertes continues de nouveaux agents thérapeutiques ciblant des mécanismes cellulaires divers et variés, Notre travail de recherche avait pour but essentiel d'acquérir des compétences en simulation informatique, en particulier la modélisation moléculaire pour contribuer au développement *in silico* de nouveaux inhibiteurs potentiellement actifs et efficaces de dérivés de XANTHONE ciblant l'enzyme TopoisoméraseII $\alpha$  « **1ZXM** » jouant un rôle prometteur dans le traitement de la maladie du cancer .

L'objectif majeur de notre recherche se résume sur la combinaison de deux méthodes de modélisation le Docking moléculaire et le dynamique moléculaire suivis par les paramètres de ADMET afin d'étudier et d'optimiser des nouveaux inhibiteurs ; qui ont été proposés comme des nouveaux anticancéreux possibles ciblant l'enzyme TopoisoméraseII $\alpha$  .

- Nous avons commencé notre travail par un aperçu général sur le fonctionnement de la cible thérapeutique TopoisoméraseII $\alpha$  sur l'information génétique et Leurs inhibiteurs qui jouent le rôle de médicaments qui agissent sur cette enzyme et qui vont donner une réponse cellulaire thérapeutique dans le cadre du traitement de cancer.

- Dans le deuxième chapitre, nous avons parlé sur les principes de base de la méthode Docking moléculaire ainsi que les divers concepts de filtrage tels que DRUG-LIKENESS, ADMET et dynamique moléculaire qui nous aident à approfondir l'étude de notre série de composés proposés dans cette étude

L'essentielle de cette recherche est présenté dans le **chapitre III** :

**Partie 1** : nous avons présenté les matériels utilisés ainsi que les méthodes qui nous ont permis d'exploiter nos données.

**Partie 2** : on a utilisé le Docking Moléculaire par logiciel « MOE » implémenté sur **121** ligands, pour prédire l'affinité de ces inhibiteurs pendant la formation des complexes enzyme-ligand grâce à différentes liaisons, les résultats obtenus nous permettent de déterminer les meilleurs complexes d'écuries formés, qui sont concentrés sur deux facteurs :

- **L'énergie score formée par le complexe enzyme – ligands** : nous avons comparé les valeurs de score obtenues de notre complexe par la valeur du ligand de référence ANP (-7,17 Kcal/mol) et la valeur du score du médicament Mitaxantrone (-8,31 Kcal/mol) pour choisir les ligands ayant des scores les plus faibles donc des affinités plus élevées



- **Les interactions moléculaires** : existantes entre l'enzyme 1ZXM et les meilleurs composés.

Une étude d'amarrage moléculaire a révélé **25** inhibiteurs, les sept inhibiteurs **29, 52, 102, 114, 115, 117** et **118** forment des complexes avec le récepteur 1ZXM qui ont les valeurs d'énergies de scores les plus bas par rapport à ANP et le médicament Mitaxantrone, on peut les classer : **52 < 114 < 115 < 117 < 118 < 102 < 29 < Mitaxantrone < ANP**, ou ils présentent des fortes liaisons avec les résidus de site actif d'enzyme 1ZXM de type hydrogènes et hydrophobiques qui conservent la stabilité des complexes. D'après les résultats on peut conclure que ces sept composés sont considérés comme des meilleurs inhibiteurs pour la cible 1ZXM.

Ensuite, nous avons appliqué une autre étude en évaluant d'autre concept de filtrage, les propriétés de DRUG-LIKENESS sur 25 composés, cela est réalisé selon la règle de LIPINSKI et la règle de VEBER. D'après les résultats de LIPINSKI, on résulte que les ligands **82, 94, 100, 101, 102, 103, 104, 29, 105, 31, 52, 107, 108, 109, 111, 112** et **113** sont respectés cette règle donc n'auront pas des problèmes avec la biodisponibilité orale . Ainsi que les résultats de la règle de VEBER montrent que seuls les composés **94, 82, 31, 29, 53, 100** et **52** sont respectées cette règle.

Pour approfondir nos recherches, nous avons évalué les propriétés médicamenteuses de ces six composés **82, 94, 29, 31, 52** et **100** selon l'application des propriétés ADMET, les résultats montrent que les deux composés **29** et **52** avaient des bonnes propriétés ADMET, où ils présentent :

- Une bonne absorption intestinale.
- L'absence du risque mutagène.
- Le composé **29** est facilement métabolisé par les isoenzymes CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6 et CYP3A4 et pour le composé **52** est métabolisé par CYP2D6, donc on n'aura pas des problèmes pour l'élimination de ces composés du corps.

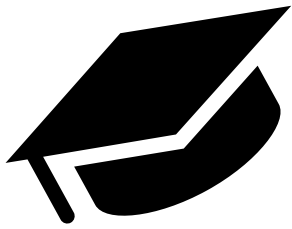
En dernière étape pour valider les résultats obtenus par Docking, nous avons appliqué une autre méthode de modélisation moléculaire : la dynamique moléculaire, réalisés sur les complexes (52 - 1ZXM) et (29 - 1ZXM), les résultats confirment que ces deux ligands ont les mêmes types des interactions avec notre cible étudiée cela confirme la stabilité de ces deux complexes.





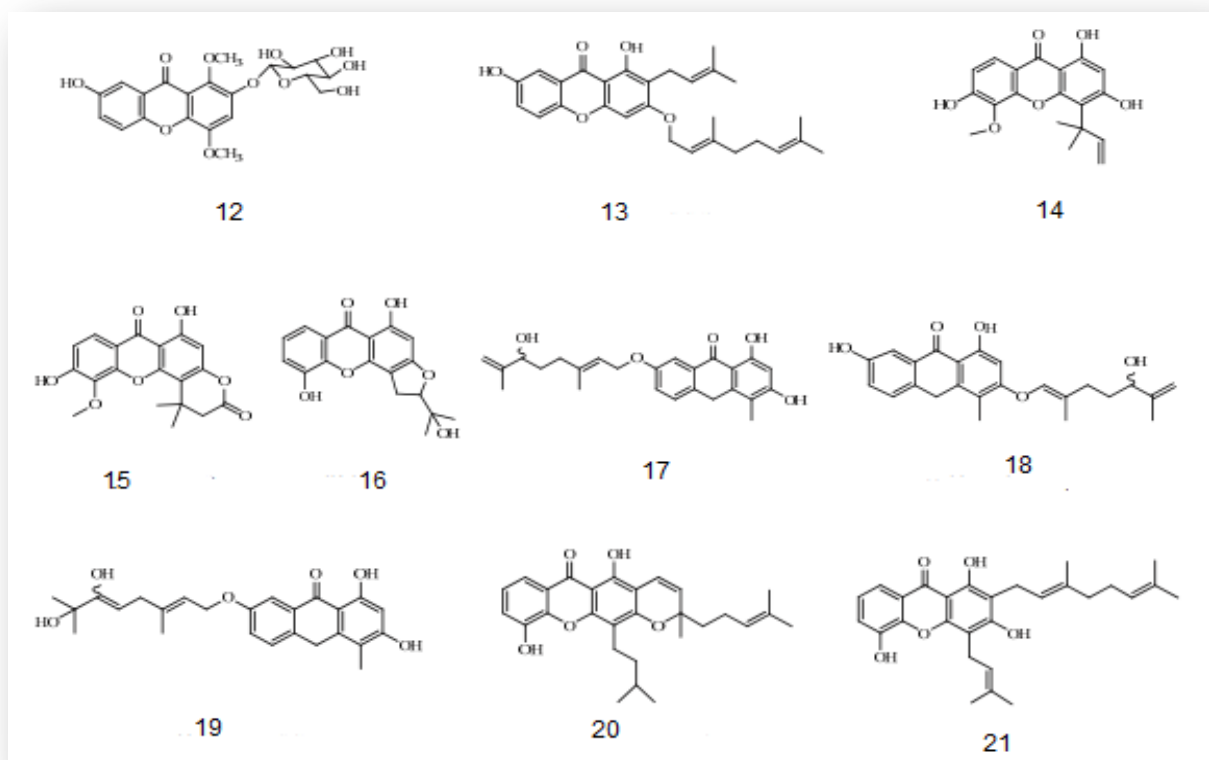
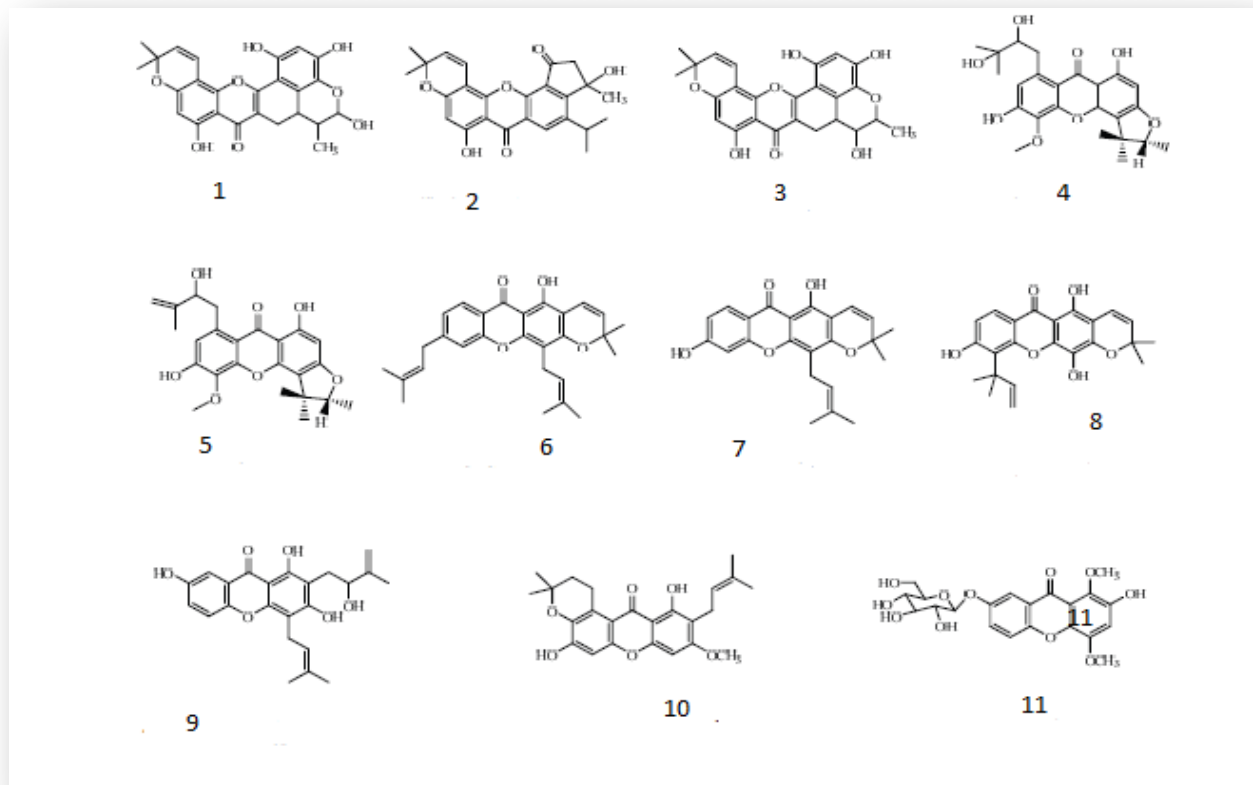
Nous pouvons conclure que les deux composés **29** et **52** (**Tableau III.22**) sont considérés comme des puissants inhibiteurs de la Topoisomérase II $\alpha$  avec des caractéristiques structurales qui peuvent être un bon point de départ pour le développement d'agents thérapeutiques pour le traitement anticancéreux. Notre travail montre aussi que la combinaison entre plusieurs méthodes de modélisation moléculaire peut être utile dans l'intérêt de découvrir et d'identifier des nouveaux médicaments efficaces.

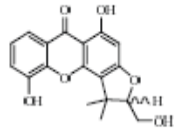




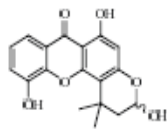
# Annexes

## Structure des dérivés des Xanthones :

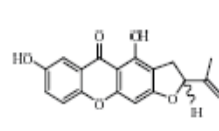




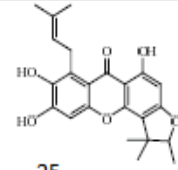
22



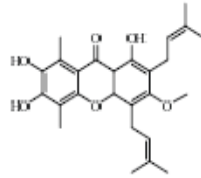
23



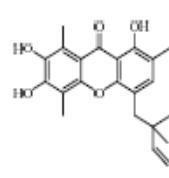
24



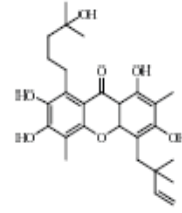
25



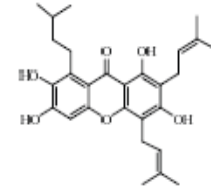
26



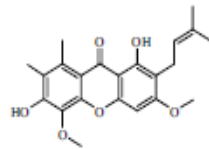
27



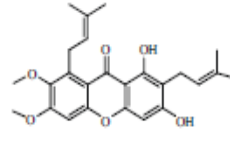
28



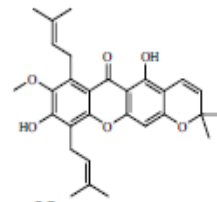
29



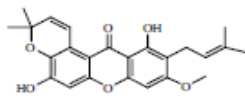
30



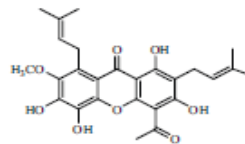
31



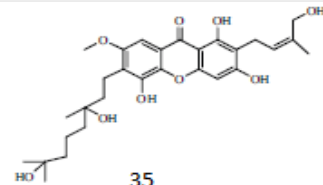
32



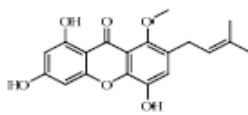
33



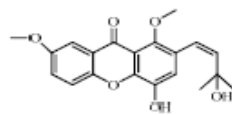
34



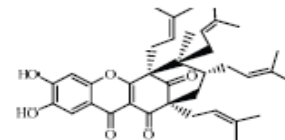
35



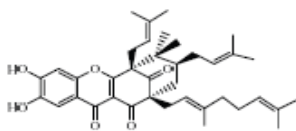
36



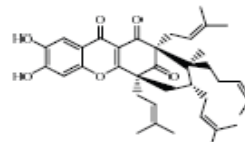
37



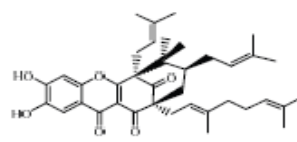
38



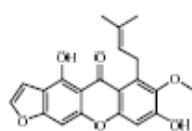
39



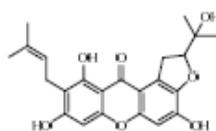
40



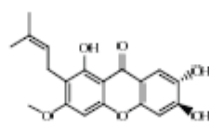
41



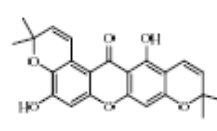
42



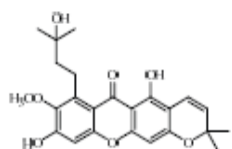
43



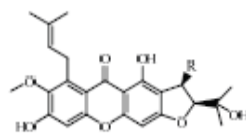
44



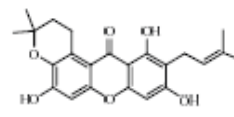
45



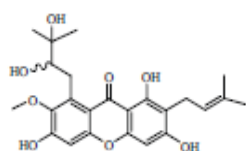
46



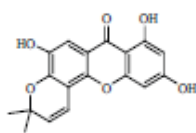
47



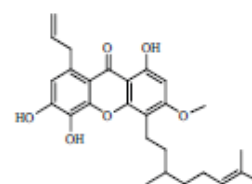
48



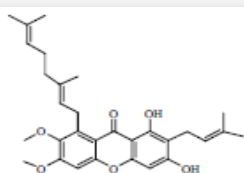
49



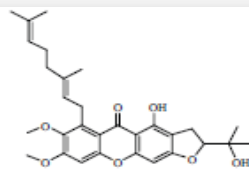
50



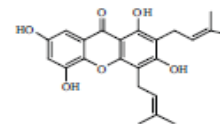
51



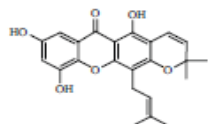
52



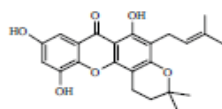
53



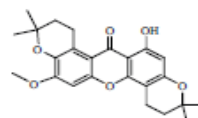
54



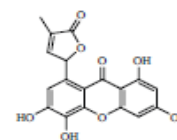
55



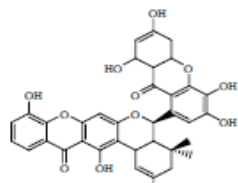
56



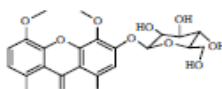
57



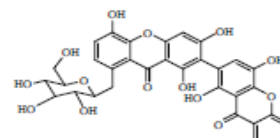
58



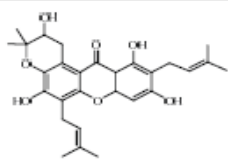
59



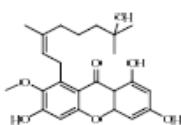
60



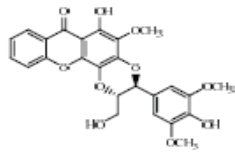
61



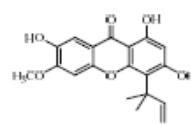
62



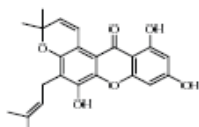
63



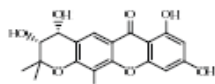
64



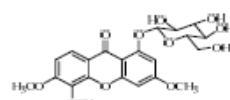
65



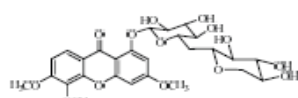
66



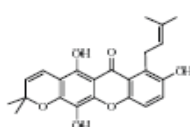
67



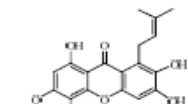
68



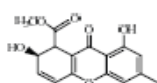
69



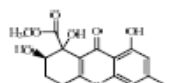
70



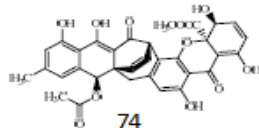
71



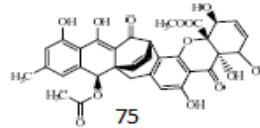
72



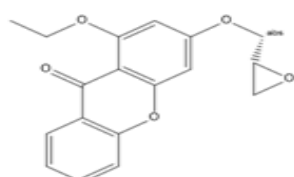
73



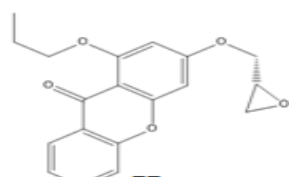
74



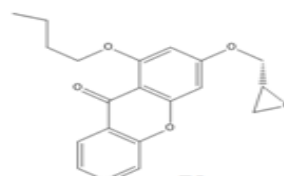
75



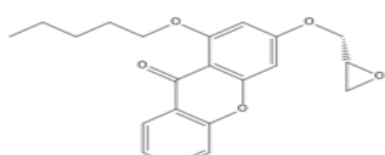
76



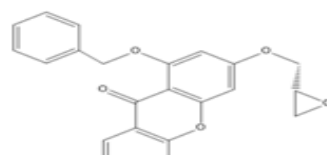
77



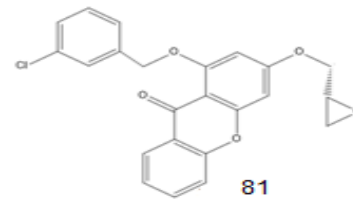
78



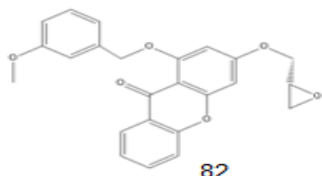
79



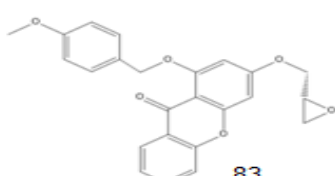
80



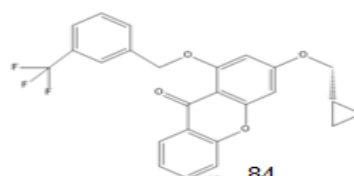
81



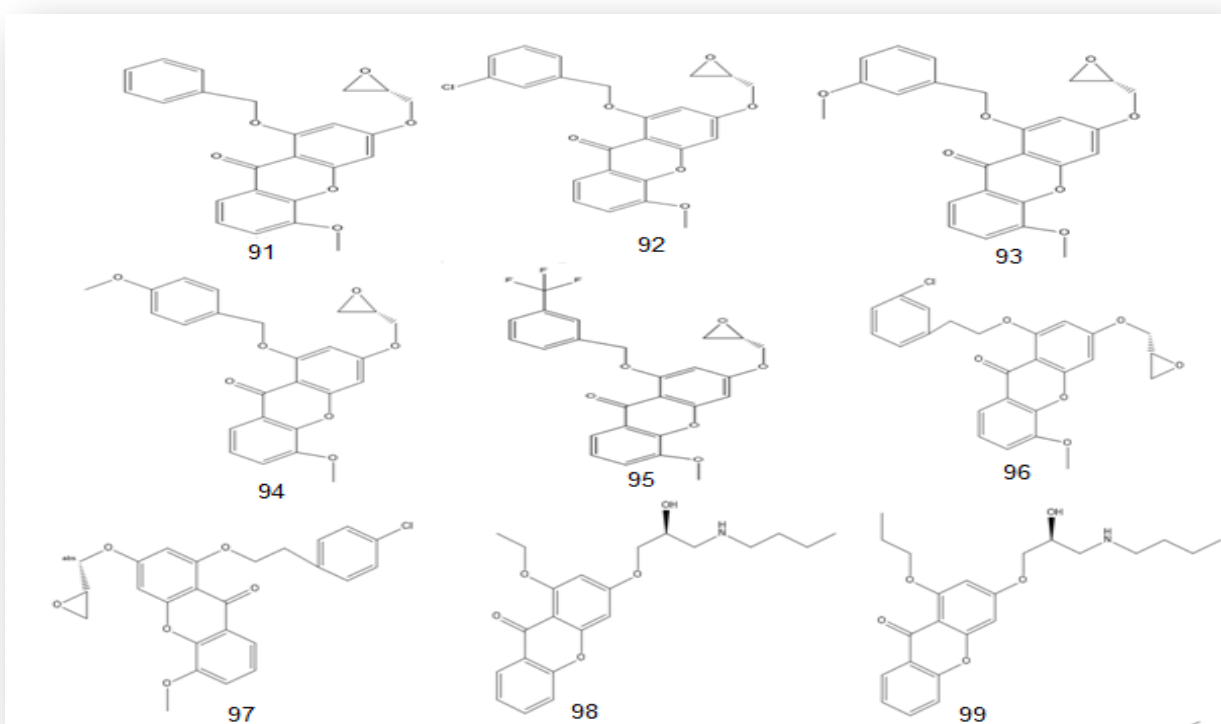
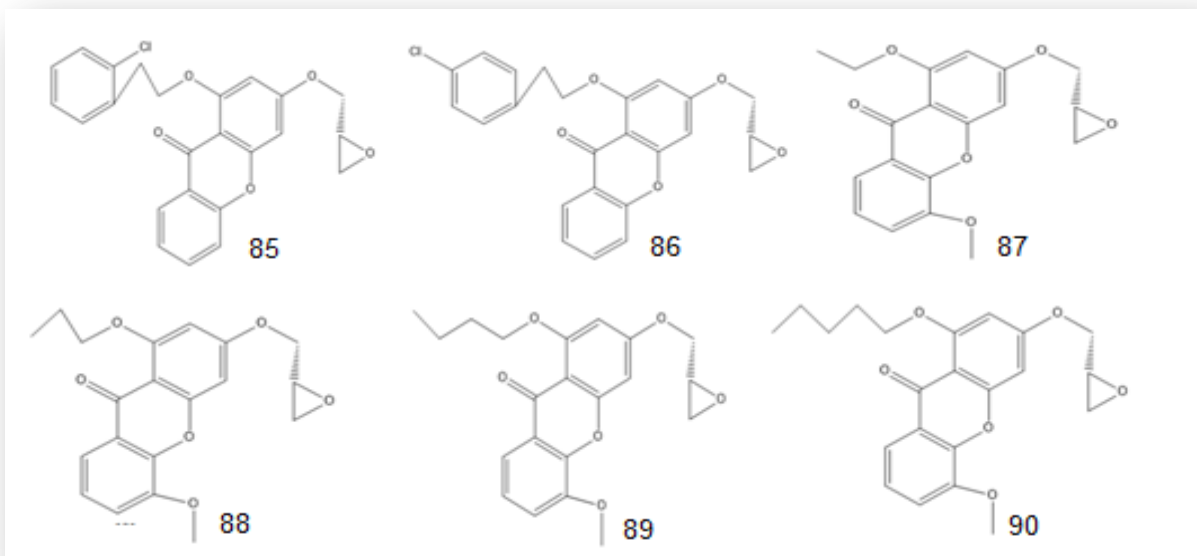
82

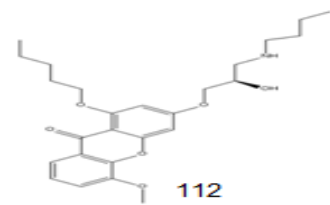
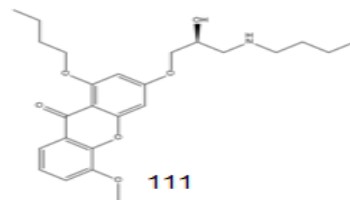
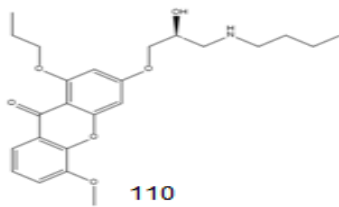
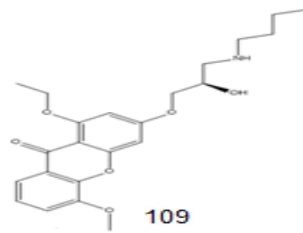
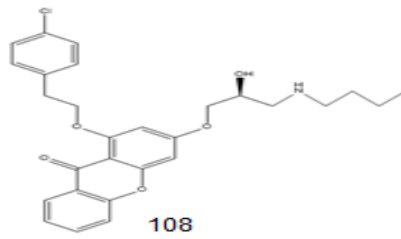
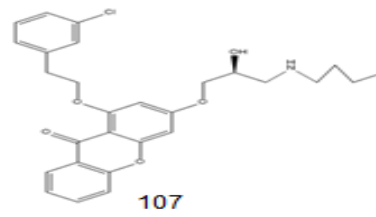
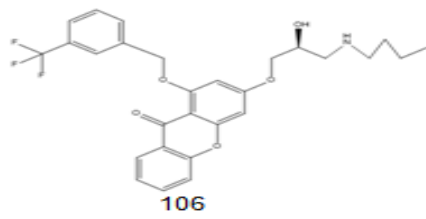
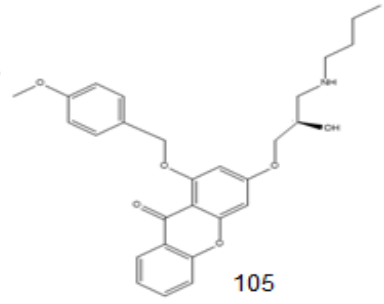
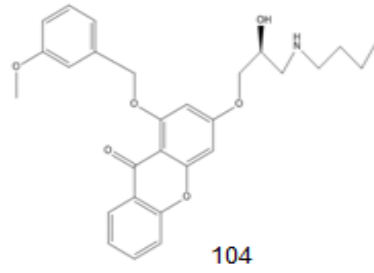
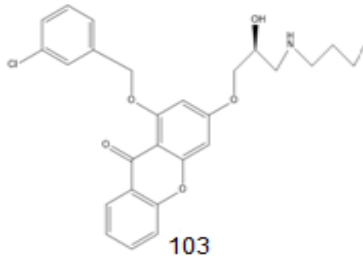
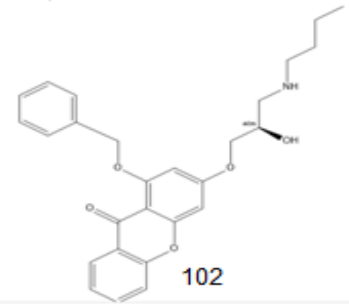
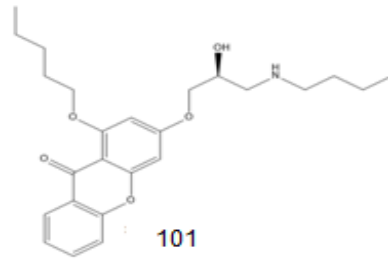
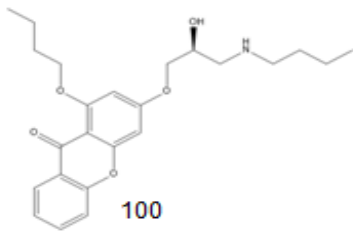


83

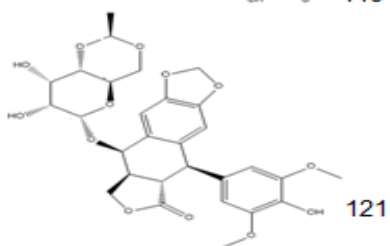
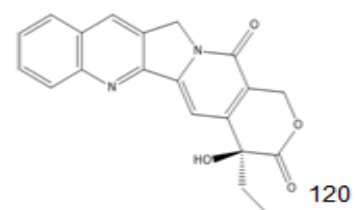
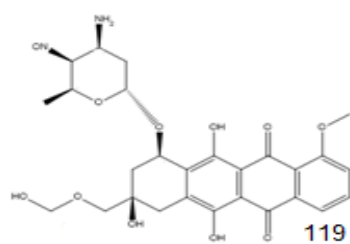
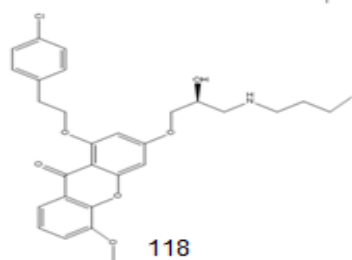
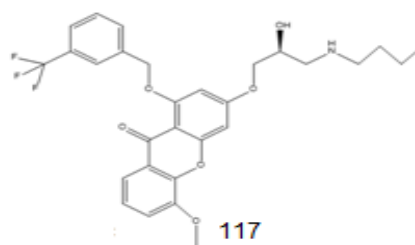
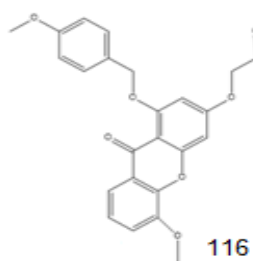
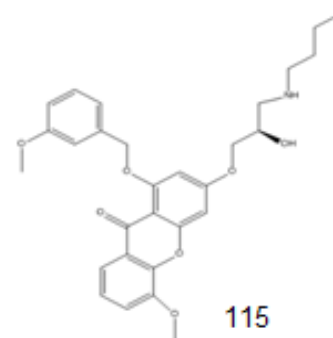
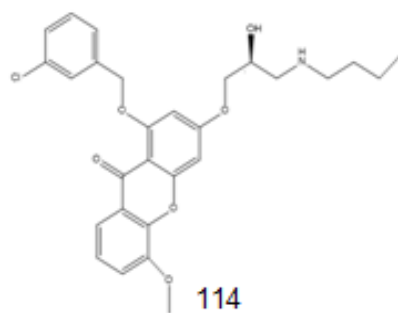
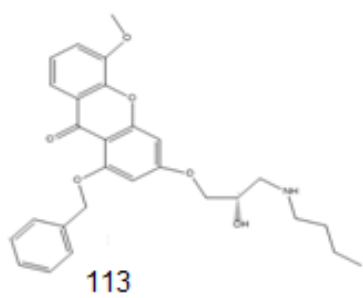


84

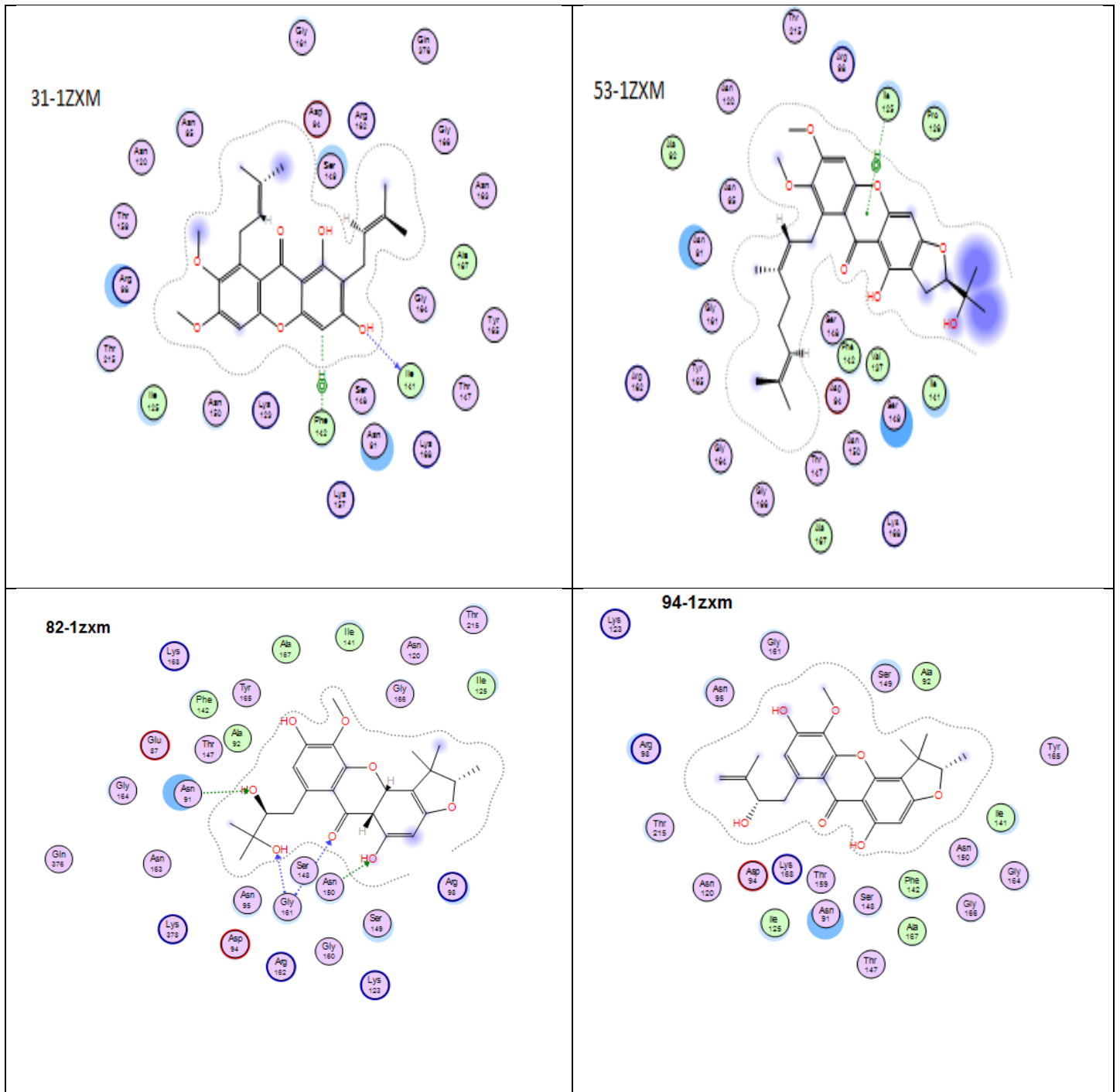




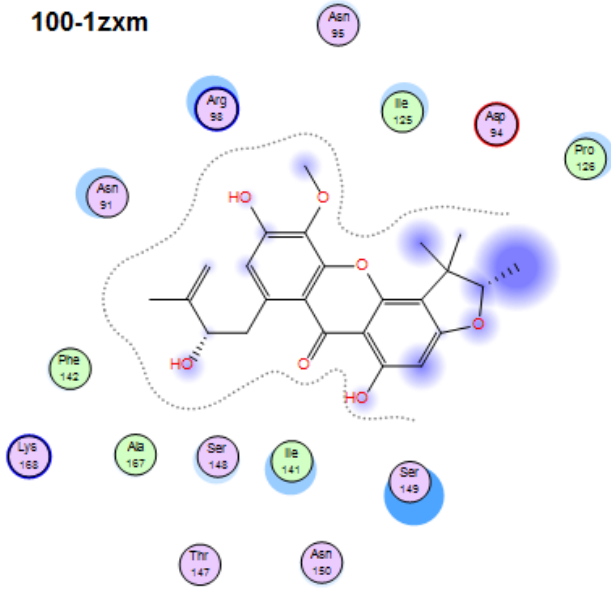




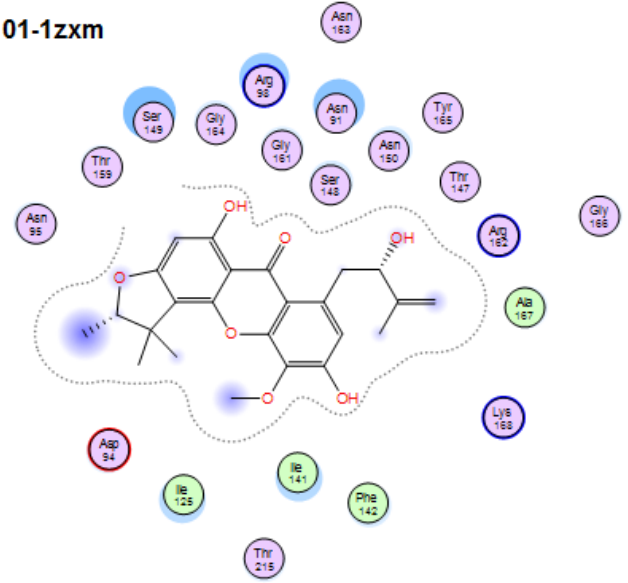
## Les interactions entre les ligands et les résidus de site actif de l'enzyme 1ZXM :



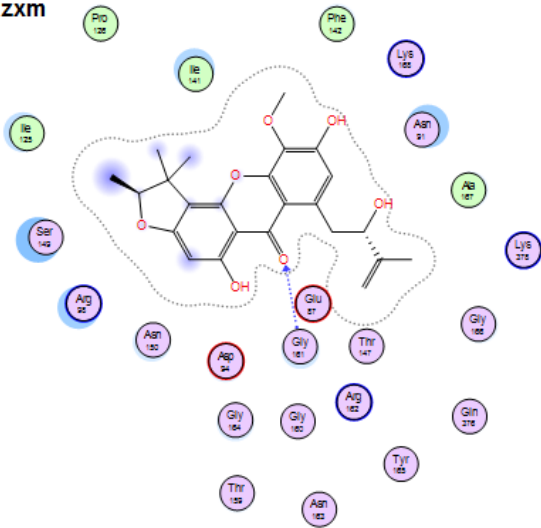
100-1zxm



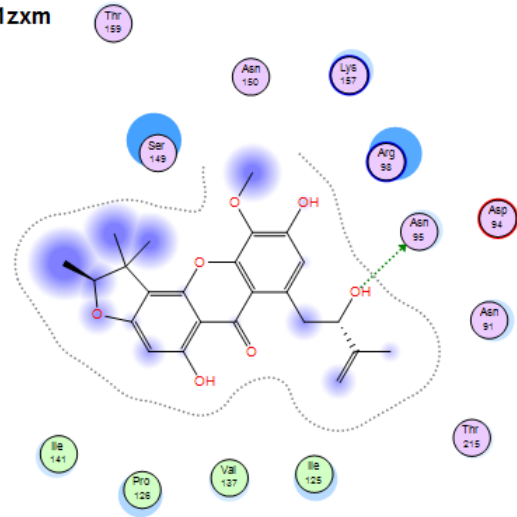
101-1zxm



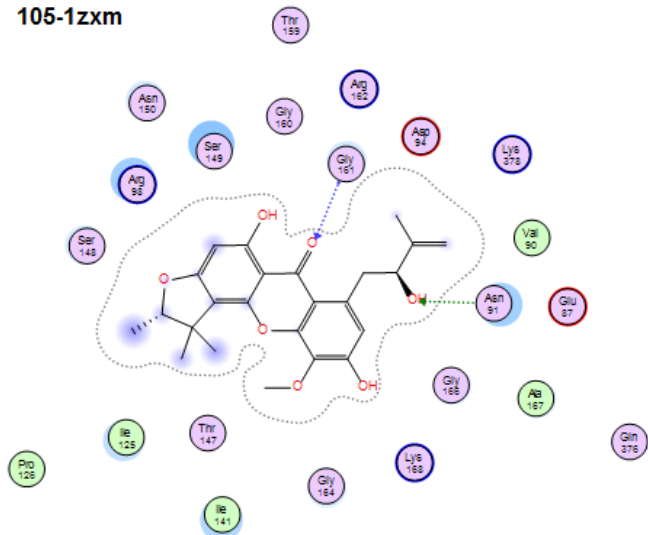
103-1zxm



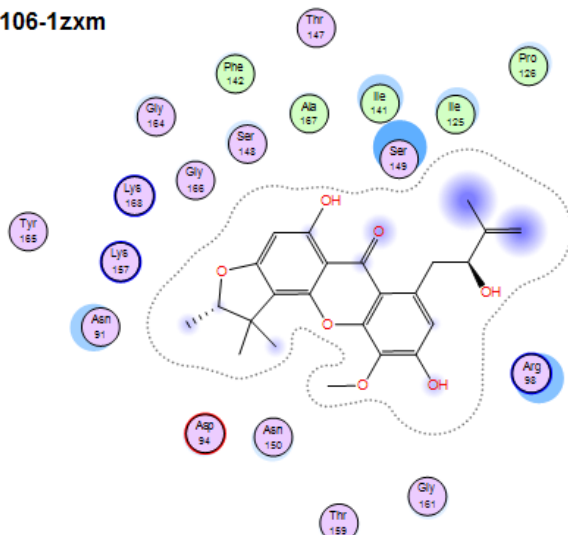
104-1zxm



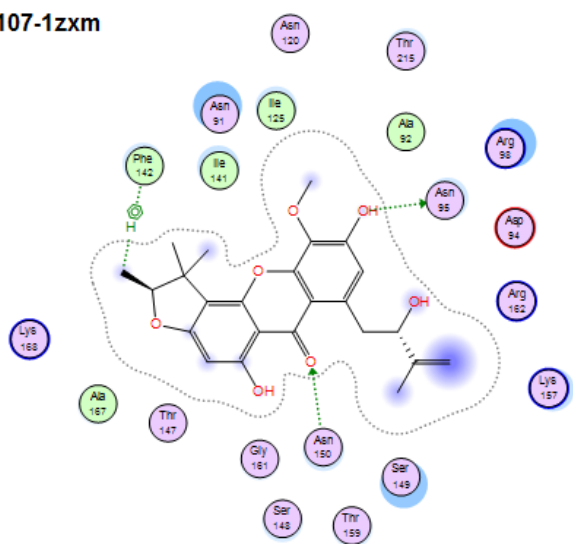
105-1zxm



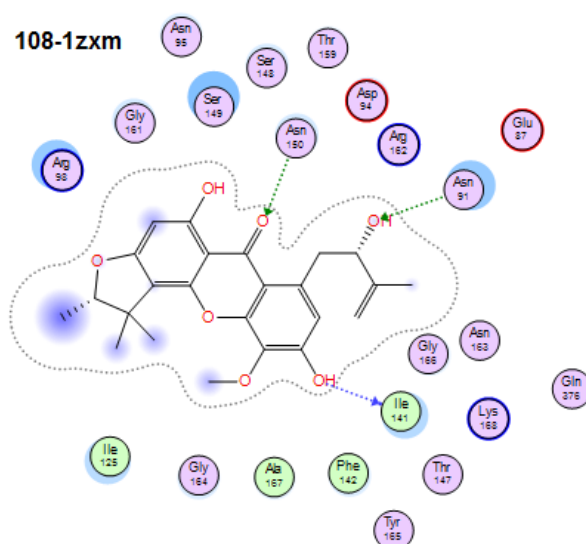
106-1zxm



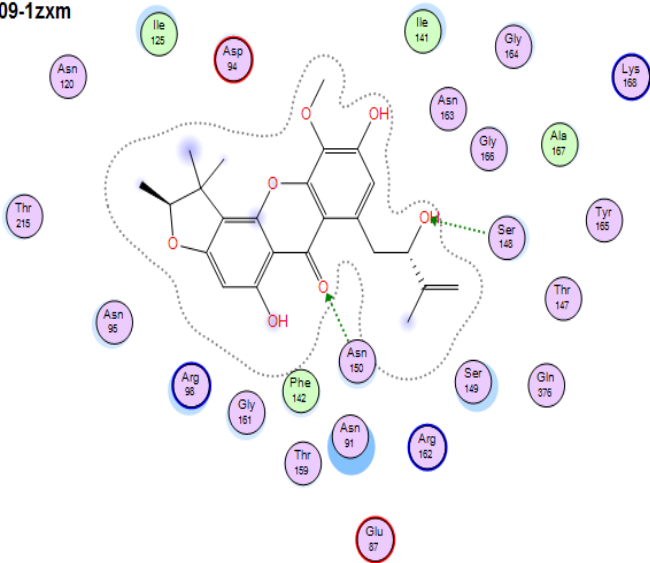
107-1zxm



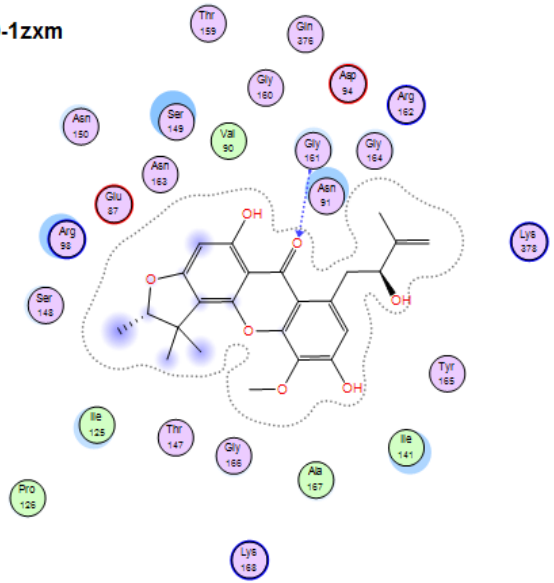
108-1zxm



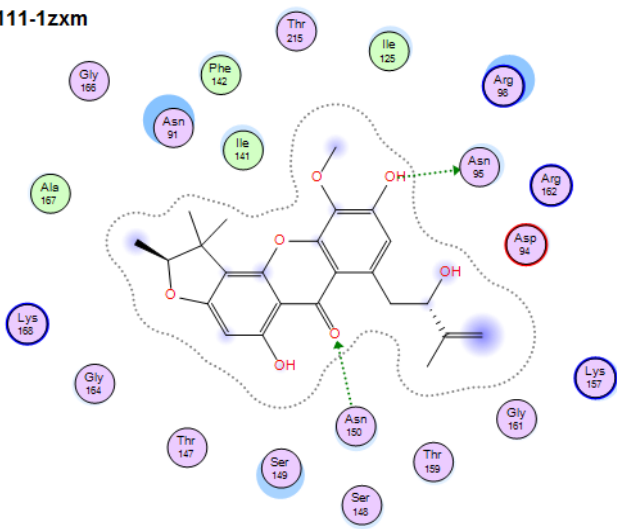
109-1zxm



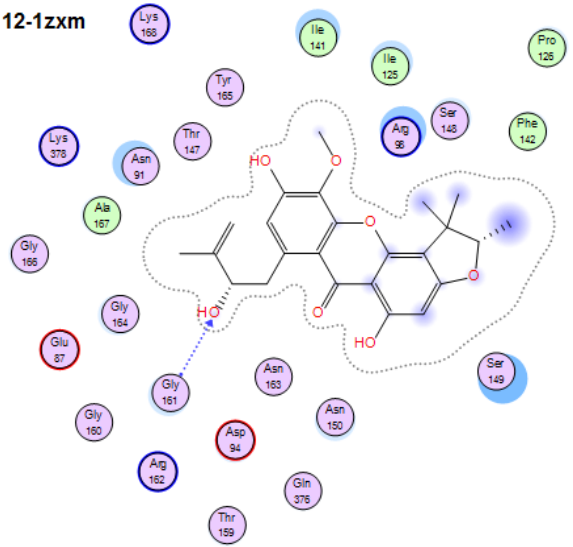
110-1zxm



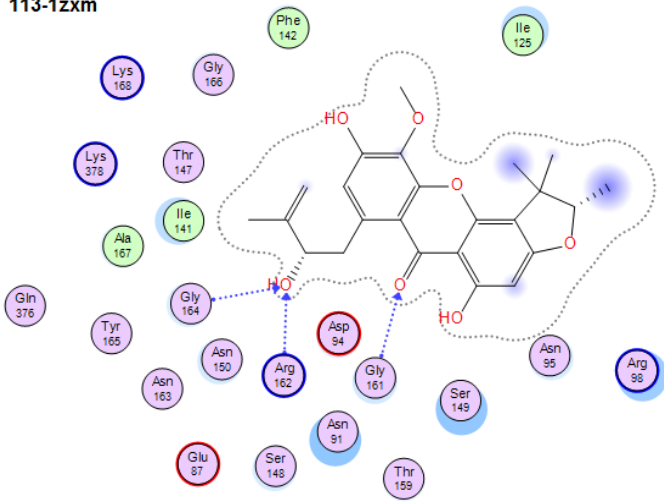
111-1zxm



112-1zxm



113-1zxm



116-1zxm

