



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 :

CHENNOUFI Romaiïsa

Le : 19 juin 2023

Criblage de Terpénoïdes comme agents thérapeutiques potentiels contre l'infection à virus Ebola

Jury :

Ouassaf Mebarka	M.C.A	Université Mohamed Khider de Biskra	Rapporteur
Belaidi Salah	Prof	Université Mohamed Khider de Biskra	Président
Mazri Radhia	M.C.B	Université Mohamed Khider de Biskra	Examinatrice

Année universitaire : 2022/2023



Remerciements

*Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à mon encadreuse le **Dr. OUASSAF Mebarka**, pour son soutien, sa guidance et ses conseils précieux tout au long de la rédaction de ce mémoire. Je remercie les membres du jury le **Pr. BELAIDI Salah** et le **Dr. MAZRI Radhia** pour l'honneur qu'ils ont fait en examinant mon mémoire.*

Je suis également reconnaissante envers tous les enseignants qui ont partagé leurs connaissances et leur expérience avec moi, et qui ont contribué à mon développement académique et personnel.

Je voudrais également remercier ma famille et mes amis pour leur soutien inconditionnel, leurs encouragements et leur amour. Sans leur aide, je n'aurais pas été en mesure de mener à bien ce projet.

Merci infiniment à tous ceux qui ont contribué à la réussite de ce mémoire.

Merci à tous



Dédicace

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers **Allah** pour m'avoir accordé la force, la patience et la détermination nécessaires pour mener à bien cette mémorable réalisation.*

*Je dédie cette œuvre à mon père **Mohammed**, l'homme le plus remarquable et le plus courageux que je connaisse, dont l'amour inconditionnel, le soutien indéfectible et les précieux conseils ont été pour moi une source constante d'inspiration et de motivation.*

*À ma mère **Zouhra**, la plus douce et la plus aimante des femmes, dont la tendresse infinie, les sacrifices inestimables et les prières constantes ont illuminé mon chemin et guidé mes pas.*

À mes frères, mes meilleurs amis, qui ont partagé avec moi les moments les plus joyeux comme les plus difficiles, je vous remercie pour votre présence et votre soutien indéfectible tout au long de cette aventure.

Et enfin, à toute ma famille et mes amis, qui ont été présents pour moi et m'ont encouragé à chaque étape de ce voyage, je vous suis profondément reconnaissante.

Que cette œuvre puisse vous apporter autant de joie et de fierté qu'elle m'a apportées en la réalisant.

CHENNOUFI Romaiissa

Résumé

Le virus Ebola est un virus extrêmement dangereux qui peut entraîner une maladie grave et potentiellement mortelle chez l'homme et les animaux. La protéine VP24 est une protéine virale clé qui joue un rôle essentiel dans la réplication et la propagation du virus Ebola dans le corps humain. Cette protéine est donc une cible importante pour le développement de médicaments antiviraux qui pourraient aider à combattre l'infection et à sauver des vies.

Pour développer de nouveaux médicaments potentiels pour traiter le virus Ebola, la méthode de Docking Moléculaire, utilisant le logiciel Schrödinger, a été utilisée dans ce travail. Cette méthode a permis de cribler virtuellement 244 composés dérivés de Terpénoïdes en se concentrant sur le site actif de la protéine VP24 (4M0Q).

Seuls 17 des 244 composés ont montré une affinité supérieure à celle du composé de référence (Bisdéméthoxycurcumine), avec un score inférieur à -4.334 kcal/mol. Pour prédire et analyser les propriétés DRUG-LIKENESS et pharmacocinétiques (ADME-Tox), des serveurs Web tels que SwissADME et pkCSM ont été utilisés. Ces analyses ont permis de conclure que les composés CID (163102707, 76047846, 162966423, 22298413, 162818176, 85225929, 102126897 et 73815018) pourraient être des candidats médicaments inhibiteurs potentiels de la protéine VP24 (4M0Q) à l'avenir.

Mots clés: Protéine VP24, Docking moléculaire, Virus Ebola, DRUG-LIKENESS, ADME-Tox.

Abstract

The Ebola virus is an extremely dangerous virus that can cause severe and potentially fatal illness in humans and animals. The VP24 protein is a key viral protein that plays an essential role in the replication and spread of the Ebola virus in the human body. Therefore, this protein is an important target for the development of antiviral drugs that could help fight the infection and save lives.

To develop new potential drugs to treat the Ebola virus, a method of Molecular Docking, using the Schrödinger software, was used in this work. This method allowed for the virtual screening of 244 Terpenoid-derived compounds, focusing on the active site of the VP24 protein (4M0Q).

Only 17 out of the 244 compounds showed higher affinity than the reference compound (Bisdemethoxycurcumin), with a score lower than -4.334 kcal/mol. To predict and analyze DRUG-LIKENESS and pharmacokinetic (ADME-Tox) properties, web servers such as SwissADME and pkCSM were used. These analyses led to the conclusion that compounds CID (163102707, 76047846, 162966423, 22298413, 162818176, 85225929, 102126897 and 73815018) could be potential drug candidates for inhibiting the VP24 protein (4M0Q) in the future.

Keywords: Protein VP24, Molecular Docking, Ebola virus, DRUG-LIKENESS, ADME-Tox.

ملخص

فيروس الإيبولا هو فيروس خطير للغاية يمكن أن يسبب أمراضًا خطيرة تهدد حياة الإنسان والحيوان. بروتين VP24 هو بروتين فيروسي رئيسي يلعب دورًا أساسيًا في تكرار وانتشار فيروس الإيبولا في جسم الإنسان. لذلك يعد هذا البروتين هدفًا مهمًا لتطوير الأدوية المضادة للفيروسات التي يمكن أن تساعد في مكافحة العدوى وإنقاذ الأرواح.

لتطوير عقاقير جديدة محتملة لعلاج فيروس الإيبولا ، تم استخدام طريقة الالتحام الجزيئي، باستخدام برنامج Schrödinger ، في هذا العمل. أتاحت هذه الطريقة إمكانية غربلة 244 مركبًا تقريبًا مشتقة من التربينويدات بالتركيز على الموقع النشط للبروتين VP24 (4M0Q).

أظهر 17 مركبًا فقط من أصل 244 تقاربًا أعلى من المركب المرجعي (Bisdemethoxycurcumin) ، مع درجة أقل من 4.334- كيلو كالوري / مول. للتنبؤ وتحليل خصائص تشابه الأدوية والحركية الدوائية، تم استخدام خوادم الويب مثل SwissADME و pkCSM. أدت هذه التحليلات إلى استنتاج مفاده أن المركبات CID (163102707 و 76047846 و 162966423 و 22298413 و 162818176 و 85225929 و 102126897 و 73815018) يمكن أن تكون مرشحة محتملة لمثبطات البروتين VP24 (4M0Q) في المستقبل.

الكلمات المفتاحية: بروتين VP24، الالتحام الجزيئي، فيروس الإيبولا، تشابه الأدوية، خصائص الحركية الدوائية.

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Table des matières

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des abréviations

Introduction générale	1
Références bibliographiques	3

Chapitre I: Généralités sur virus Ebola

1. Historique des découvertes des Filovirus	5
1.1. Découverte du premier Filovirus: le virus de Marburg	5
1.2. Découverte du second Filovirus: le virus Ebola	5
2. Classification des virus Ebola.....	6
3. Structure du virus Ebola	8
3.1. Généralités.....	8
3.2. Le génome.....	9
3.3. Les protéines.....	10
4. Cycle de réplication virale.....	13
4.1. Entrée du virus dans la cellule hôte.....	14
4.2. Transcription et réplication.....	14
4.3. Assemblage et bourgeonnement du virus.....	14
5. La vaccination contre le virus Ebola.....	15
5.1. Les différentes étapes de la commercialisation d'un vaccin.....	15
5.2. Quelle cible antigénique choisir pour neutraliser le virus Ebola ?.....	15
5.3. Les différents essais vaccinaux contre le virus Ebola.....	16
5.4. Vaccin ChAd3- ZEBOV.....	17
5.5. Association Ad26.ZEBOV et MVA-BN-Filo.....	18
5.6. Vaccin EBOVΔVP30.....	18
5.7. Les vaccins à ADN.....	18
Références bibliographiques	20

Chapitre II: Méthodes de criblage virtuel

1. Criblage virtuel	24
2. Objectif du criblage virtuel	25
3. Les stratégies de criblage virtuel	25
3.1. Criblage virtuel basé sur la structure de ligand.....	26
3.2. Criblage virtuel basé sur la structure de la cible.....	26
4. Le Docking moléculaire	27
4.1. Les méthodes de Docking moléculaire.....	28
4.2. Les interactions protéine-ligand.....	29
5. Les étapes de Docking moléculaire	30
5.1. La recherche conformationnelle.....	31
5.2. Scoring.....	31
6. Les fonctions de score	31
6.1. Fonctions de score basées sur le champ de force.....	32
6.2. Fonctions de score empiriques.....	32
6.3. Les fonctions de score basées sur la connaissance ou « knowledge-based ».....	32
6.4. Fonctions de score consensus.....	33
7. Logiciels de Dockings moléculaire	33
8. Les paramètres de "DRUG-LIKNES"	35
8.1. Règle de LIPINSKI.....	35
8.2. Règle de VEBER.....	35
9. Filtres ADME-Tox	36
9.1. Absorption.....	36
9.2. Distribution.....	37
9.3. Métabolisme.....	38
9.4. Elimination.....	39
9.5. Toxicité.....	39
Références bibliographiques	40

Chapitre III: Matériels et Méthodes

1. Introduction	46
2. Matériel et outils utilisés	46
2.1. Micro-ordinateur.....	46
2.2. Banques de données et logiciels.....	46
2.2.1. La banque de données « Protein Data Bank (PDB) ».....	46
2.2.2. La banque de données « PubChem ».....	47

2.2.3.	Schrödinger suite	48
2.2.4.	BIOVIA Discovery Studio®	48
2.2.5.	SwissADME	49
2.2.6.	pkCSM	50
3.	Méthodologie des calculs.....	51
3.1.	Préparations des ligands.....	51
3.2.	Préparation de la protéine	52
3.3.	Détection de cavité	53
3.4.	Simulation de Docking moléculaire.....	54
3.5.	Prédiction des propriétés moléculaires des ligands.....	55
3.6.	Prédictions des ADME-Tox propriétés.....	55
	Références bibliographiques	56

Chapitre IV: Résultats et Discussion

1.	Introduction	58
2.	Résultats et discussion.....	58
2.1.	Résultats de Dockings moléculaires	58
2.1.1.	Étude des interactions protéine -ligand	60
2.1.2.	Discussion de Docking moléculaire.....	77
2.2.	Résultats des propriétés moléculaires (DRUG LIKNESS).....	78
2.2.1.	Application de la règle de LIPINSKI.....	78
2.2.2.	Application de la Règle de VEBER	80
2.3.	Résultats des filtres ADME-Tox.....	82
2.3.1.	Absorption	82
2.3.2.	Distribution.....	84
2.3.3.	Métabolisme	86
2.3.4.	Élimination.....	87
2.3.5.	Toxicité	88
	Références bibliographiques	90
	Conclusion générale	92

Annexes

Liste des Tableaux

Chapitre I

Tableau I.1 Sous-types du virus Ebola, nombre d'épidémies et létalité.

Chapitre II

Tableau II.1 Principaux logiciels permettant la mise en œuvre de Docking rigide ou flexible de molécules.

Tableau II.2 Valeurs utilisées dans les différents filtres permettant la sélection de molécules ou fragments aux propriétés pharmacocinétiques « drug-like ».

Chapitre III

Tableau III.1 Les caractéristiques des micro-ordinateurs utilisés.

Tableau III.2 Données cristallographiques.

Chapitre IV

Tableau IV.1 Résultats de de scores inférieur à -6 Kcal/mol de la protéine 4M0Q avec les ligands.

Tableau IV.2 Les interactions des meilleurs inhibiteurs de la protéine 4M0Q.

Tableau IV.3 Les interactions entre le ligand CID163102707 et la protéine VP24.

Tableau IV.4 Les interactions entre le ligand CID162994788 et la protéine VP24.

Tableau IV.5 Les interactions entre le ligand CID76047846 et la protéine VP24.

Tableau IV.6 Les interactions entre le ligand CID162966423 et la protéine VP24.

Tableau IV.7 Les interactions entre le ligand CID163858558 et la protéine VP24.

Tableau IV.8 Les interactions entre le ligand CID75069707 et la protéine VP24.

Tableau IV.9 Les résultats de la règle de LIPINSKI pour les meilleurs ligands sur 4M0Q.

Tableau IV.10 Les résultats de la règle de VEBER pour les meilleurs ligands sur 4M0Q.

Tableau IV.11 Les résultats de l'Absorption.

Tableau IV.12 Les résultats de Distribution.

Tableau IV.13 Les résultats de Métabolisme.

Tableau IV.14 Les résultats de l'Elimination.

Tableau IV.15 Les résultats de Toxicité.

Liste des Figures

Chapitre I

Figure I.1 Répartition géographique des différents foyers du virus de Marburg depuis sa découverte en 1967.

Figure I.2 Classification des Ebola virus selon la taxonomie actuelle de l'ICTV.

Figure I.3 Ebola au microscope électronique.

Figure I.4 Structure du virus Ebola.

Figure I.5 Représentation schématique du génome du virus Ebola montrant les différents gènes codant pour les protéines structurales et non structurales.

Figure I.6 Représentation de la structure secondaire de VP24.

Figure I.7 Mécanisme d'échappement à l'effet antiviral des interférons.

Figure I.8 La réplication du virus Ebola.

Figure I.9 Représentation schématique du processus de développement vaccinal, de l'évaluation du risque au programme d'implantation vaccinal.

Figure I.10 Principales avancées scientifiques dans la découverte et la commercialisation d'un vaccin sûr et efficace contre le virus Ebola.

Figure I.11 Persistance du taux d'anticorps anti-GP mesurés par test ELISA, après injection du vaccin ChAd3-EBOVZ.

Figure I.12 Réponse immunitaire déclenchée par l'injection de vaccins à ADN.

Chapitre II

Figure II.1 Différentes phases de la préparation de la chimiothèque.

Figure II.2 Les stratégies du criblage virtuel.

Figure II.3 Nombre de structures résolues par cristallographie à rayons X et déposées dans la PDB entre 1990 et 2016.

Figure II.4 Le concept clé-Serrure.

Figure II.5 Intéraction de van der Waals.

Figure II.6 Liaison hydrogène.

Figure II.7 Interaction hydrophobe.

Figure II.8 Interactions électrostatiques.

Figure II.9 Représentation schématique des étapes du Docking moléculaire.

Figure II.10 Vue d'ensemble des phénomènes qui interviennent lors de la phase d'absorption.

Figure II.11 Vue d'ensemble des phénomènes qui interviennent lors de la phase de distribution.

Chapitre III

Figure III.1 L'interface du site Protein Data Bank.

Figure III.2 L'interface du site PubChem.

Figure III.3 L'interface du logiciel Schrödinger suite.

Figure III.4 L'interface du logiciel Discovery Studio.

Figure III.5 L'interface du site SwissADME.

Figure III.6 L'interface du site pkCSM.

Figure III.7 La méthodologie de notre travail.

Figure III.8 Structure 3D de la protéine 4M0Q préparé.

Figure III.9 Structure chimique de Bisdéméthoxycurcumine.

Figure III.10 La cavité choisie de la protéine 4M0Q.

Chapitre IV

Figure IV.1 Le protocole utilisé dans le Docking moléculaire.

Figure IV.2 Interactions entre le ligand de référence et les résidus de 4M0Q (structure 2D).

Figure IV.3 Les interactions entre le ligand CID163102707 et la protéine VP24 (A: 2D ; B: 3D).

Figure IV.4 Les structures 3D de la protéine VP24 avec le ligand CID163102707.

Figure IV.5 Les interactions entre le ligand CID162994788 et la protéine VP24 (A: 2D ; B: 3D).

Figure IV.6 Les structures 3D de la protéine VP24 avec le ligand CID162994788.

Figure IV.7 Les interactions entre le ligand CID76047846 et la protéine VP24 (A: 2D ; B: 3D).

Figure IV.8 Les structures 3D de la protéine VP24 avec le ligand CID76047846.

Figure IV.9 Les interactions entre le ligand CID162966423 et la protéine VP24 (A: 2D ; B: 3D).

Figure IV.10 Les structures 3D de la protéine VP24 avec le ligand CID162966423.

Figure IV.11 Les interactions entre le ligand CID163858558 et la protéine VP24 (A: 2D ; B: 3D).

Figure IV.12 Les structures 3D de la protéine VP24 avec le ligand CID163858558.

Figure IV.13 Les interactions entre le ligand CID75069707 et la protéine VP24 (A: 2D ; B: 3D).

Figure IV.14 Les structures 3D de la protéine VP24 avec le ligand CID75069707.

Liste des abréviations

2D: Deux Dimension.

3D: Trois Dimension.

AADS: Automated Docking And Scoring.

Ad26: Adénovirus 26.

ADME-Tox: Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion-Toxicité.

ADN: Acide Désoxyribonucléique.

ALA: Alanine.

ALH: Accepteurs de Liaisons Hydrogènes.

AMM: Autorisation de Mise sur le Marché.

ARN: Acide Ribonucléique.

ARNm: Acide Ribonucléique messenger.

ASN: Asparagine.

ASP: Aspartique

BBB: Blood-Brain Barrier.

BDBV: Virus Ebola de Bundibugyo.

Caco2: Carcinome colorectal humain 2.

CADD: Combined Annotation Dependent Depletion.

ChAd3: Chimpanzee Adénovirus 3.

CYP1A2: Cytochrome P450 1A4.

CYP2C19: Cytochrome P450 2C19.

CYP2C9: Cytochrome P450 2C9.

CYP2D6: Cytochrome P450 2D6.

CYP3A4: Cytochrome P450 3A4.

DLH: Donneurs de Liaisons Hydrogènes.

DOCK v6: Docking Oriented Chemical Kinetics version 6.

EBOV: Virus Ebola.

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.

EVD: Maladie à Virus Ebola.

FRED: Fast Rigid Exhaustive Docking.

hERG: Human Ether-a-go-go-Related Gene.

HIS: Histidine.

HTS: High-Throughput Screening.

ICM: Internal Coordinate Mechanics.

ICTV: Comité International de Taxonomie des Virus.

ILE: Isoleucine.

ISGF3: Facteur de transcription des Gènes Stimulés par les Interférons de type 3.

ISGs: Gènes Stimulés par l'Interféron.

GLIDE: Grid-Based Ligand Docking with Energetics.

GLN: Glutamine.

GLU: Glutamique.

GLY: Glycine.

GOLD: Genetic Optimization for Ligand Docking.

GP: Glycoprotéine.

kDa: kilo Dalton.

LB: Ligand Based.

LD50: Dose Létale médiane.

LEU: Leucine.

MARV: Virus de Marburg.

MCDOCK: Multiple Conformation Docking.

MVA-BN: Modified Vaccinia Ankara - Bavarian Nordic.

MVA-BN-Filo: Modified Vaccinia Ankara - Bavarian Nordic - Filovirus.

MVE: Maladie à virus Ebola.

NCBI: National Center for Biotechnology Information.

NP: Nucléoprotéine.

NRB: Number Rotatable Bonds.

NSB4: Laboratoire de Niveau de Sécurité Biologique 4.

OCT2: Organic Cation Transporter 2.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

OPLS: Optimized Potentials for Liquid Simulation.

ParDock: Parallel docking.

PDB: Protein Data Bank.

P-gp: P-glycoprotéine.

PNH: Hémoglobinurie Paroxystique Nocturne.

ProDOCK: Protein-Ligand Docking.

PS: coefficient de Perméabilité.

PFU: Plaque Forming Units.

QSAR: Quantitative Structure-Activity Relationship.

QXP: Quick X-Ray Protein-Ligand.

rAd5: Adénovirus recombinant de type 5.

RDC: République démocratique du Congo.

R&D: Research and Development.

RESTV: Virus Ebola de Reston.

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire.

RMSD: Root Mean Square Deviation.

RNP: Ribonucléoprotéine.

rVSV: Virus recombinant de la Stomatite Vésiculeuse.

SB: Structure Based.

SER: Sérine.

SNC: Système Nerveux Central.

SP: Standard Precision.

STAT1: Transducteur de Signal et Activateur de Transcription 1.

STAT2: Transducteur de Signal et Activateur de Transcription 2.

SUDV: Virus Ebola du Soudan.

TAFV: Virus Ebola de Taï Forest.

THR: Thréonine.

TPSA: Topological Polar Surface Area.

UMA: Unité de Masse Atomique.

Vds: Volume de distribution.

VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine.

VLP: Virus-Like Particle.

VP24: Protéine Virale 24.

VP30: Protéine Virale 30.

VP35: Protéine Virale 35.

VP40: Protéine Virale 40.

WDI: World Drug Index.

XP: Extra Precision.

ZEOBV: Virus Ebola Zaïre.



Introduction Générale

Introduction Général

La maladie à virus Ebola (**EVD**), ou simplement connue sous le nom d'Ebola, reste l'une des maladies les plus meurtrières au monde, avec près de 29000 cas signalés et en tuant 11000, et pourtant aucun traitement ni vaccin ne permet de lutter efficacement contre cette maladie. Cette maladie est causée par le virus Ebola (**EBOV**), un membre primaire de la famille des Filoviridae.

La gravité de l'infection s'explique par la capacité du virus à paralyser de manière précoce le système immunitaire de l'homme, hôte accidentel peu adapté à ce type d'infection virale, favorisant ainsi la dissémination du virus Ebola et déclenchant par la suite une réaction immunitaire incontrôlée délétère pour l'hôte ^{1,2}. L'**OMS** a classé ce virus, à l'origine d'une fièvre hémorragique, dans le groupe 4 ce qui impose un laboratoire de niveau de sécurité biologique 4 (**NSB4**) pour le manipuler. L'absence totale de traitement et de vaccins efficaces, rend la recherche et le développement d'antiviraux et de vaccins indispensables et urgents ³.

Le génome d'**EBOV** comprend sept gènes qui codent pour des protéines jouant des rôles essentiels dans le cycle de vie du virus. Parmi ces protéines, **VP24** joue un rôle vital dans l'inhibition du système immunitaire des cellules hôtes. Par conséquent, **VP24** est une cible potentielle pour la thérapie de la maladie à virus Ebola (**EVD**) ⁴.

Les approches **CADD** in silico peuvent être considérées comme une solution pour développer et cribler les composés ou les médicaments afin de créer des pistes puissantes pour le traitement de plusieurs maladies. Elle permet d'analyser des molécules et des systèmes moléculaires, ainsi que de prédire des propriétés moléculaires, chimiques et biochimiques ⁵.

Dans le cas d'Ebola, plusieurs études ont été menées pour trouver de nouveaux candidats-médicaments à partir de différentes protéines cibles grâce à cette méthode ⁶⁻¹⁰. Les produits naturels ont été considérés comme l'une des sources les plus potentielles de composés de plomb en raison de leurs bioactivités intéressantes. De plus, de nombreux médicaments qui ont été vendus sur le marché sont soit acquis directement auprès de sources naturelles, soit dérivés de composés de sources naturelles ¹¹.

Les Terpénoïdes sont un groupe de composés qui sont étudiés en tant qu'inhibiteurs de **VP24** du virus Ebola. Les composés Terpénoïdes sont le plus grand groupe de produits naturels, et ils sont construits à partir d'unités d'isoprène et synthétisés par les voies mévalonate et non mévalonate ¹². Les membres de cette famille de composés sont classés selon le nombre d'unités d'isoprène qui constituent leurs structures. Les Terpénoïdes présentent des activités pharmacologiques et

Introduction Général

biologiques uniques, notamment des activités antibactériennes ¹³, anti-inflammatoires ¹⁴, anticancéreuses ¹⁵ et antivirales ¹⁶.

Notre objectif principal consiste à utiliser une combinaison de deux méthodes, le Docking moléculaire et les propriétés **ADME-Tox**, pour concevoir de nouveaux inhibiteurs de la protéine **VP24**. Cette protéine a été identifiée comme une cible importante dans le traitement de virus Ebola. Nous avons évalué une série de 244 molécules pour atteindre cet objectif.

La présentation générale de notre travail est structurée de la manière suivante :

Introduction générale: Dans laquelle nous donnons un aperçu sur le virus Ebola et précisons l'objectif de notre travail.

Chapitre I: Nous présentons des informations générales sur le virus Ebola, incluant sa structure, son mode de répllication viral et les vaccinations existants.

Chapitre II: Nous décrivons les différentes méthodes du criblage virtuel, en nous concentrant particulièrement sur le Docking moléculaire.

Chapitre III: Nous présentons les méthodes et matériels que nous avons utilisés dans notre travail, en décrivant notamment les méthodologies et les logiciels utilisés.

Chapitre IV: Nous présentons l'essentiel de nos résultats et discutons de leur pertinence et de leur interprétation.

Conclusion générale: Nous synthétisons le travail réalisé et exposons nos perspectives pour des recherches futures dans ce domaine.

Introduction Général

Références bibliographiques

1. Basler, C. F., & Amarasinghe, G. K. (2009). Evasion of interferon responses by Ebola and Marburg viruses. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 29(9), 511-520.
2. Villinger, F., Rollin, P. E., Brar, S. S., Chikkala, N. F., Winter, J., Sundstrom, J. B., ... & Peters, C. J. (1999). Markedly elevated levels of interferon (IFN)- γ , IFN- α , interleukin (IL)-2, IL-10, and tumor necrosis factor- α associated with fatal Ebola virus infection. *The Journal of infectious diseases*, 179(Supplement_1), S188-S191.
3. Dimier, J. (2012). Développement d'un vecteur virus de la vaccine, répliatif et atténué, pour la vaccination antivariolique et pour la vaccination contre la fièvre hémorragique à virus Ebola (Doctoral dissertation, Grenoble).
4. Han, Z., Boshra, H., Sunyer, J. O., Zwiers, S. H., Paragas, J., & Harty, R. N. (2003). Biochemical and functional characterization of the Ebola virus VP24 protein: implications for a role in virus assembly and budding. *Journal of virology*, 77(3), 1793-1800.
5. Murcko, M. A. (1997). *Molecular Modeling: Basic Principles and Applications*. *Drug Discovery Today*, 9(2), 364.
6. Raj, U., Kumar, H., & Kumar Varadwaj, P. (2015). 3D structure generation, molecular dynamics and docking studies of IRHOM2 protein involved in cancer & rheumatoid arthritis. *Current computer-aided drug design*, 11(4), 325-335.
7. Abazari, D., Moghtadaei, M., Behvarmanesh, A., Ghannadi, B., Aghaei, M., Behruznia, M., & Rigi, G. (2015). Molecular docking based screening of predicted potential inhibitors for VP40 from Ebola virus. *Bioinformation*, 11(5), 243.
8. Karthick, V., Nagasundaram, N., Doss, C., Chakraborty, C., Siva, R., Lu, A., ... & Zhu, H. (2016). Virtual screening of the inhibitors targeting at the viral protein 40 of Ebola virus. *Infectious diseases of poverty*, 5(1), 1-10.
9. Shaikh, U. P. A., & Joshi, Y. N. (2016). *Molecular Docking Studies of E-Bola Virus Protein VP30*.
10. A. S. Setlur, S. Y. Naik, and S. (2016). *Skariyachan, Interdiscip. Sci.* 1-24.
11. G. L. Patrick, *Introduction of Medicinal Chemistry*. (2013). 5th Ed. (Oxford University Press).

Introduction Général

- 12.** Ludwiczuk, A., Skalicka-Woźniak, K., & Georgiev, M. I. (2017). Terpenoids. In *Pharmacognosy* (pp. 233-266). Academic Press.
- 13.** Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., ... & Bisignano, G. (2005). Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(6), 2474-2478.
- 14.** Peana, A. T., D'Aquila, P. S., Panin, F., Serra, G., Pippia, P., & Moretti, M. D. L. (2002). Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*, 9(8), 721-726.
- 15.** Bardon, S., Foussard, V., Fournel, S., & Loubat, A. (2002). Monoterpenes inhibit proliferation of human colon cancer cells by modulating cell cycle-related protein expression. *Cancer letters*, 181(2), 187-194.
- 16.** Niedermeyer, T. H., Lindequist, U., Mentel, R., Gördes, D., Schmidt, E., Thurow, K., & Lalk, M. (2005). Antiviral Terpenoid constituents of *Ganoderma pfeifferi*. *Journal of Natural Products*, 68(12), 1728-1731.

Chapitre I

Généralités sur

virus Ebola



Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

1. Historique des découvertes des Filovirus

1.1. Découverte du premier Filovirus: le virus de Marburg

En 1967, plusieurs travailleurs d'un laboratoire pharmaceutique allemand souffraient d'une maladie à la même symptomatologie grave et inhabituelle, et furent transférés à l'hôpital Marburg ¹. On dénombra 25 cas d'infections primaires dont 7 décès, et 6 infections secondaires. Rapidement, les médecins identifient l'agent responsable de cette maladie, un nouveau virus, d'une extrême finesse, à l'aspect filamenteux qu'on nomma **virus de Marburg (MARV)** d'une nouvelle famille dénommée les «Filovirus» ². La source du virus, une espèce de singes verts africains importés d'Ouganda, a été trouvée en Allemagne. Les scientifiques y avaient utilisé les singes pour mener des recherches sur le vaccin contre la poliomyélite ³. Des cas semblables sont apparus à Francfort et en Yougoslavie, du fait de la présence de ces singes originaires d'Ouganda dans les laboratoires pharmaceutiques. Les singes furent euthanasiés, et une procédure de quarantaine a permis de contenir l'épidémie ¹.

1.2. Découverte du second Filovirus: le virus Ebola

Environ 10 ans après la découverte du **MARV**, un nouveau virus morphologiquement similaire au **MARV**, mais sérologiquement et génétiquement différent a été détecté lors de 2 flambées simultanées à Nzara, Maridi et Juba (aujourd'hui au Soudan du Sud) et à Yambuku et Bumba au nord-ouest du Zaïre (aujourd'hui République démocratique du Congo (**RDC**)) ². Ce nouveau virus sera alors nommé Ebola, d'après le nom d'une rivière coulant près de Yambuku ⁴.

Ebola virus Zaïre est plus meurtrier avec un taux de mortalité de 88% (280 décès) pour 53% pour Ebola virus Soudan (151 décès). En **RDC**, la réutilisation de seringues contaminées par le virus Ebola, pour des injections de chloroquine contre le paludisme, au sein de l'hôpital local de la Mission Catholique de Yambuku fut la source de dissémination de l'infection ^{5,6}.

La première hypothèse était certainement la propagation du virus détecté au Soudan à partir d'une personne qui aurait voyagé du Soudan vers Yambuku. Cependant, aucun lien n'a été établi entre les 2 épidémies. Au cours des années suivantes, d'autres virus Ebola ont été découverts. Ces autres virus, bien que présentant une réaction antigénique croisée avec les virus du Zaïre et du Soudan, étaient uniques ⁷ (**Figure I.1**).

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

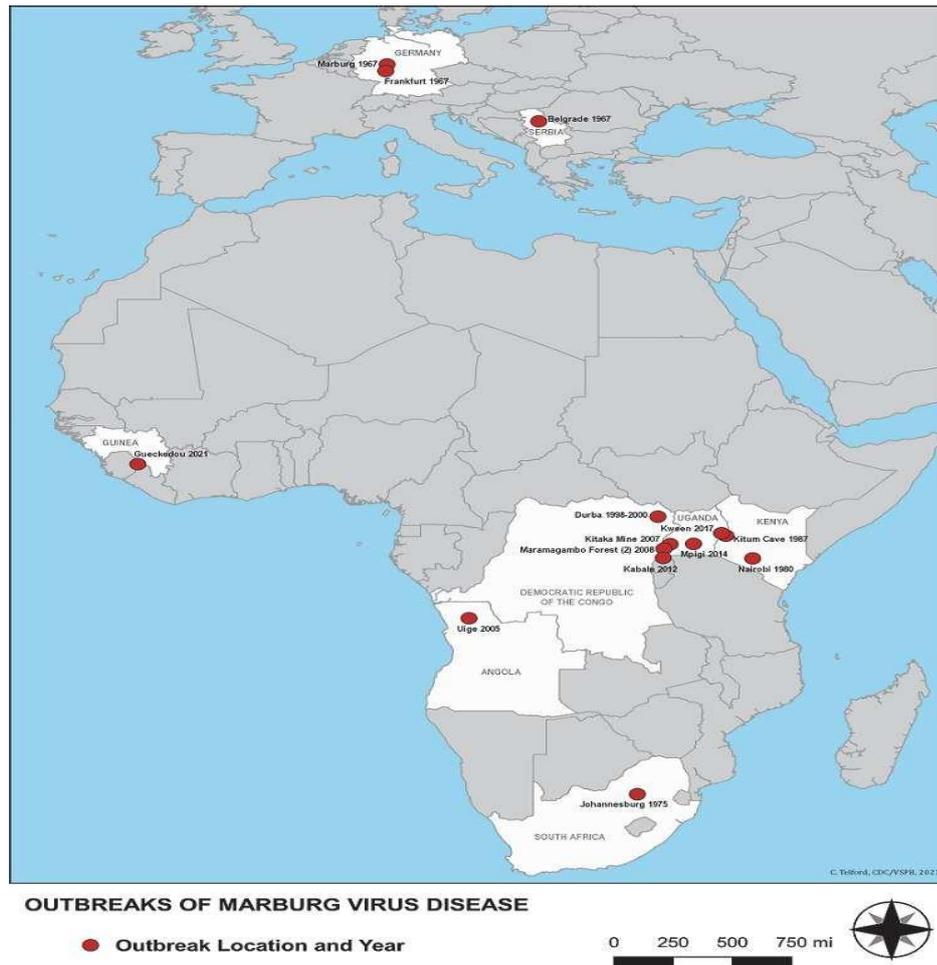


Figure I.1 Répartition géographique des différents foyers du virus de Marburg depuis sa découverte en 1967.

2. Classification des virus Ebola

Les virus Ebola et Marburg sont les deux représentants de la famille des Filoviridae. Le terme de Filoviridae est issu du latin filum qui signifie fil, en rapport avec la forme des virus. La famille de Filoviridae appartient à l'ordre des Mononegavirales⁸. Ce sont des virus d'apparence filamenteuse présentant une organisation génomique et des stratégies de répllication similaire. Ces virus sont enveloppés et contiennent un génome à **ARN** simple brin, linéaire et non segmenté avec une polarité négative⁷. Sur base de leur évolution phylogénétique, la famille des Filoviridae est divisée en trois genres: le genre Ebolavirus, le genre Marburgvirus, dont les virus infectent l'homme et les **PNH** et un nouveau genre, le genre Cuevavirus, comprenant le virus Lloviu, découvert en 2011 en Espagne et responsable d'infections mortelles chez les chauves-souris⁹.

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

Le virus Ebola comprends 5 sous-types (**Figure I.2**) : Zaïre, Soudan, Bundibugyo, Taï forest et Reston (**Tableau I.1**). Le sous-type Zaïre a été responsable de la majorité des épidémies (13 épidémies contre 7 et 2, respectivement pour les sous-types Soudan et Taï Forest).

Ebola et Marburg se distinguent par la taille de leur génome et leur composition protéique, notamment la **glycoprotéine GP** qui présente 72% de différences nucléotidiques, raison pour laquelle il n'y a pas de réaction antigénique croisée entre ces deux virus ⁸.

Tableau I.1 sous-types du virus Ebola, nombre d'épidémies et létalité.

Sous-types	Acronyme	Nombre d'épidémies chez l'Homme (localisation)	Nombre d'épidémies chez l'Homme (localisation)
Zaïre	EBOV	13 (Congo (RDC et RC), Gabon, Guinée, Sierra Léone, Liberia).	40% à 90 % (29 637)
Soudan	SUDV	7 (Soudan, Ouganda)	40% à 60% (792)
Bundibugyo	BDBV	2 (RDC, Ouganda)	32% (206)
Taï Forest	TAFV	1 cas humain a été recensé en Côte d'Ivoire et a survécu.	0% (1)
Reston	RESTV	Quelques cas humains ont été recensés en Chine et Philippines sans faire de morts. Le virus infecte principalement les singes et les porcs.	0% (11)

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

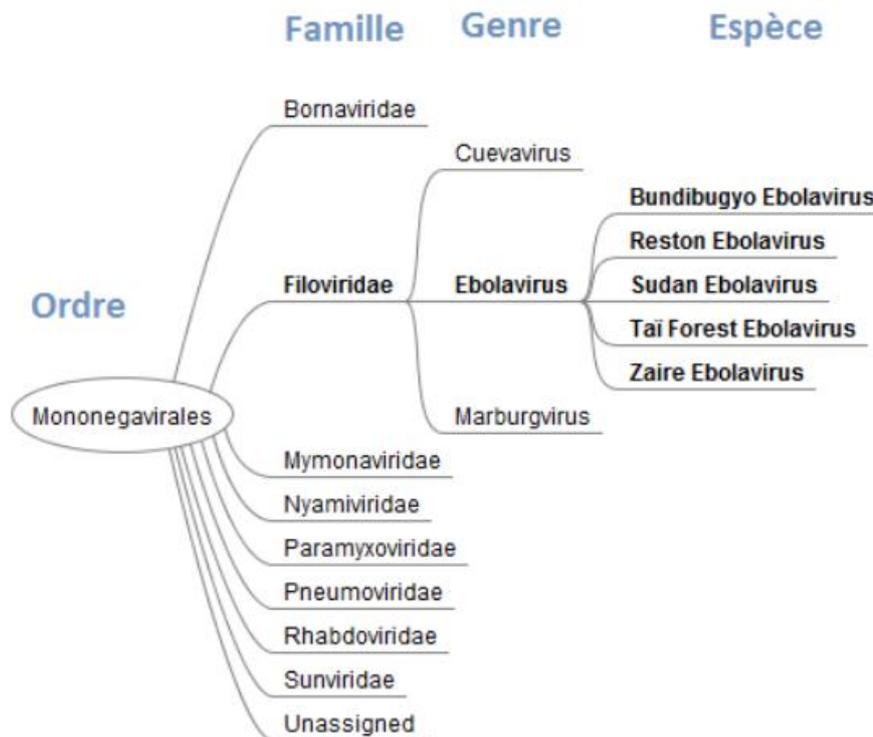


Figure I.2 Classification des Ebola virus selon la taxonomie actuelle de l'ICTV.

3. Structure du virus Ebola

3.1. Généralités

Le virus Ebola est un virus qui se présente sous la forme caractéristique d'un filament (**Figure I.3**). Cependant, de nombreuses configurations sont observées: des formes en « 6 », des formes circulaires, des formes en « U », des formes en épingle à cheveux, des formes branchées. Sa longueur varie de quelques dizaines de nm à 10-15 μm . Son diamètre est d'environ 80 nm ^{10,11}. Chaque particule est entourée d'une membrane qu'elle récupère à partir d'une cellule infectée et dont la surface est parsemée des glycoprotéines. Cette membrane est soutenue de l'intérieur par une matrice qui contient en son centre une nucléocapside cylindrique avec un axe central sombre de 19 à 25 nm de diamètre ⁷ (**Figure I.4**).

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

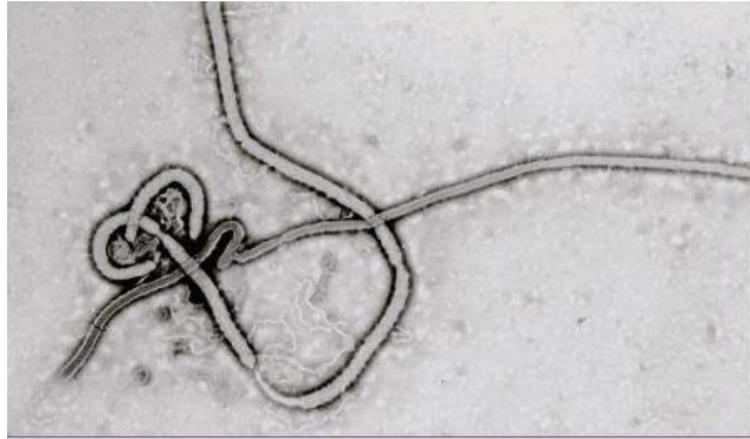


Figure I.3 Ebola au microscope électronique.

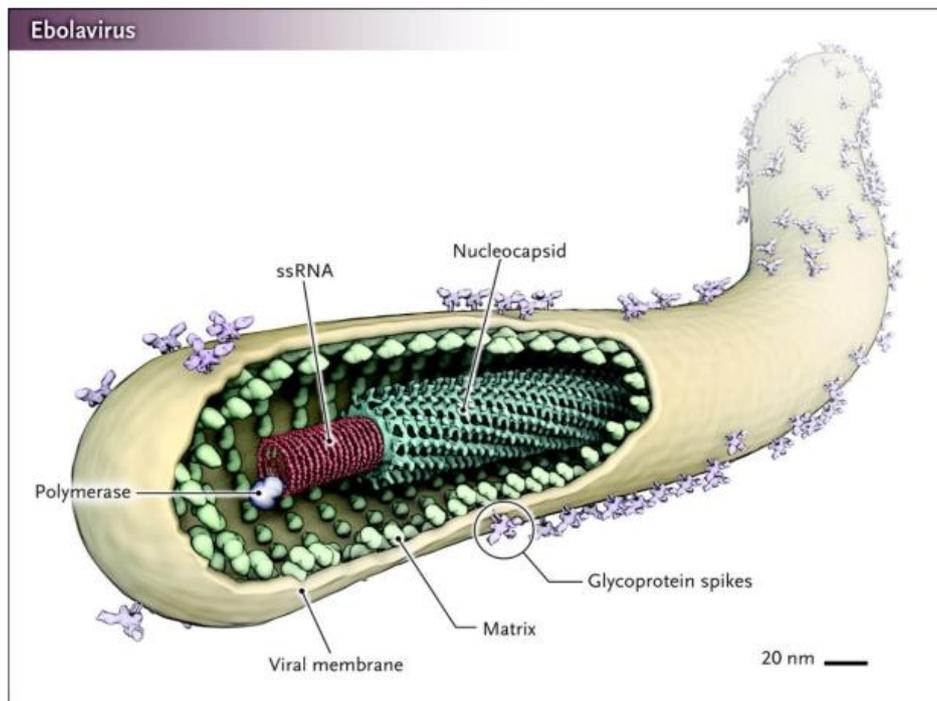


Figure I.4 Structure du virus Ebola.

3.2. Le génome

Le génome des virus Ebola ne représente qu'environ 1,1% de la masse du virion, avec une taille d'environ 19.000 paires de base. Il possède sept gènes arrangés de manière linéaire de l'extrémité 3' vers l'extrémité 5' et séparées par des séquences inter-géniques variant en longueur et en nombre de nucléotides ⁷. Le génome du virus Ebola code sept ARN messagers codant ainsi sept protéines dans l'ordre suivant 3'- Nucléoprotéine (NP) - VP35 - VP40 – GP – VP30 – VP24 – polymérase L – 5' ¹². Lorsqu'on analyse les séquences nucléotidiques, on obtient l'ordre suivant (Figure I.5):

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

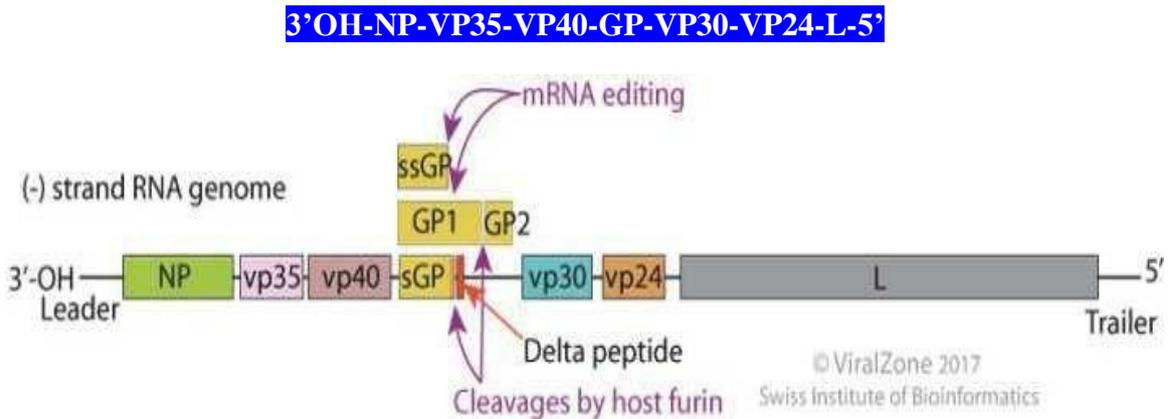


Figure I.5 Représentation schématique du génome du virus Ebola montrant les différents gènes codant pour les protéines structurales et non structurales.

3.3. Les protéines

Sur le côté interne de l'enveloppe virale, il y a les protéines **VP40** et **VP24** constituant la matrice hélicoïdale protégeant la nucléocapside virale. Le virus possède une nucléocapside hélicoïdale constituée de nucléoprotéines (**NP**) et de la protéine **VP30** qui va interagir avec l'ARN et activer la transcription^{13,14}. La **VP35**, cofacteur de la polymérase L, est également considéré comme un facteur de virulence car elle est capable d'inhiber l'immunité innée de la cellule hôte en interférant avec le processus de détection de l'ARN viral par les récepteurs cellulaires. La **VP24** et la **VP35** jouent un rôle clé dans l'inhibition de la réponse immunitaire de type Interféron I. L'ARN polymérase (L) ARN-dépendant fait partie de la complexe nucléocapside et, en tant qu'enzyme, il joue le rôle de catalyseur dans la réplication et la transcription de l'ARN génomique viral⁷.

✚ Protéine virale de VP24

Produite par le 6^e gène, **VP24** se compose de 251 acides aminés et a un poids moléculaire de 24 kDa. Elle ressemblerait à une pyramide de base triangulaire de dimensions 73 Å × 30 Å × 30 Å (**Figure I.6**). Les 3 faces de la pyramide sont numérotées : face 1 (**Figure I.6a**), face 2 (**Figure I.6b**) et face 3 (**Figure I.6c**). On observe des hélices alpha ($\alpha 1$ et $\alpha 5-10$) et des feuillets beta ($\beta 1-3$) antiparallèles. Dans la région C-terminale, on retrouve des hélices alpha ($\alpha 5-8$)^{15,16}.

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

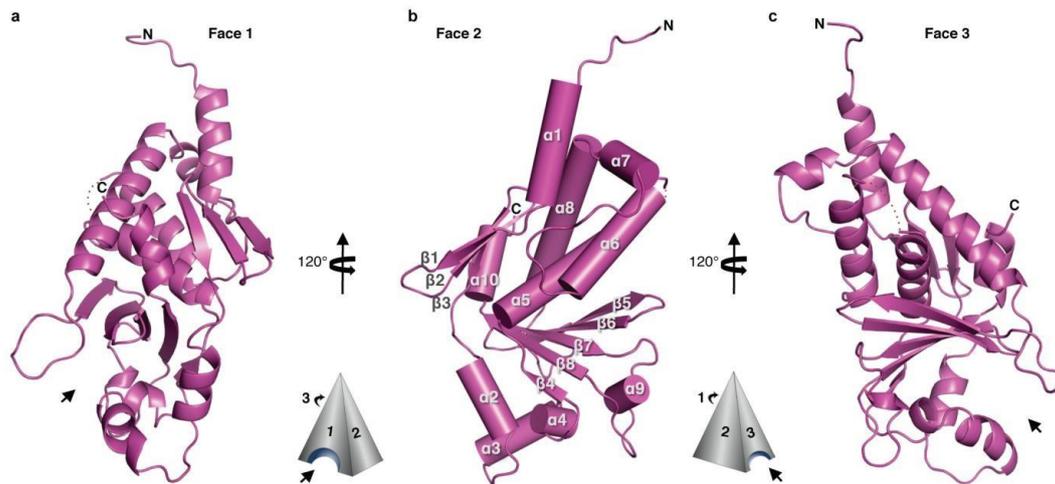


Figure I.6 Représentation de la structure secondaire de **VP24**.

La **VP24** constitue la 2^e protéine de matrice, elle est localisée dans la région périnucléaire ou au niveau de la membrane plasmique en forte association avec la membrane lipidique. Elle s'associe préférentiellement en tétramères, probablement par sa partie N-terminale ¹⁷. C'est un élément nécessaire au correct assemblage de la nucléocapside ¹⁸.

Cette protéine est indispensable au processus d'échappement à l'effet antiviral des interférons. En effet, la réponse antivirale nécessite l'intervention du facteur de transcription **STAT1** dans le noyau. Ce facteur de transcription est transporté vers le noyau sous forme d'hétérodimères **STAT1: STAT2** et d'homodimères **STAT1: STAT1** ou sous forme de complexes avec **ISGF3**. Les dimères peuvent être formés, après phosphorylation de **STAT1**, grâce à la liaison des interférons à leur récepteur. **VP24** agit par liaison avec la karyophérine $\alpha 1$, qui est le transporteur de ces dimères vers le noyau (**Figure I.7**). Cette liaison a donc pour effet de bloquer l'accumulation de **STAT1** dans le noyau et par conséquent la réponse antivirale ¹⁹. Une étude a révélé que **VP24** pouvait également se lier directement à **STAT1** ¹⁵.

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

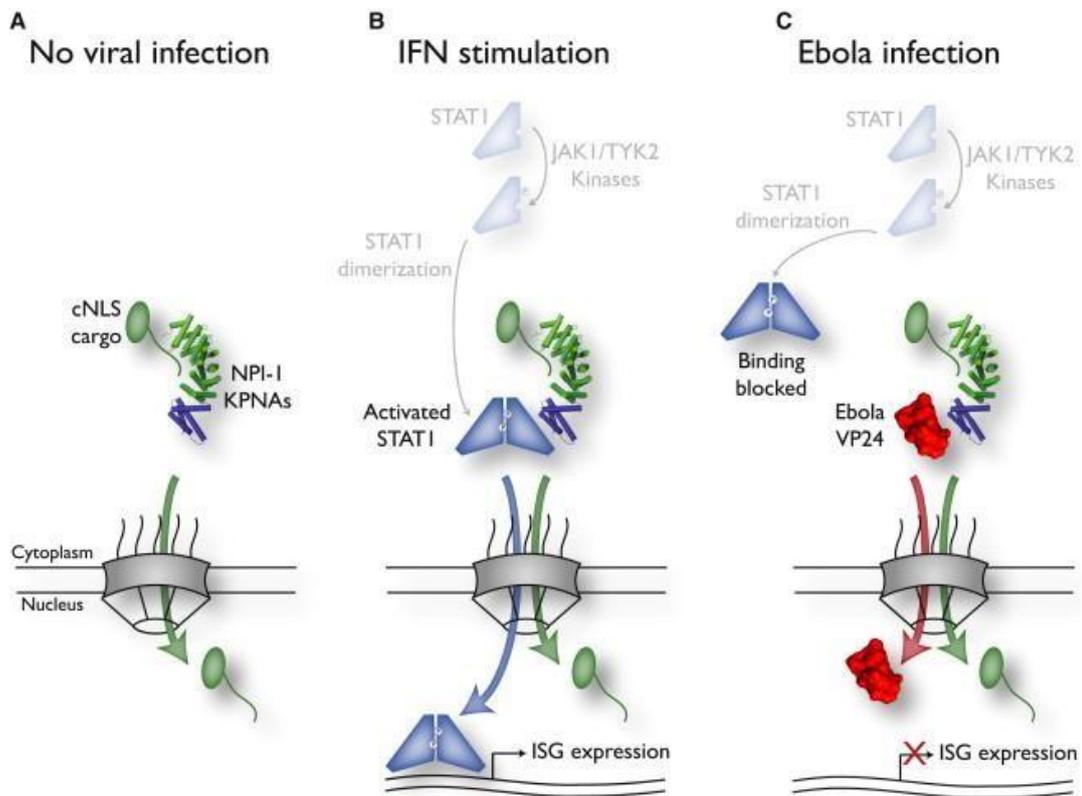


Figure I.7 Mécanisme d'échappement à l'effet antiviral des interférons.

La **Figure I.7** présente le mécanisme de blocage du transport de **STAT1** vers le noyau, qui entraîne un échappement à l'effet antiviral des interférons.

La **Figure I.7A**: présente le cas de l'absence d'infection virale. Il n'y a pas de transport de **STAT1** car pas de réponse antivirale nécessaire.

La **Figure I.7B**: présente le mécanisme de transport de **STAT1** vers le noyau, provoqué lors d'une infection virale quelconque. **STAT1** est phosphorylé, ce qui permet sa dimérisation. Il est ensuite lié à la karyophérine et transporté vers le noyau. Les **ISGs** pourront s'exprimer, ce qui entraînera une réponse antivirale.

La **Figure I.7C**: présente le cas de l'infection par le virus Ebola. L'intervention de la protéine **VP24** empêche la liaison de **STAT1** à la karyophérine et donc le transport de **STAT1** vers le noyau. Les **ISGs** ne pourront pas s'exprimer et la réponse antivirale ne pourra donc pas se mettre en place ²⁰.

Des études ont clairement identifié la capacité de la **VP24** à interagir avec les protéines **VP35** et **NP**, résultant en la formation de structures morphologiquement indifférenciables des **RNP** observées au cours de la réplication virale ²¹. L'identification des résidus de la **VP24** impliqués a

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

montré que les extrémités amino et carboxy-terminales de la **VP24** étaient indispensables pour former de telles structures ²². La mise au point des **VLP** infectieuses a permis d'identifier que la **VP24** était indispensable pour la formation de **RNP** fonctionnelles et qu'en absence de **VP24**, ces iVLP perdaient leur caractère infectieux ²³.

4. Cycle de réplication virale

Le cycle de réplication virale du virus Ebola est un processus complexe et destructeur. Le virus commence par envahir les cellules hôtes dans le corps humain, ciblant notamment les cellules du système immunitaire et les cellules tissulaires des organes. Une fois à l'intérieur de la cellule, le virus Ebola libère son matériel génétique constitué d'**ARN** à simple brin. Cet **ARN** viral est ensuite utilisé par la machinerie cellulaire pour produire des protéines virales. Ces protéines virales sont essentielles pour la formation de nouvelles particules virales. Les particules virales matures sont ensuite assemblées dans la cellule hôte et se propagent en infectant d'autres cellules (**Figure I.8**).

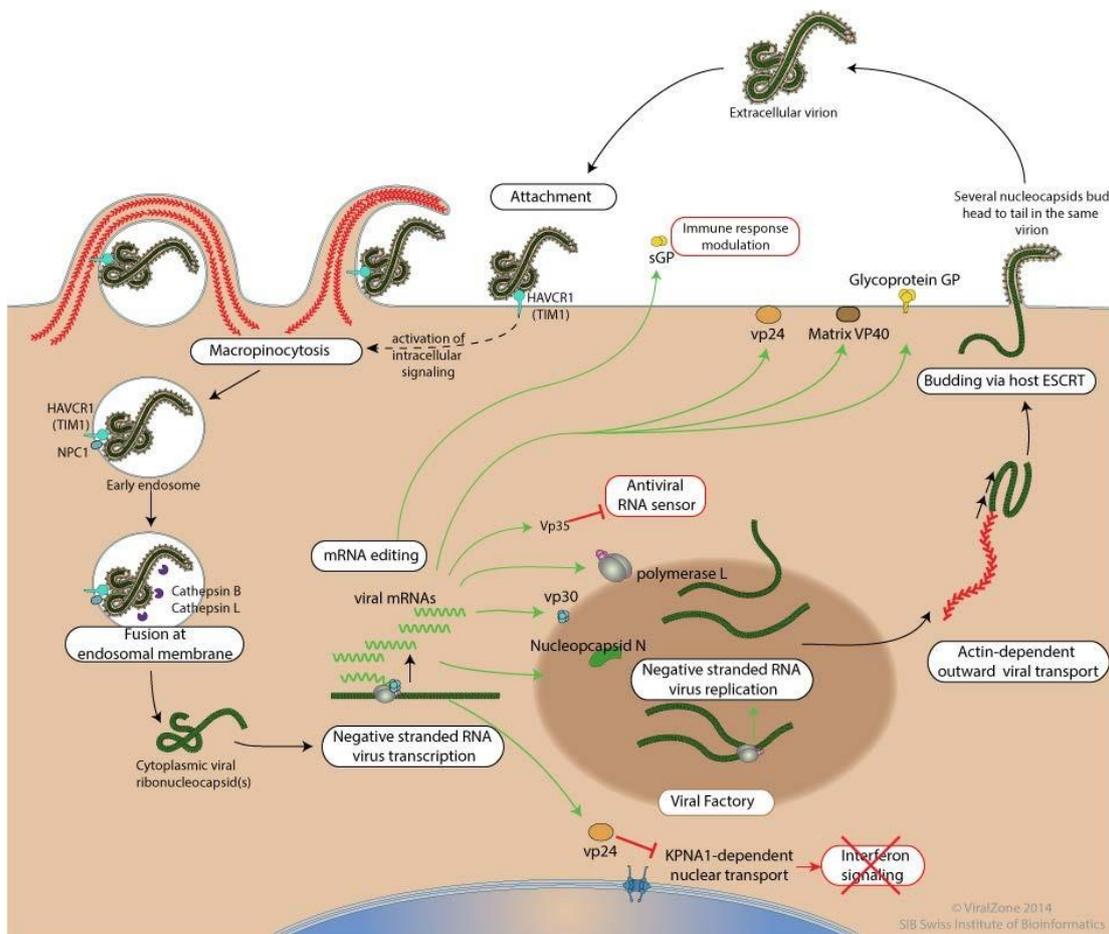


Figure I.8 La réplication du virus Ebola.

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

4.1. Entrée du virus dans la cellule hôte

Le virus entre dans la cellule hôte majoritairement via un mécanisme de macropinocytose. Concernant le mécanisme d'attachement du virus à la cellule hôte, deux particules virales de l'enveloppe du virus sont impliquées: la glycoprotéine **GP** (notamment la **GP1**) et les phosphatidylsérines ^{24,25}. Une fois que la glycoprotéine s'attache aux récepteurs, les virions pénètrent dans la cellule par endocytose suivi de la fusion du virus et de la membrane plasmique de l'hôte et de la libération du génome virale dans le cytoplasme ⁷.

4.2. Transcription et réplication

Lorsque le virus a libéré son matériel génétique et ses protéines dans le cytoplasme de la cellule hôte, la transcription et la réplication virale vont débiter. L'**ARN** viral génomique, de polarité négative, va être libéré du complexe ribonucléoprotéique (**RNP**) grâce à la protéine virale **VP35**. Cet **ARN** génomique viral (brin de sens négatif) va donc pouvoir être transcrit directement en **ARNm** qui sera traduits en protéines virales par la machinerie cellulaire ²⁴.

Lorsque le taux de **NP** néosynthétisée est trop élevé dans le cytoplasme il se produit un switch concernant l'activité du complexe enzymatique **NP-VP30-VP35-L** et celui-ci commence à répliquer l'**ARN** génomique en un brin « antisens » de polarité positive complémentaire. Ce brin d'**ARN** positif va alors servir de matrice à la synthèse de nouveaux génomes viraux d'**ARN** de polarité négative qui vont s'accumuler dans des « corps d'inclusion » puis vont être transportés jusqu'à la membrane plasmique pour former des nouvelles particules virales ⁹.

4.3. Assemblage et bourgeonnement du virus

Au niveau des corps d'inclusion, les nucléoprotéines et les protéines virales s'assemblent pour former des nucléocapsides et sont transportées jusqu'à la membrane plasmique. La façon dont la nucléocapside va se présenter sous la membrane cellulaire va déterminer la forme du virion (filament, U, six ou anneau) ⁹. La protéine de matrice **VP40** a un rôle majeur dans l'assemblage et la libération du virus Ebola, car son expression in vitro dans des cellules de mammifères entraine la libération de particules pseudo-virales filamenteuses. Elle va interagir avec la nucléocapside afin de l'acheminer à la membrane plasmique, et permettre son incorporation au sein du virion infectieux ^{26,27}.

En même temps, la protéine **GP2** va bloquer l'action de la téthérine, une protéine de surface cellulaire activée par les interférons alpha pour empêcher le bourgeonnement du virus à la surface de la cellule ²⁴. L'assemblage de plusieurs hexamères de **VP40** conduit à la formation de particules

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

pseudo-virales filamenteuses, apportant la force motrice nécessaire pour la courbure de la membrane plasmique nécessaire au bourgeonnement viral, avec l'aide des protéines de l'hôte ^{28,29}. Il a également été observé que les virus pouvaient bourgeonner à partir des endosomes tardifs et corps multivésiculaires à l'intérieur des cellules. Cela permet au virus d'utiliser une seconde voie d'infection des cellules voisines via les exosomes. Cette voie, bien que limitée, permet de répandre l'infection rapidement ²⁴.

5. La vaccination contre le virus Ebola

Face aux inquiétudes croissantes concernant la transmission du virus Ebola lors de l'épidémie 2013-2016 en Afrique de l'Ouest le développement et l'évaluation de vaccins candidats contre la MVE a été accéléré ². Avant de pouvoir être utilisés chez l'Homme, les vaccins devaient avoir montré une capacité à protéger face à une inoculation d'épreuve mortelle par Ebola chez les primates non humains et être produits dans le respect des bonnes pratiques de fabrication ³⁰.

5.1. Les différentes étapes de la commercialisation d'un vaccin

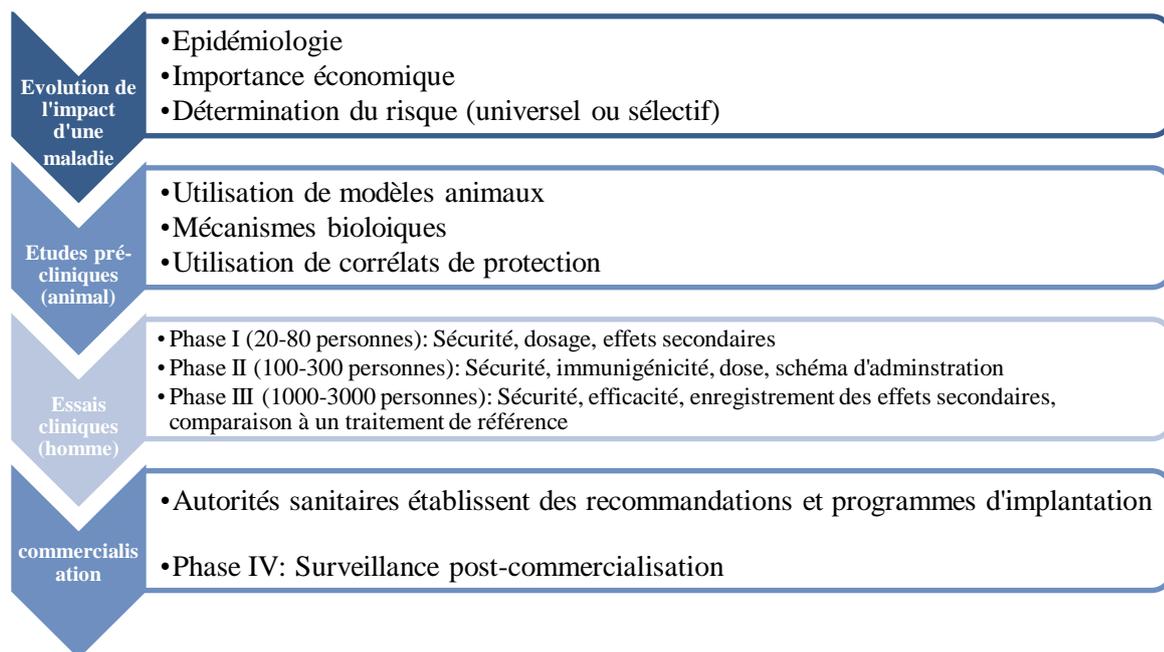


Figure I.9 Représentation schématique du processus de développement vaccinal, de l'évaluation du risque au programme d'implantation vaccinal.

5.2. Quelle cible antigénique choisir pour neutraliser le virus Ebola ?

La GP virale, protéine clé immunogène, est une protéine transmembranaire facilement accessible par le système immunitaire. Sa neutralisation par le système immunitaire empêche ainsi l'infection cellulaire et le cycle de réplication virale. Elle entraîne donc la production d'anticorps neutralisants ³¹. Les anticorps non neutralisants qui seraient impliqués dans la protection vaccinale,

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

faisant intervenir d'autres mécanismes de protection immunitaire. Néanmoins, l'utilisation de la **GP** comme antigène immunogène est nécessaire et suffisante à l'induction d'une immunité protectrice ³².

5.3. Les différents essais vaccinaux contre le virus Ebola

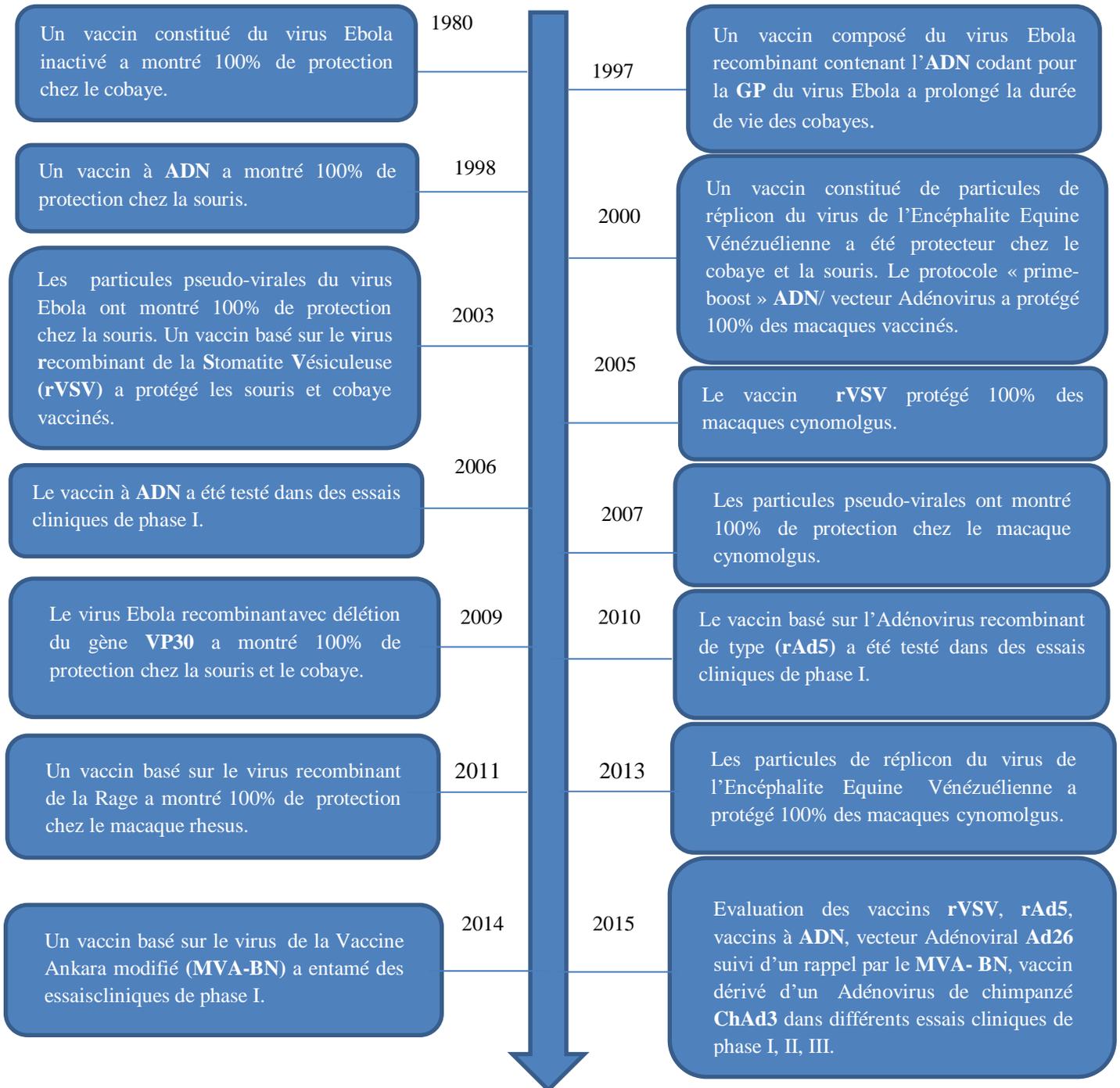


Figure I.10 Principales avancées scientifiques dans la découverte et la commercialisation d'un vaccin sûr et efficace contre le virus Ebola.

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

5.4. Vaccin ChAd3- ZEBOV

C'est un vaccin très prometteur. Il utilise l'adénovirus de chimpanzé de sérotype 3, rendu incapable de se répliquer, comme vecteur pour exprimer les glycoprotéines GP du virus Ebola, souche Zaïre et Soudan³³. Une étude sérologique en Europe montre un faible taux d'anticorps anti-ChAd3 dans la population générale. Les gènes E1 et E4 (indispensables à la réplication virale) ont été supprimés et une cassette du gène codant GP du virus Ebola Zaïre a été insérée à la place du gène E1³⁴.

Le développement de ce vaccin par le laboratoire GlaxoSmithKline s'est accéléré durant l'épidémie de 2014 et les premiers essais cliniques de phase I réalisés à l'Etats Unis et au Mali ont été encourageants. Dans ces deux études, des doses croissantes de vaccin ont été injectées dans plusieurs groupes. Une dose comprise entre 1 et $2 \cdot 10^{11}$ PFU (Plaque Forming Units) a permis d'obtenir une réponse immunitaire optimale (Figure I.11)³⁴. Les vaccins ChAd3-ZEBOV et rVSV-ZEBOV ont été évalués en parallèle dans le cadre du projet PREVAIL I au Libéria (PREVAIL I). Les données obtenues ont confirmé que les deux vaccins étaient immunogènes jusqu'à 12 mois et ne présentaient aucun effet indésirable majeur⁷.

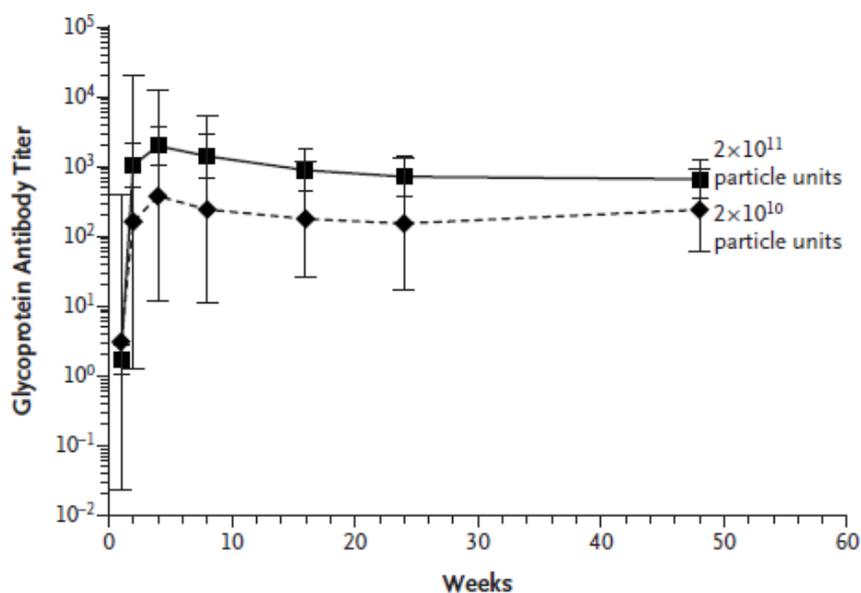


Figure I.11 Persistance du taux d'anticorps anti-GP mesurés par test ELISA, après injection du vaccin ChAd3-EBOVZ. Les taux d'anticorps anti-GP ont été évalués dans deux groupes de patients, l'un recevant une dose de 2×10^{10} PFU et l'autre 2×10^{11} PFU, pendant les 48 semaines suivant la vaccination. L'injection de 2×10^{11} PFU a permis d'obtenir la meilleure réponse immunitaire. Dans les deux cas, le taux maximal d'anticorps anti-GP a été obtenu à la 4ème semaine.

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

5.5. Association Ad26.ZEBOV et MVA-BN-Filo

C'est un vaccin qui utilise comme vecteur un adénovirus humain de type 26 et est évalué en essai clinique phase 1 selon la stratégie de primovaccination–rappel avec le vaccin **MVA–BN–Filo** exprimant la glycoprotéine du virus Ebola, du virus Soudan et du virus Marburg, et la nucléoprotéine du virus Tai Forest ⁷. Un essai clinique de phase I réalisé au Royaume Uni a été mené pour évaluer l'innocuité et l'immunogénicité de l'association de deux vaccins: **Ad26-ZEBOV** et **MVA-BN-Filo**, n'a entraîné aucun événement indésirable grave ³⁵.

5.6. Vaccin EBOVΔVP30

Le vaccin EBOVΔVP30 a été conçu de telle sorte que la région du génome codant pour la protéine **VP30**, impliquée dans la transcription, soit manquante. L'avantage d'une telle stratégie réside dans le fait qu'il présente au système immunitaire toutes les protéines virales ainsi que le génome du virus, permettant de déclencher une réponse immunitaire plus large et plus robuste. Le vaccin EBOVΔVP30 testé sur les primates a permis d'obtenir un taux de survie de 100% après inoculation du virus Ebola. Une seule injection est suffisante pour obtenir une réponse immunitaire suffisante. Etant donné qu'e le développement de ce vaccin repose sur le virus entier Ebola, la production doit se faire impérativement dans un laboratoire de niveau 3. Des tests plus poussés seront menés afin de mettre au point un vaccin efficace ³⁶.

5.7. Les vaccins à ADN

Des stratégies de vaccination génétique ont été élaborées pour activer les réponses immunitaires cellulaire et humorale. Née dans les années 1990, la technique d'« immunisation génétique » ou vaccins à **ADN** se révélait très prometteuse ³⁷. Il consiste en un plasmide bactérien dans lequel sont insérés les antigènes d'intérêt. Cet « **ADN** immunogène » est ensuite injecté par voie intramusculaire. Après pénétration dans les cellules près du point d'injection, il sera transcrit puis traduit et les antigènes d'intérêt seront alors présentés au système immunitaire (**Figure I.12**)³⁴.

Ces vaccins **ADN** vont activer les trois types de réponses immunitaires, la réponse T cytotoxique, T auxiliaire et humorale ³⁸. Ces vaccins ont déjà été évalués pour un certain nombre de maladies (**VIH**, hépatite B et C) et ont un bon profil d'innocuité, même si aucun n'est actuellement sur le marché. En revanche, la réponse immunitaire est faible et nécessite des doses vaccinales élevées et répétées ³⁴.

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

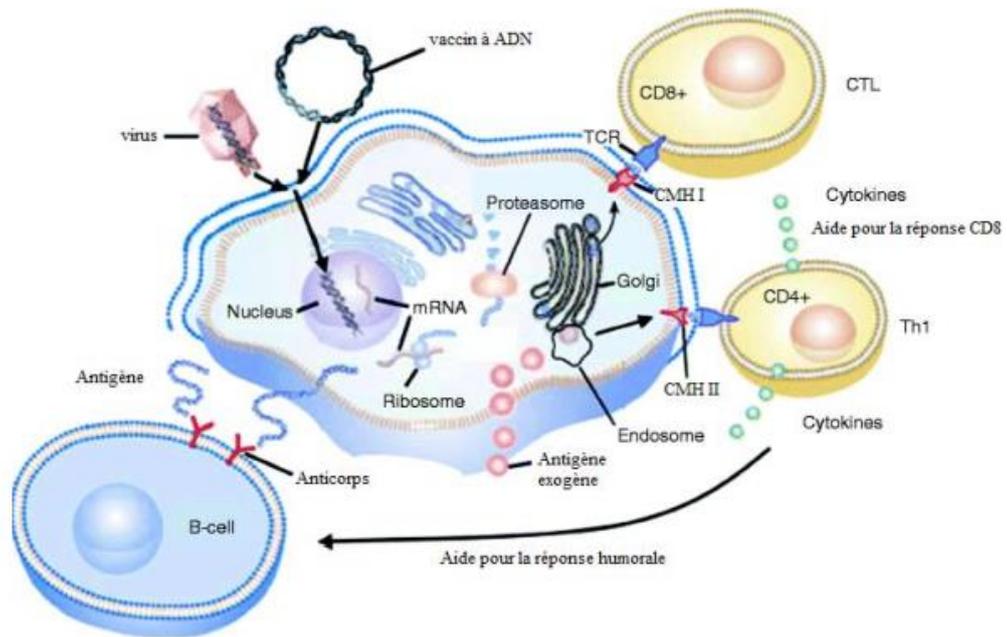


Figure I.12 Réponse immunitaire déclenchée par l'injection de vaccins à ADN.

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

Références bibliographiques

1. Martini, G. A. (1971). Marburg virus disease. Clinical syndrome (pp. 1-9). Springer Berlin Heidelberg.
2. Diallo, M. S. K. (2021). Modélisation statistique de la dynamique de l'infection par le virus Ebola en Guinée (Doctoral dissertation, Université Montpellier; Université Gamal Abdel Nasser (Conakry)).
3. Tara C. Smith. (2005). Ebola: Deadly Diseases and Epidemics. (pp. 9).
4. Fields BN, Knipe DM, Fields BN, Knipe DM. Fields virology / ed. in chief Bernard N. Fields,... David M. Knipe,... [Internet]. Raven press. New York; 1990 [cité 30 jan 2023]. 2 vol. (XIX-2336 83 p.); ill. 29 cm. Disponible sur: http://documentation.unicaen.fr/Default/doc/FLORA/204923/fields-virology_ed-inchief-bernard-n-fields-david-m-knipe.
5. Johnson, K.M. (1978). Ebola hemorrhagic fever in Zaire, 1976, Bulletin of the World Health Organization, 56(2), 271–293.
6. Smith, D.I.H. (1978). Ebola hemorrhagic fever in Sudan, 1976, Bulletin of the World Health Organization, 56(2), 247-270.
7. Mbala-Kingebeni, P. (2019). Virus Ebola à l'interface homme–faune sauvage et réservoir animal des virus Ebola en République Démocratique du Congo (Doctoral dissertation, Université Montpellier).
8. Médecine & Armées tome 44 n° 2 [Internet]. calameo.com. [cité 30 jan 2023]. Disponible sur: <http://www.calameo.com/books/000354785d82ddce716c4>.
9. Dimier, J. (2012). Développement d'un vecteur virus de la vaccine, répliatif et atténué, pour la vaccination antivariolique et pour la vaccination contre la fièvre hémorragique à virus Ebola (Doctoral dissertation, Grenoble).
10. Gouvernement du Canada Agence de la santé publique du Canada. Virus Ebola – Fiches techniques santé-sécurité: agents pathogènes [Internet]. 2001 [cité 31 jan 2023]. Disponible sur: <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/ebola-fra.php>.
11. Leroy, E., Baize, S., & Gonzalez, J. P. (2011). Les fièvres hémorragiques à virus Ebola et Marburg: l'actualité des filovirus. Médecine tropicale, 71(2), 111-121.

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

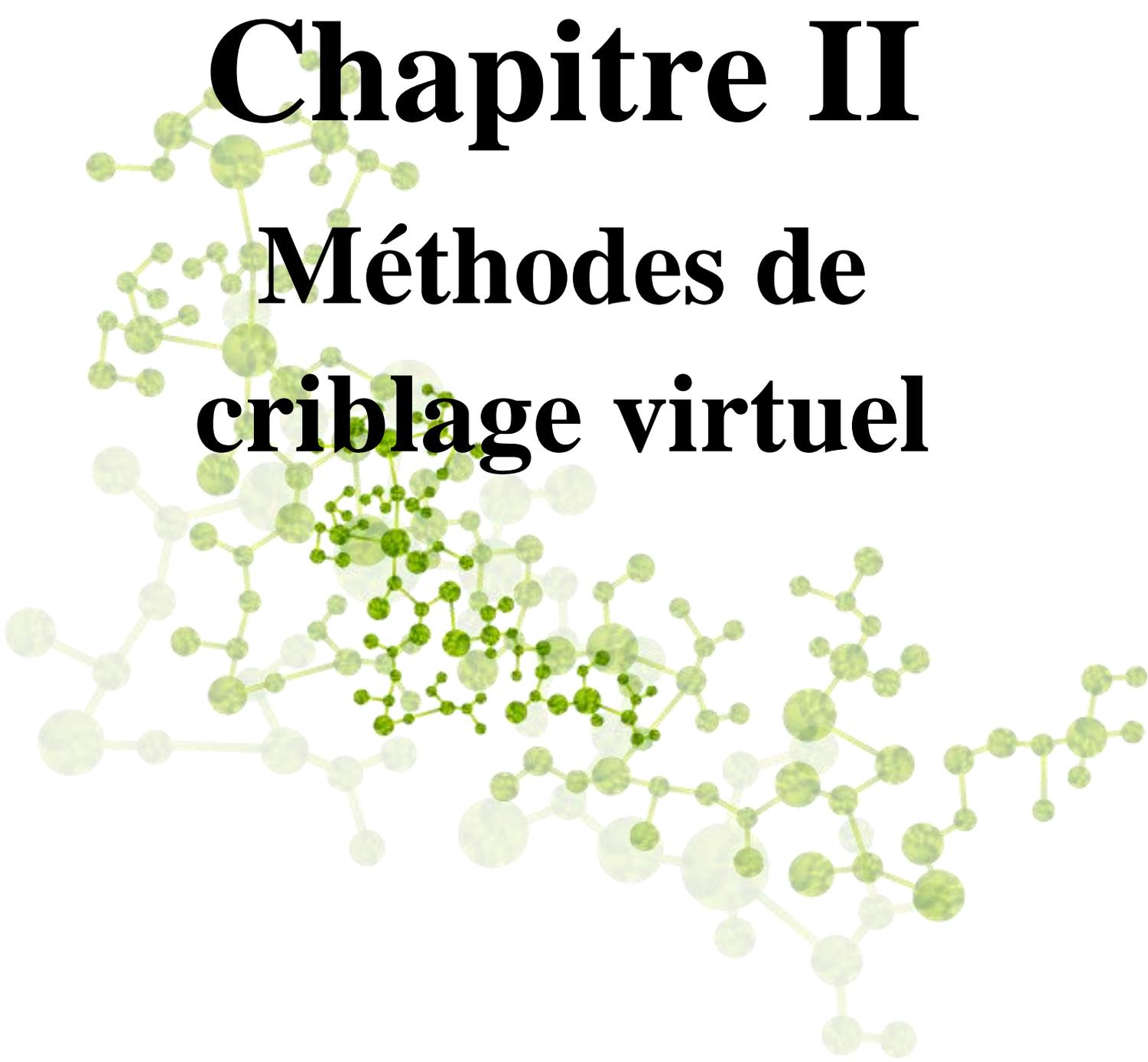
- 12.** Leroy, E., Baize, S., & Gonzalez, J. P. (2011). Les fièvres hémorragiques à virus Ebola et Marburg: l'actualité des filovirus. *Médecine tropicale*, 71(2), 111-121.
- 13.** Sanchez, A., Kiley, M.P., Holloway, B. P., Auperin, D.D. (1993). Sequence analysis of the Ebola virus genome: organization, genetic elements, and comparison with the genome of Marburg virus, *Virus research*, 29(3), 215-240.
- 14.** Elliott, L.H., Kiley, M.P., McCormick, J.B. (1985). Descriptive analysis of Ebola virus proteins, *Virology*, 147(1), 169-176.
- 15.** Zhang, A. P., Bornholdt, Z. A., Liu, T., Abelson, D. M., Lee, D. E., Li, S., ... & Saphire, E. O. (2012). The ebola virus interferon antagonist VP24 directly binds STAT1 and has a novel, pyramidal fold. *PLoS pathogens*, 8(2), e1002550.
- 16.** Wittmann, T. (2007). Analyse phylogénétique des souches du virus de la fièvre hémorragique Ebola et mise en évidence de souches atypiques. *Biologie moléculaire: Nancy*, 1, 273.
- 17.** Han, Z., Boshra, H., Sunyer, J. O., Zwieters, S. H., Paragas, J., & Harty, R. N. (2003). Biochemical and functional characterization of the Ebola virus VP24 protein: implications for a role in virus assembly and budding. *Journal of virology*, 77(3), 1793-1800.
- 18.** Hoenen, T., Groseth, A., Kolesnikova, L., Theriault, S., Ebihara, H., Hartlieb, B., ... & Becker, S. (2006). Infection of naive target cells with virus-like particles: implications for the function of ebola virus VP24. *Journal of virology*, 80(14), 7260-7264.
- 19.** Reid, S. P., Leung, L. W., Hartman, A. L., Martinez, O., Shaw, M. L., Carbonnelle, C., ... & Basler, C. F. (2006). Ebola virus VP24 binds karyopherin $\alpha 1$ and blocks STAT1 nuclear accumulation. *Journal of virology*, 80(11), 5156-5167.
- 21.** Huang, Y., Xu, L., Sun, Y., & Nabel, G. J. (2002). The assembly of Ebola virus nucleocapsid requires virion-associated proteins 35 and 24 and posttranslational modification of nucleoprotein. *Molecular cell*, 10(2), 307-316.
- 22.** Noda, T., Halfmann, P., Sagara, H., & Kawaoka, Y. (2007). Regions in Ebola virus VP24 that are important for nucleocapsid formation. *The Journal of infectious diseases*, 196(Supplement_2), S247-S250.

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

- 23.** Hoenen, T., Groseth, A., Kolesnikova, L., Theriault, S., Ebihara, H., Hartlieb, B., ... & Becker, S. (2006). Infection of naive target cells with virus-like particles: implications for the function of ebola virus VP24. *Journal of virology*, 80(14), 7260-7264.
- 24.** Yu, D. S., Weng, T. H., Wu, X. X., Wang, F. X., Lu, X. Y., Wu, H. B., ... & Yao, H. P. (2017). The lifecycle of the Ebola virus in host cells. *Oncotarget*, 8(33), 55750.
- 25.** L entrée du virus Ébola et Marburg : interaction entre la glycoprotéine virale et les facteurs cellulaires - PDF [Internet]. [cité 1 fev 2023]. Disponible sur: [http://docplayer.fr/35796479-L-entree-du-virus-ebola-et-marburg-interaction-entre-laglycoproteine virale-et-les-facteurs-cellulaires.html](http://docplayer.fr/35796479-L-entree-du-virus-ebola-et-marburg-interaction-entre-laglycoproteine-virale-et-les-facteurs-cellulaires.html).
- 26.** Noda, T., Ebihara, H., Muramoto, Y., Fujii, K., Takada, A., Sagara, H., et al. (2006). Assembly and budding of Ebolavirus, *PLoS Pathogens*, 2(9), e99.
- 27.** Noda, T., Sagara, H., Suzuki, E., Takada, A., Kida, H., Kawaoka, Y. (2002). Ebola virus VP40 drives the formation of virus-like filamentous particles along with GP, *Journal of virology*, 76(10), 4855-4865.
- 28.** Adu-Gyamfi, E., Soni, S.P., Xue, Y., Digman, M.A., Gratton, E., Stahelin, R.V. (2013). The Ebola virus matrix protein penetrates into the plasma membrane a key step in viral protein 40 (VP40) oligomerization and viral egress, *Journal of Biological Chemistry*, 288(8), 5779-5789.
- 29.** Bavari, S., Bosio, C.M., Wiegand, E., Ruthel, G., Will, A.B., Geisbert, T.W. et al. (2002). Lipid raft microdomains a gateway for compartmentalized trafficking of Ebola and Marburg viruses, *The Journal of experimental medicine*, 195(5), 593-602.
- 30.** OMS | Innocuité de 2 vaccins candidats contre le virus Ebola [Internet]. WHO. [cité 5 fév 2023]. Disponible sur: http://www.who.int/vaccine_safety/committee/topics/ebola/Jun_2015/fr/.
- 31.** Hevey, M., Negley, D., Geisbert, J., Jahrling, P., Schmaljohn, A. (1997). Antigenicity and vaccine potential of Marburg virus glycoprotein expressed by baculovirus recombinants, *Virology*, 239(1), 206-216.
- 32.** Krause, P.R., Bryant, P.R., Clark, T., Dempsey, W., Henchal, E., Michael, N.L., et al. (2015). Immunology of protection from Ebola virus infection, *Science translational medicine*, 7(286), 286ps11-286ps11.

Chapitre I : Généralités sur virus Ebola

- 33.** Sridhar, S. (2015). Clinical development of Ebola vaccines. *Therapeutic advances in vaccines*, 3(5-6), 125-138.
- 34.** Stanley, D.A., Honko, A.N., Asiedu, C., Trefry, J.C., Lau-Kilby, A.W., Johnson, J.C., et al. (2014). Chimpanzee adenovirus vaccine generates acute and durable protective immunity against ebolavirus challenge, *Nature medicine*.
- 35.** Schweneker M, Laimbacher AS, Zimmer G, Wagner S, Schraner EM, Wolferstätter M, et al. Recombinant Modified Vaccinia Virus Ankara Generating Ebola Virus-Like Particles. *J Virol* [Internet]. 12 mai 2017 [cité 6 févr 2023];91(11). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5432887/>.
- 36.** Marzi, A., Halfmann, P., Hill-Batorski, L., Feldmann, F., Shupert, W. L., Neumann, G., ... & Kawaoka, Y. (2015). An Ebola whole-virus vaccine is protective in nonhuman primates. *Science*, 348(6233), 439-442.
- 37.** Vaccins, A.D.N. (2007). L'apport des nouvelles technologies en vaccinologie, *médecine/sciences*, 23, 386-90.
- 38.** Dr. Gaüzière, Pr. Aubry. Maladie à virus Ebola - Cours de médecine tropicale [Internet]. 2016 [cité 5 févr 2023]. Disponible sur: <http://medecinetropicale.free.fr/cours/ebola.pdf>.



Chapitre II

Méthodes de criblage virtuel

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

1. 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 (**Figure II.1**)¹.

Le criblage virtuel est généralement utilisé en phase précoce de la recherche de médicament. En 1981 le magazine Fortune titrait « Next Industrial Revolution: Designing Drugs by Computer at Merck », soulignant le potentiel de ces nouvelles approches². Plus récemment, la capacité des méthodes de criblage virtuel à modéliser des interactions ligand/protéine a été utilisée dans le cadre de la prédiction d'effets indésirables en étudiant la capacité des molécules (médicaments ou perturbateurs endocriniens) à se lier à des cibles sensibles comme les récepteurs nucléaires, les cytochromes P450, le canal **hERG**, ou simplement des cibles autres que la cible principale³.

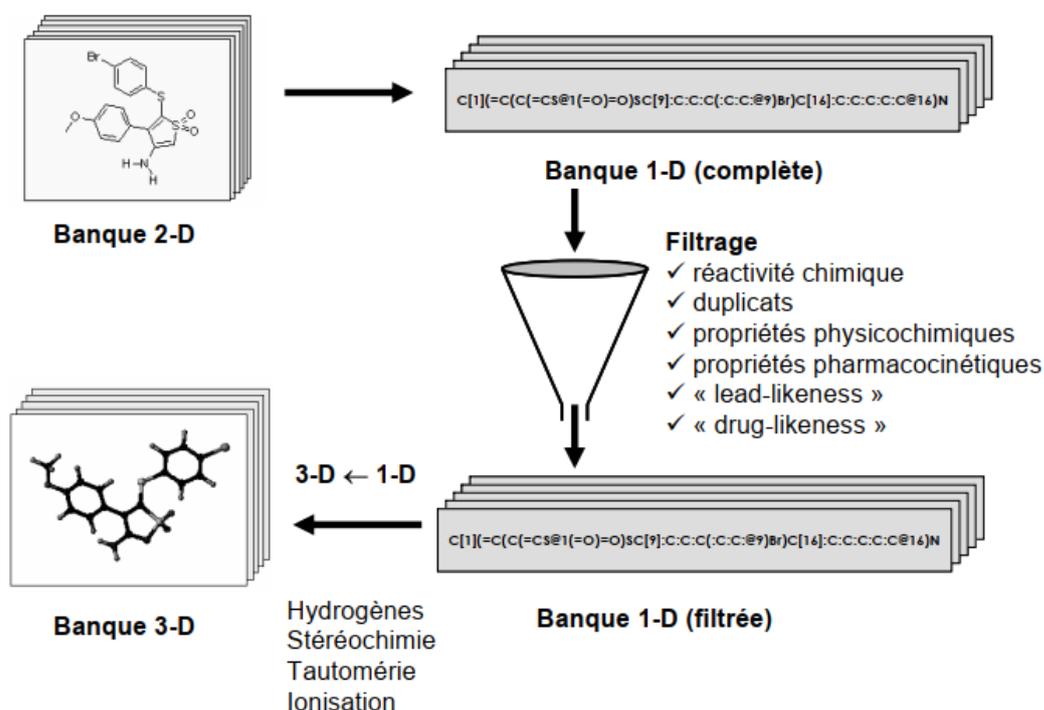


Figure II.1 Différentes phases de la préparation de la chimiothèque. Les termes « lead-likeness » et « drug-likeness » désignent les propriétés admises généralement (selon des modèles statistiques) pour être des têtes de séries (lead) ou des médicaments (drug).

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

2. Objectif du criblage virtuel

Le développement d'un nouveau médicament prend de l'ordre d'une dizaine d'années et passe par plusieurs phases. Dans la phase de découverte, l'activité des composés chimiques sur une cible biologique est mesurée afin de mettre en évidence une action inhibitrice. Le développement d'approches *in silico* pour le criblage virtuel des composés chimiques est une alternative aux approches classiques *in vitro* beaucoup plus coûteuses à mettre en œuvre. L'utilisation de la grille a été identifiée comme une voie économiquement prometteuse pour accompagner la recherche de nouveaux médicaments ⁴.

Le criblage virtuel a pris une importance croissante dans les processus de conception de médicaments, largement appuyé par les progrès en informatique et bioinformatique (architecture et logiciels) ⁵. Analogie *in silico* du **HTS**, le criblage virtuel a pour objectif de filtrer de larges chimiothèques de composés (10^5 à 10^7) afin de procéder à des **HTS** optimaux, comportant moins de composés (10^0 à 10^4) et supposément plus aptes à générer des « hits ». Les protocoles établis permettent d'éliminer les composés supposés inactifs ou indésirables du fait de leurs propriétés pharmacologiques et sélectionneront les composés supposés actifs en leur attribuant de hauts scores d'affinité à la cible ^{5,6}.

3. Les stratégies de criblage virtuel

Les techniques de criblage virtuel sont basées sur la nature des informations expérimentales disponibles concernant le système étudié (**Figure II.2**), qui peuvent être la structure de la cible appelées méthodes **Structure Based (SB)**, ou la structure du ligand appelées méthodes **Ligand Based (LB)** ⁷.

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

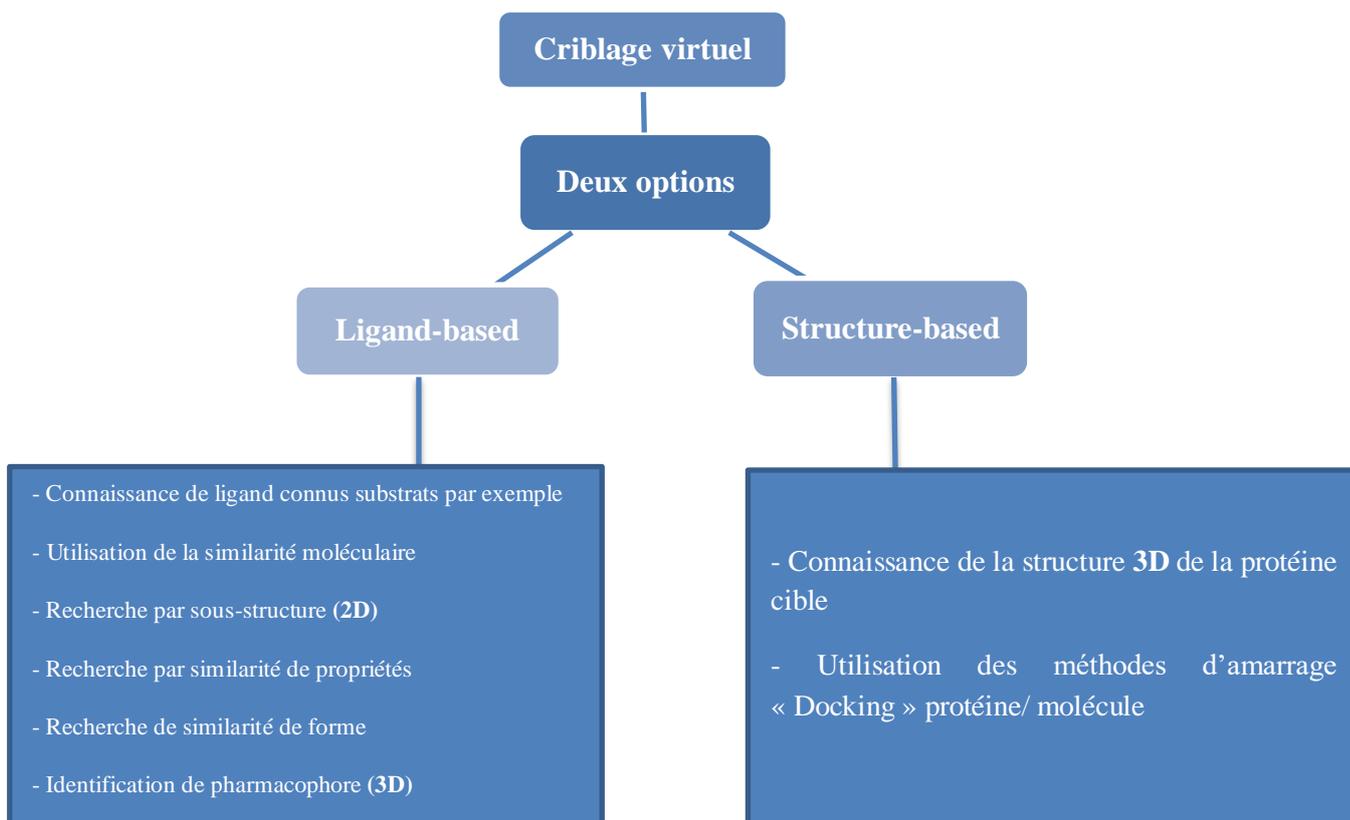


Figure II.2 Les stratégies du criblage virtuel.

3.1. Criblage virtuel basé sur la structure de ligand

L'approche "ligand-based virtual screening" utilise des molécules connues pour être actives sur la protéine cible comme références pour déterminer les propriétés physicochimiques et les fragments responsables de leur activité et affinité avec le récepteur ⁸. Le principe de base commun à toutes les méthodes basées sur les ligands est que des molécules similaires vont avoir tendance à présenter des profils d'activité similaires. La similarité des molécules peut se mesurer par recherche de propriétés communes entre ces différentes molécules actives et de les exprimer sous forme de modèles pharmacophoriques ou en d'équations mathématiques (méthodes **QSAR**) ⁹.

3.2. Criblage virtuel basé sur la structure de la cible

Avec le nombre croissant des structures de protéines enregistrées au niveau de la **Protein Data Bank (PDB)**, les méthodes **SB** se positionnent aussi comme un outil valide en toxicité in silico ¹⁰. Elle repose sur les connaissances de la structure tridimensionnelle de la cible biologique. Ces connaissances sont obtenues par des méthodes expérimentales telles que la cristallographie par rayons X et la spectroscopie par **Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)** ¹¹.

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

Les structures obtenues par cristallographie à rayons X ont l'avantage d'être d'une bonne résolution (78% de structures ont une résolution inférieure à 2.5 Å). Inversement, la RMN permet d'obtenir un ensemble de conformations illustrant la dynamique et la flexibilité d'une protéine en phase aqueuse¹². La **Protein Data Bank (PDB)** regroupe et met à disposition ces structures, dont le nombre augmente de manière stable et exponentielle depuis 1990 (**Figure II.3**). Cette base de données comporte aujourd'hui plus de 110.000 structures cristallographiques et croît de manière stable, doublant de volume tous les 4 à 6 ans¹³. La plus grande disponibilité des structures a ainsi permis l'essor des méthodes de criblage « structure-based »¹⁴. La méthode de criblage basé sur la structure la plus communément utilisée est l'amarrage moléculaire, plus souvent appelé Docking¹⁵.

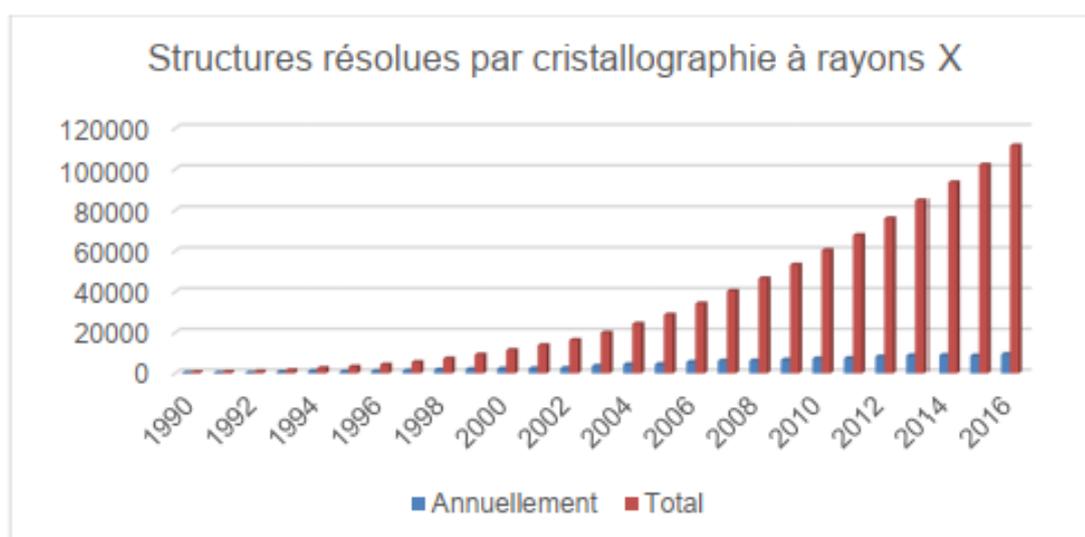


Figure II.3 Nombre de structures résolues par cristallographie à rayons X et déposées dans la **PDB** entre 1990 et 2016.

4. Le Docking moléculaire

L'arrimage moléculaire, ou Docking suivant le terme anglo-saxon est la méthode de criblage basée sur la structure la plus utilisée depuis les années 1980¹⁶. Il peut être utilisé pour modéliser les interactions entre une petite molécule et le récepteur, généralement de nature protéique, au niveau atomique et ainsi permettre de comprendre le mode de liaison de la petite molécule et d'élucider des processus biologiques fondamentaux¹⁵. Les premiers programmes de Docking ont été basés sur le concept de la clef-serrure (**Figure II.4**), introduit par Emile Fisher en 1894. Selon lequel le ligand et la protéine sont considérés comme des corps rigides capables d'interagir lorsqu'ils présentent une complémentarité structurale parfaite¹⁷.

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

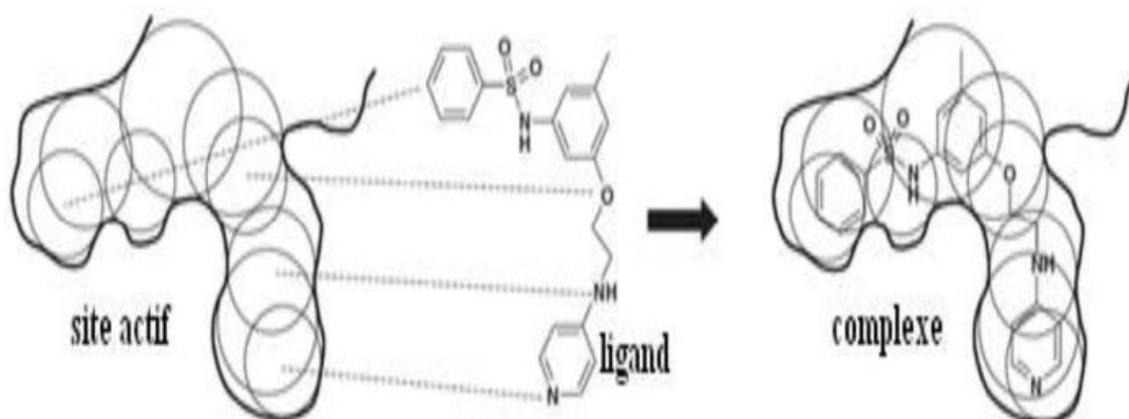


Figure II.4 Le concept clé-Serrure.

4.1. Méthodes de Docking moléculaire

On va distinguer trois méthodes de Docking:

✚ Docking avec ligand rigide

Jusqu'au milieu du XXe siècle, le mécanisme de liaison d'un ligand à une protéine était compris comme un processus statique impliquant deux formes stériques complémentaires (concept « clé-serrure ») ¹⁸. Les premières approches de Docking furent développées selon ce modèle, en considérant les molécules et le site de liaison de la protéine cible comme des entités rigides ¹⁶. Seuls les 6 degrés de liberté de translation et rotation sont explorés pour le ligand, c'est à dire que le ligand peut subir des translations et des rotations dans chacune des trois dimensions ¹⁹.

✚ Docking avec ligand flexible

Dans le Docking flexible, le ligand et la protéine sont flexibles. En réalité, une protéine peut être très flexible et exister dans des états transitoires variés, dont certains seront plus aptes à amorcer la liaison d'un ligand donné. Ce mécanisme est aujourd'hui connu et accepté sous le nom de sélection de conformation « conformational selection » ²⁰. Inversement, un ligand peut induire une modification du récepteur, ce mécanisme est connu sous le nom d'effets « induced-fit » ²¹. De nouvelles méthodes de Docking ont ainsi été développées afin de prendre en compte ces mécanismes de flexibilité, à la fois des molécules et de leurs récepteurs ²².

✚ Docking semi-flexible

Le Docking semi-flexible, où seule la flexibilité du ligand est traitée, le récepteur restant rigide. Ainsi, l'échantillonnage des degrés de liberté du ligand s'ajoutent aux explorations translationnelles et rotationnelles. Ce type de Docking repose sur l'hypothèse sommaire que la conformation du récepteur utilisée est apte à reconnaître le ligand. Les approches de Docking semi-

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

flexible ou flexible sont plus généralement appliquées à la modélisation d'interaction entre protéines et petites molécules ²³.

4.2. Les interactions protéine-ligand

Le Docking in silico rend possible l'identification des interactions qui existent dans l'entité constituée à partir d'une protéine et d'un ligand. Il vise à prédire le positionnement le plus probable en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations qui favoriseraient la formation du complexe le plus stable ²⁴. Le Docking moléculaire est 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:

⊗ Interactions de van der Waals

Ce sont des interactions de faible intensité entre dipôles électriques et donnent un dipôle instantané qui se forme grâce à la différence des électronégativités, ce qui donne des pôles positifs et négatifs ²⁵. Leur importance provient du nombre cumulé de liaisons créées ²⁶. Ce type d'interactions existe entre les molécules polaires caractérisées par un moment dipolaire non nul et elles s'appliquent à très courte distance donc ne concernent que les atomes de surface ²⁵.

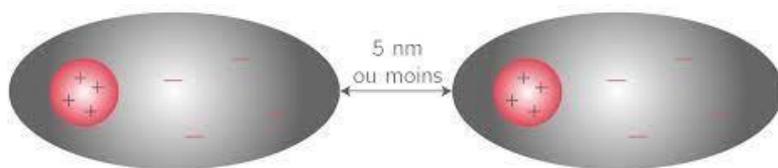


Figure II.5 Interaction de van der Waals.

⊗ Liaisons hydrogènes

Cette liaison intervient lorsqu'un atome d'hydrogène lié à un atome électronégatif (le donneur) est attiré par un autre atome électronégatif (l'accepteur) ²⁶. Elle est de très faible énergie et agit à très faible distance ²⁷.

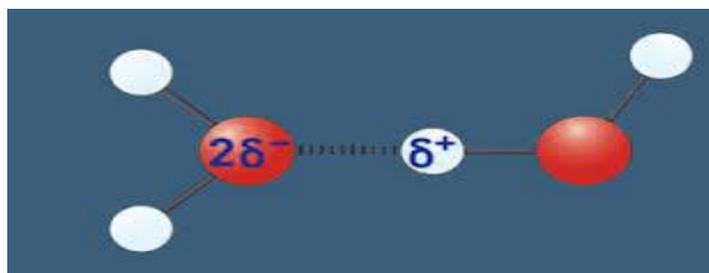


Figure II.6 Liaison hydrogène.

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

❁ 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 ²⁶.

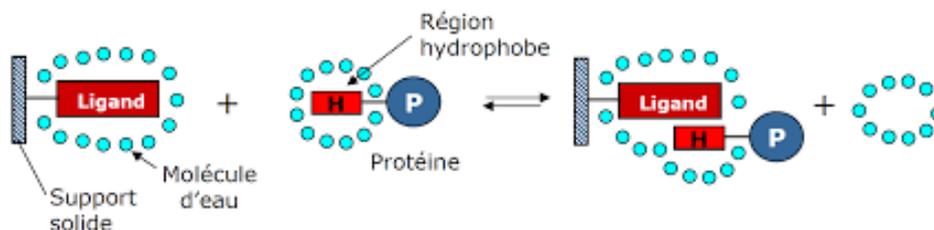


Figure II.7 Interaction hydrophobe.

❁ Interactions électrostatiques

Les groupements fonctionnels chargés des acides aminés agissent à longue distance pour donner naissance à des interactions électrostatiques ²⁸.

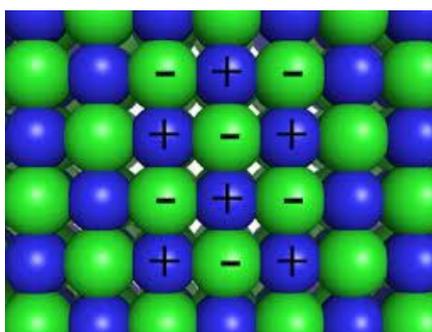


Figure II.8 Interactions électrostatiques.

5. Les étapes de Docking moléculaire

La méthode de Docking s'accomplit en deux étapes complémentaires (**Figure II.9**). La première appelée la recherche conformationnelle consiste à prédire les orientations adoptées par le ligand lors de l'arrimage dans le récepteur sont explorées par un algorithme de recherche ²⁹. La deuxième étape consiste à calculer un score pour chaque pose générée, les poses associées aux meilleurs scores sont celles qui seraient les plus probables pour le ligand étudié ³⁰.

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

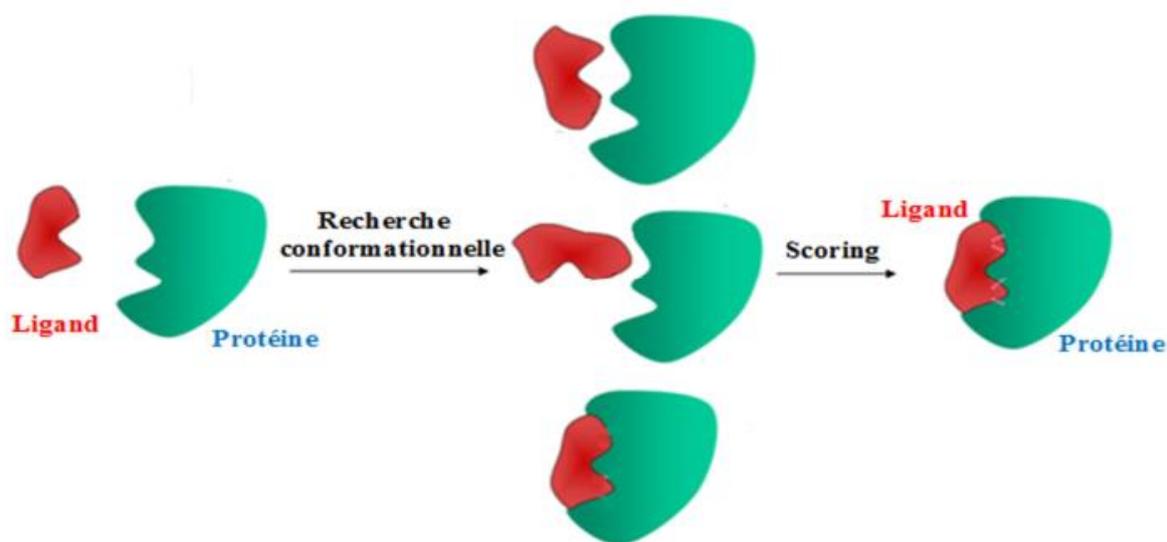


Figure II.9 Représentation schématique des étapes du Docking moléculaire.

5.1. La recherche conformationnelle

Il existe plusieurs méthodes de recherche de l'espace conformationnel, celles basées sur la complémentarité géométrique et celles fondées sur la complémentarité atomique. Elles utilisent différents algorithmes afin de trouver le meilleur positionnement du ligand au sein de la cavité enzymatique ²⁹. Le principal problème de l'approche de Docking est de prendre en compte la flexibilité des deux entités. Lors de l'interaction d'un ligand avec sa protéine cible, ils peuvent subir des translations et des rotations dans l'espace et par conséquent le déplacement d'un groupe d'atomes grâce à leurs liaisons flexibles, plus le nombre de ce type de liaisons n'augmente plus le degré de liberté et le nombre de conformations générées par les deux molécules augmentent ³¹.

5.2. Scoring

C'est l'étape de classement, elle permet d'évaluer les conformations obtenues lors de la première étape par le calcul de l'énergie libre qui résulte du passage du ligand et de la protéine de la forme libre vers la formation d'un complexe ³². La prédiction de l'énergie de liaison est réalisée en évaluant les phénomènes physico-chimiques les plus importants impliqués dans la liaison ligand-récepteur, notamment les interactions intermoléculaires, la désolvatation et les effets entropiques ³³.

6. Les fonctions de scores

Les fonctions de score jouent un rôle majeur dans le Docking en permettant le classement final des poses proposées lors de l'échantillonnage. Une fonction de score idéale devrait permettre de calculer l'énergie libre de liaison d'une petite molécule sur une protéine ³⁴. Il existe des 4 types

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

de fonctions de score (empiriques, basées sur la connaissance ou encore basées sur les champs de forces et consensus) qui permettent d'estimer l'affinité d'une molécule pour la cible étudiée. Ces fonctions de score partagent un objectif commun : être capables de discriminer les bonnes poses des mauvaises et les molécules actives des inactives ³⁵.

6.1. Fonctions de score basées sur le champ de force

Les fonctions de score basées sur les champs de force déterminent la somme de l'énergie d'interaction ligand-récepteur, de l'énergie interne du ligand et de l'énergie interne de la protéine ³⁶. Ce groupe de fonctions de score permet d'estimer l'énergie de liaison en additionnant les contributions des termes de liaisons reliés aux interactions covalentes dites liées (étirement de la liaison, flexion de l'angle et variation du dièdre) et les termes non liés (interactions électrostatiques et de van der Waals) ³⁷.

Elle utilise un calcul indépendant de l'énergie d'interaction récepteur-ligand et des énergies internes de la molécule et de la protéine cible. Cette procédure est notamment intéressante pour l'implémentation de logiciels de Docking puisque la majorité d'entre eux utilise une unique conformation de la protéine cible, ce qui accélère les calculs de scores ³⁸.

6.2. Fonctions de score empiriques

Les fonctions de score empiriques sont conçues pour reproduire des valeurs d'affinité expérimentales en utilisant des termes pondérés et calibrés par des méthodes de régression statistique ou d'apprentissage sur des données de complexes protéine-ligand Co-cristallisés ³⁹. Ensuite, les constantes (ou poids) générées par le modèle statistique sont utilisées comme coefficients pour ajuster les termes de l'équation. Chaque terme de la fonction décrit un type d'évènement physique impliqué dans l'interaction ligand-récepteur tel que les liaisons hydrogènes, les interactions polaires ou encore les effets désolvatation ⁴⁰.

L'intérêt de ses fonctions de score empiriques réside dans leur double simplicité : leur forme est généralement plus simple que celles basées sur les champs de force et les termes constituant ces fonctions sont aisément évaluables ³⁹. Un problème de ces fonctions est leur dépendance aux jeux de données moléculaires utilisés pour leur construction ⁴¹.

6.3. Les fonctions de score basées sur la connaissance ou « knowledge-based »

Cette méthode aussi appelée "potentiel statistique" utilise des potentiels d'énergie calculés à partir des paires ligand-récepteur issues de la **PDB** ⁴². Ces potentiels sont construits en tenant compte de la fréquence à laquelle une paire d'atomes ligand/protéine se trouve à une distance donnée dans l'ensemble de données structurales ⁴³. Ces données permettent d'obtenir des potentiels

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

d'énergie distance-dépendants pour chaque type de chaque paire atomique. Un score d'interaction peut ensuite être donné par la somme des potentiels énergétiques attribués à chaque contact interatomique entre une molécule et son récepteur ⁴⁴.

Contrairement aux méthodes précédentes, les fonctions basées sur la connaissance ne reposent pas sur la reproduction des affinités de liaison (méthodes empiriques) ni sur des calculs *ab initio* (méthodes de champ de force). Elles constituent ainsi un bon équilibre entre précision et rapidité. Elles demeurent toutefois dépendantes de la qualité de résolution des complexe ligand-récepteur ⁴³.

6.4. Fonctions de score consensus

Les fonctions de score consensus permettent de combiner les informations de différentes fonctions de score pour compenser leurs imperfections individuelles et ainsi améliorer la qualité de la prédiction des poses correctes ⁴¹. L'hypothèse sous-jacente est que la probabilité qu'une molécule soit active doit augmenter si cette molécule est associée à de bons scores d'affinité selon plusieurs fonctions de score. De plus, puisque les fonctions de score prennent en compte différents aspects des interactions récepteur-ligand, celles-ci peuvent se compléter pour mieux décrire une interaction⁴⁵.

Les fonctions de score peuvent être combinées de diverses manières pour créer une fonction consensus. Ainsi, dans l'approche de classement par le nombre « rank by number », une moyenne des scores fournis par chaque fonction de score à combiner est réalisée ⁴⁶.

7. Logiciels de Docking moléculaire

Au fil des années, on note l'apparition d'un nombre important de programmes de Docking moléculaire avec une grande diversité des algorithmes de recherche et des fonctions de score (**Tableau II.1**). Parmi les nombreux logiciels disponibles, AutoDock, **GOLD** ou **GLIDE** ont été utilisés dans plus de 50% des études de Docking publiées entre 1990 et 2013. Une liste exhaustive des logiciels de Docking a été compilée en 2015 par Chen ⁴⁷.

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

Tableau II.1 Principaux logiciels permettant la mise en œuvre de Docking rigide ou flexible de molécules.

Logiciel	Récepteur flexible	Algorithme de recherche conformationnelle	Algorithme de recherche de pose	Fonction de score
DOCK v6	Oui	Systematique	Fragmentation reconstruction	Basée sur un champ de force
FlexX	Non	Systematique	Fragmentation reconstruction	Basée sur les connaissances
Surflex-dock	Non	Systematique	Fragmentation reconstruction	Empirique
PSI-DOCK	Non	Stochastique	Génétique Tabou	Empirique
AutoDock	Oui	Stochastique	Génétique	Basée sur un champ de force
GOLD	Oui	Stochastique	Génétique	Basée sur un champ de force
GLIDE	Non	Stochastique	Monte Carlo	Empirique
FRED	Non	Systematique	Exhaustif	Empirique
ICM	Oui	Stochastique	Monte Carlo	Basée sur un champ de force / Empirique
MCDOCK	Non	Stochastique	Monte Carlo	Basée sur un champ de force
ProDOCK	Oui	Stochastique	Monte Carlo	Basée sur un champ de force
AADS	Non	Stochastique	Monte Carlo	Basée sur les connaissances
QXP	Non	Stochastique	Monte Carlo	Basée sur un champ de force
ParDock	Non	Stochastique	Monte Carlo	Basée sur un champ de force
DockVision	Non	Stochastique	Monte Carlo	Basée sur un champ de force

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

8. Les paramètres de « DRUG-LIKENESS »

Drug-likeness d'un composé est un facteur clé au cours des phases initiales de la découverte d'un médicament. Il peut être défini comme la similitude entre les composés et les médicaments ⁴⁸. L'expression « drug-like » est de plus en plus répandue. Les composés drug-like sont des molécules qui contiennent des groupes fonctionnels et/ou ont des propriétés physiques compatibles avec la majorité des médicaments connus, et peuvent donc être déduits comme des composés qui pourraient être actifs biologiquement ou pourraient présenter un potentiel thérapeutique ⁴⁹.

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 ⁵⁰.

8.1. Règle de LIPINSKI

Lipinski proposé ce qu'on appelle couramment la « règle de Lipinski » ou la « règle de 5 ». La définition de cette règle repose sur la recherche de propriétés communes à 2245 molécules extraites du **WDI (World Drug Index)** ayant au moins atteint la phase II des essais cliniques et donc présentant a priori de bonnes valeurs de solubilité et de perméabilité intestinale ⁵¹.

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 ⁵²:

- ✓ Le poids moléculaire ne doit pas être supérieur à 500 daltons ;
- ✓ Le coefficient de partition (logP) doit être ≤ 5 ;
- ✓ Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être ≤ 5 ;
- ✓ Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être ≤ 10 ;

8.2. Règle de VEBER

Par la suite, d'autres critères ont été mis en place pour compléter et ajuster les règles de Lipinski dans la sélection de composés « drug-like ». Ainsi, Veber proposé une simplification des règles de « Lipinski » après analyse des données pharmaco-cinétiques chez le rat pour 1100 candidats médicaments issus de la base de données de biodisponibilité orale SmithKline Beecham ⁵³. il existe deux descripteurs identifiés par Veber:

- ✓ Le nombre de liaisons de rotation (**NRB**) est < 10 ;

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

- ✓ La surface polaire de la molécule (TPSA) est $< 140 \text{ \AA}^2$.

Tableau II.2 Valeurs utilisées dans les différents filtres permettant la sélection de molécules ou fragments aux propriétés pharmacocinétiques « drug-like ».

Propriétés physico-chimiques	« Drug-likeness »	
	Règle de Lipinski	Règle de Veber
Poids moléculaire (en Da)	≤ 500	-
Lipophilie (logP)	≤ 5	-
Nombre de donneurs de liaisons hydrogènes (DLH)	≤ 5	-
Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogènes (ALH)	≤ 10	-
Aire de la surface polaire	-	$\leq 140 \text{ \AA}^2$
Nombre de liaisons rotatives	-	≤ 10

9. Filtres ADME-Tox

Dans les années 1990, les échecs dans le développement de médicaments étaient principalement la conséquence de mauvaises performances pharmacocinétiques. Ce problème a été en grande partie résolu grâce à l'utilisation d'un filtrage précédant l'utilisation des chimiothèques, réduisant les taux d'échec dans les phases de développement. Les filtres de type **ADME-Tox** (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination et Toxicité) sont rapidement devenus populaires ⁵⁴.

C'est un concept important qui décrit l'impact potentiel d'un produit chimique ou d'un médicament sur un système vivant dans le contexte de la biologie cellulaire et de la biochimie. En effet, le mouvement et le métabolisme des molécules sont déterminés par les propriétés physico-chimiques de la molécule ainsi que du système hôte ^{55,56}. L'évaluation des propriétés **ADME** des candidats-médicaments doit être faite à un stade précoce de la découverte d'un médicament permettant un gain de temps et d'argent ⁵⁵.

9.1. Absorption

L'absorption est l'incorporation d'un médicament par l'organisme. Après administration orale, la phase d'absorption est le processus par lequel le médicament inchangé passe de son site d'administration à la circulation générale ⁵⁵. Après la désagrégation de la forme galénique et la dissolution du principe actif dans les sucs digestifs, le médicament va devoir traverser les cellules

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

épithéliales via des mécanismes de transport paracellulaire (entre les cellules) ou transcellulaire (à travers les cellules) (**Figure II.10a**). 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 (transport facilité ou actif) et dans certains cas des vésicules (transcytose) pour les molécules hydrophiles ou de poids moléculaire plus élevé ⁵⁷⁻⁵⁹. Ainsi, la solubilité, la lipophilie ou encore le pKa sont les principales propriétés physicochimiques qui influencent l'absorption d'une molécule dans l'organisme.

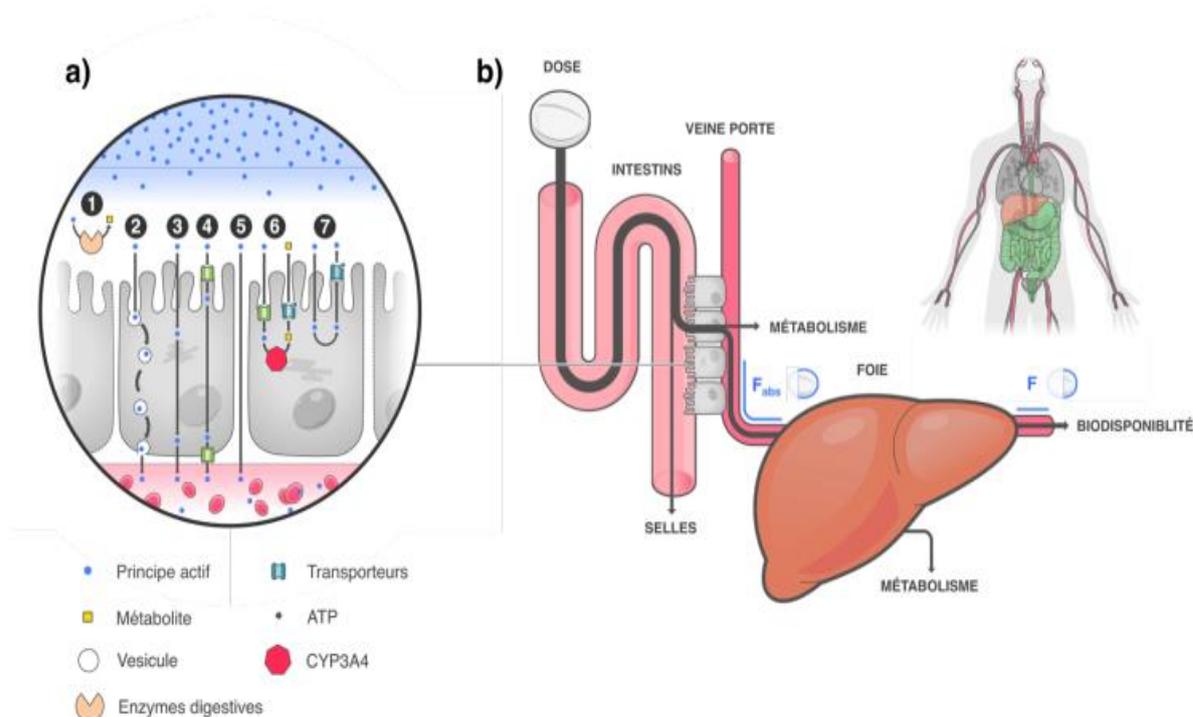


Figure II.10 Vue d'ensemble des phénomènes qui interviennent lors de la phase d'absorption. **a)** Illustration des mécanismes enzymatiques et des mécanismes de transport mis en œuvre lors du passage des cellules épithéliales: **1)** Hydrolyse enzymatique ; **2)** Transcytose ; **3)** Diffusion passive ; **4)** Transport actif via un transporteur (mécanisme d'influx) ; **5)** Mécanisme paracellulaire ; **6)** Métabolisme via le **CYP3A4** ; **7)** Mécanisme d'efflux via les transporteurs P-gp. **b)** Schéma global de la phase d'absorption suite à une administration par voie orale.

9.2. Distribution

La phase de distribution regroupe les phénomènes impliqués dans le transport via la circulation sanguine et le partage du médicament entre le sang et les différents tissus de l'organisme (**Figure II.11**) ⁶¹. Les variations de distributions des molécules sont déterminées en

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

grandes partie par leur capacité à traverser les membranes et leur solubilité dans les lipides/eau
Trois mesures permettent de prédire le volume de distribution d'une nouvelle molécule ⁶²:

- ✓ Liaison aux protéines plasmatiques humaines ;
- ✓ Log D expérimentale: le coefficient de distribution ;
- ✓ pka : constante d'équilibre.

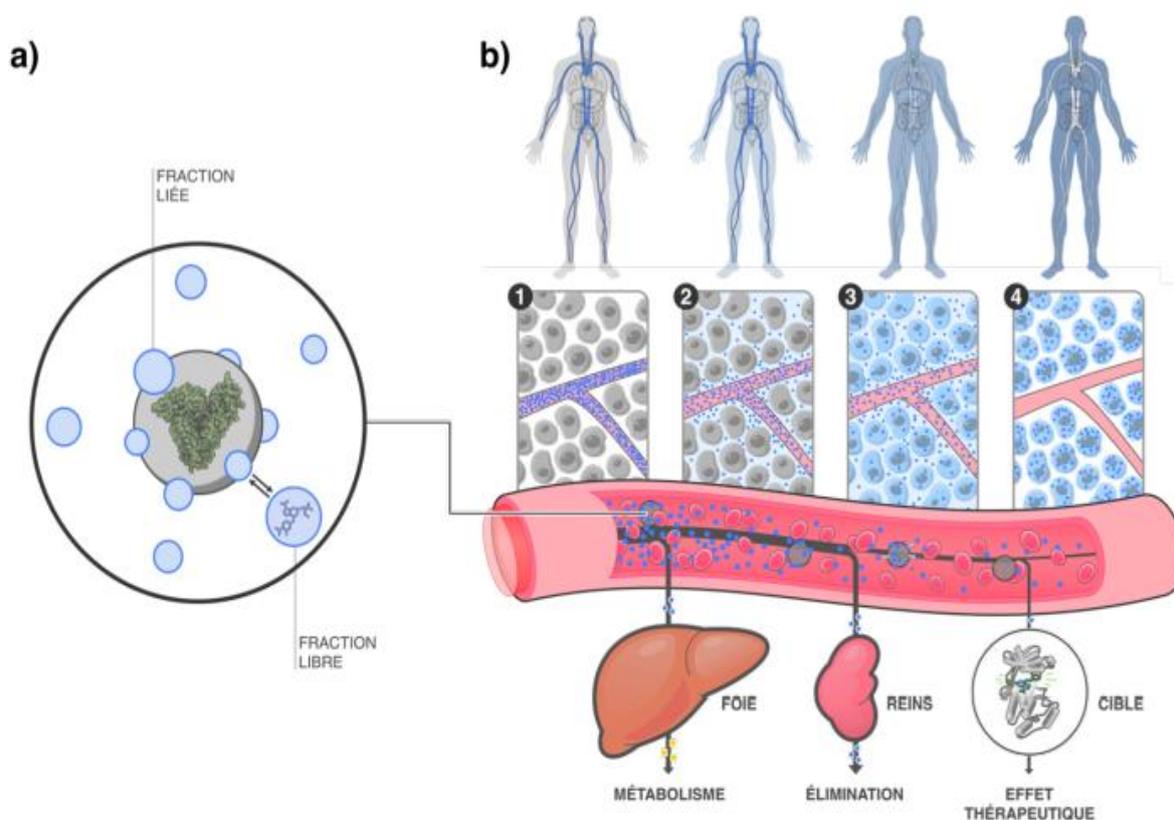


Figure II.11 Vue d'ensemble des phénomènes qui interviennent lors de la phase de distribution. **a)** Représentation schématique de la fixation du principe actif (cercle bleu) aux protéines plasmatiques (cercle gris). La protéine plasmatisée représentée est l'albumine (PDB : 4L9K). **b)** Schéma globale de la phase de distribution suite à l'absorption du principe actif. Les différentes phases de diffusion tissulaire sont représentées dans la partie supérieure: **1)** Volume intravasculaire ; **2)** Volume intravasculaire et interstitiel ; **3)** Volume extra- et intracellulaire ; **4)** Enrichissement cellulaire.

9.3. Métabolisme

La phase du métabolisme peut être décrite comme un processus de biotransformation du principe actif par lequel il va être plus polaire, et par conséquent plus facilement dissout dans les milieux aqueux, tels que la bile ou l'urine, afin d'être éliminé par l'organisme ⁶³. Néanmoins le principal site de biotransformation est situé au niveau hépatique, dans les enzymes des microsomes. Les modifications réalisées peuvent rendre les xénobiotiques inactifs mais peuvent également leur conférer une activité médicamenteuse, ou une activité toxique. Deux types de réactions

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

enzymatiques interviennent lors de la biotransformation: les réactions enzymatiques de phase I et celles de phase II⁵⁶.

9.4. Elimination

L'élimination est la phase qui assure la disparition d'une substance de l'organisme soit parce qu'elle est excrétée, soit parce qu'elle est transformée en d'autres produits qui ne sont plus décelables ⁶⁴. La plupart des excrétions se font par les reins sous forme d'urine ou de matières fécales, certaines molécules peuvent être excrétées à travers la peau sous forme de sueur et certaines peuvent être excrétées par les poumons par échange de gaz ⁵⁵. 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 ⁶⁵.

9.5. Toxicité

La mise au point de nouveaux médicaments exige que des études toxicologiques soient effectuées afin d'estimer l'innocuité de ces nouvelles entités moléculaires avant la demande d'AMM auprès des autorités compétentes ⁶⁶. 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 ⁶⁷. La toxicité des molécules est l'une des causes majeures et indiscutables d'abandons lors d'essais cliniques, un abandon si tardif du développement d'un médicament représentant un échec financièrement dramatique ⁶⁸. 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 ⁶⁷.

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

Références bibliographiques

1. Tanrikulu, Y., Krüger, B., & Proschak, E. (2013). The holistic integration of virtual screening in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 18(7-8), 358-364.
2. Van Drie, J. H. (2007). Computer-Aided Drug Design: The next 20 Years. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 21 (10–11), 591–601. <https://doi.org/10.1007/s10822-007-9142-y>.
3. Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*, 7(2), 146-157.
4. Vincent, B. (2015). Criblage virtuel sur grille de composés isolés au Vietnam (Doctoral dissertation, Clermont-Ferrand 2).
5. Tanrikulu, Y., Krüger, B., & Proschak, E. (2013). The holistic integration of virtual screening in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 18(7-8), 358-364.
6. Hughes, J. P., Rees, S., Kalindjian, S. B., & Philpott, K. L. (2011). Principles of early drug discovery. *British journal of pharmacology*, 162(6), 1239-1249.
7. Ghosh, S., Nie, A., An, J., & Huang, Z. (2006). Structure-based virtual screening of chemical libraries for drug discovery. *Current opinion in chemical biology*, 10(3), 194-202.
8. Lengauer T., Lemmen C., Rarey M., Zimmermann M. (2004). Novel technologies for virtual screening. *Drug Discov Today*. 9, 27-34.
9. Johnson, M. A., & Maggiora, G. M. (1990). Concepts and applications of molecular similarity. Wiley.
10. Bank, R. P. D. RCSB PDB: Homepage. <https://www.rcsb.org/> (accessed 2023-02-14).
11. Schneider, G., & Fechner, U. (2005). Computer-based de novo design of drug-like molecules. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(8), 649-663.
12. Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., ... & Bourne, P. E. (2000). The protein data bank. *Nucleic acids research*, 28(1), 235-242.
13. Abad-Zapatero, C. (2012). Notes of a protein crystallographer: on the high-resolution structure of the PDB growth rate. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 68(5), 613-617.
14. Lavecchia, A., & Di Giovanni, C. (2013). Virtual screening strategies in drug discovery: a critical review. *Current medicinal chemistry*, 20(23), 2839-2860.

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

15. Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*, 7(2), 146-157.
16. Kuntz, I. D., Blaney, J. M., Oatley, S. J., Langridge, R., & Ferrin, T. E. (1982). A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of molecular biology*, 161(2), 269-288.
17. Yuriev E., Agostino M., Ramsland P.A. (2011). Challenges and advances in computational docking. *J Mol Recognit.* 24, 149-164.
18. Fischer, E. (1894). Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* 27, 2985–2993.
19. MCGANN, MR ; ALMOND, HR ; NICHOLLS, A ET AL. (2003). Gaussian docking functions. *Biopolymers*, 68, 76-90.
20. Vogt, A. D. & Di Cera, E. (2013). Conformational Selection Is a Dominant Mechanism of Ligand Binding. *Biochemistry* 52, 5723–5729.
21. Koshland, D. E. (1958). Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 44, 98–104.
22. Brooijmans, N. & Kuntz, I. D. (2003). Molecular recognition and docking algorithms. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 32, 335–373.
23. Chevrollier N. Développement et application d'une approche de Docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. Phdthesis, Université Paris-Saclay [En ligne]; 2019. [Consulté le 15 fév 2023]. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02436914>.
24. Warren, G. L., Andrews, C. W., Capelli, A. M., Clarke, B., LaLonde, J., Lambert, M. H., ... & Head, M. S. (2006). A critical assessment of docking programs and scoring functions. *Journal of medicinal chemistry*, 49(20), 5912-5931.
25. Salahi, D. (2016). Modélisation de la structure d'une protéine impliquée dans le cancer et de ses interactions avec quelques ligands (Doctoral dissertation, UMMTO).
26. Du, X., Li, Y., Xia, Y. L., Ai, S. M., Liang, J., Sang, P., ... & Liu, S. Q. (2016). Insights into protein–ligand interactions: mechanisms, models, and methods. *International journal of molecular sciences*, 17(2), 144.
27. Martin, T. W., & Derewenda, Z. S. (1999). The name is bond—H bond. *nature structural biology*, 6(5), 403-406.

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

28. Les interactions électrostatiques [Drug Design]. Disponible sur : https://ressources.unisciel.fr/_reste_a_valider/drug_design/co/paragraphe2.html [consulté le 16 fév 2023].
29. Huang S.Y., Zou. X. (2010). Advances and Challenges in Protein-Ligand Docking. *Int J Mol Sci.* 11, 3016-3030.
30. Morris, G. M.; Lim-Wilby, M. Molecular Docking. In *Molecular Modeling of Proteins*; Kukol, A., Ed.; *Methods Molecular Biology*TM; Humana Press: Totowa, NJ, 2008; pp 365–382. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-177-2_19.
31. Merzoug, A., & Chikhi, A. (2018). Recherche de nouvelles molécules bioactives par criblage virtuel et applications à l'inhibition de la peptide déformylase (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).
32. Saoussene, M. L. (2016). Etude docking et synthèse de dérivés de xanthone: voie d'accès à de nouveaux inhibiteurs de l' α -glucosidase (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat).
33. Jain, A. N. (2006). Scoring Functions for Protein-Ligand Docking. *Curr. Protein Pept. Sci.* 7 (5), 407–420. <https://doi.org/10.2174/138920306778559395>.
34. Chodera, J. D.; Mobley, D. L. (2013). Entropy-Enthalpy Compensation: Role and Ramifications in Biomolecular Ligand Recognition and Design. *Annu Rev Biophys*, 42, 121–142. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-083012-130318>.
35. Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*, 7(2), 146-157.
36. Lang, P. T., Brozell, S. R., Mukherjee, S., Pettersen, E. F., Meng, E. C., Thomas, V., ... & Kuntz, I. D. (2009). DOCK 6: Combining techniques to model RNA–small molecule complexes. *Rna*, 15(6), 1219-1230.
37. Englebienne, P.; Moitessier, N. (2009). Docking Ligands into Flexible and Solvated Macromolecules. 5. Force-Field-Based Prediction of Binding Affinities of Ligands to Proteins. *J. Chem. Inf. Model*, 49 (11), 2564–2571. <https://doi.org/10.1021/ci900251k>.
38. Moitessier, N., Englebienne, P., Lee, D., Lawandi, J., & Corbeil, A. C. (2008). Towards the development of universal, fast and highly accurate docking/scoring methods: a long way to go. *British journal of pharmacology*, 153(S1), S7-S26.
39. Sousa, S. F., Fernandes, P. A. & Ramos, M. J. (2006). Protein–ligand docking: Current status and future challenges. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* 65, 15–26.

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

40. Murray, C. W.; Auton, T. R.; Eldridge, M. D. (1998). Empirical Scoring Functions. II. The Testing of an Empirical Scoring Function for the Prediction of Ligand-Receptor Binding Affinities and the Use of Bayesian Regression to Improve the Quality of the Model. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 12 (5), 503–519. <https://doi.org/10.1023/a:1008040323669>.
41. KITCHEN, DB ; DECORNEZ, H ; FURR, JR ET AL. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 3, 935-49.
42. Huang, S.-Y.; Zou, X. (2006). An Iterative Knowledge-Based Scoring Function to Predict Protein-Ligand Interactions: I. Derivation of Interaction Potentials. *J. Comput. Chem.* 27 (15), 1866–1875. <https://doi.org/10.1002/jcc.20504>.
43. Gohlke, H.; Hendlich, M.; Klebe, G. (2000). Knowledge-Based Scoring Function to Predict Protein-Ligand Interactions. *J. Mol. Biol.* 295 (2), 337–356. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.3371>.
44. Muegge, I. (2001). Effect of ligand volume correction on PMF scoring. *J. Comput. Chem.* 22, 418–425.
45. Feher, M. (2006). Consensus scoring for protein-ligand interactions. *Drug Discov. Today* 11, 421–428.
46. Wang, R.; Wang, S. (2001). How does consensus scoring work for virtual library screening? An idealized computer experiment. *J Chem Inf Comput Sci.* 41(5): p. 1422-6.
47. Chen, Y.-C. (2015). Beware of docking! *Trends Pharmacol. Sci.* 36, 78–95.
48. Wei, W., Cherukupalli, S., Jing, L., Liu, X., & Zhan, P. (2020). Fsp3: A new parameter for drug-likeness. *Drug Discovery Today*, 25(10), 1839-1845.
49. Walters, W. P., Stahl, M. T., & Murcko, M. A. (1998). Virtual screening—an overview. *Drug discovery today*, 3(4), 160-178.
50. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23(1-3), 3-25.
51. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23(1-3), 3-25.

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

52. Aurélien M. (2006). Design and use of optimized chemical databases for “in silico” research of new bioactive compounds. Theses, Université d’Orléans.
53. Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of medicinal chemistry*, 45(12), 2615-2623.
54. Kola, I., & Landis, J. (2004). Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates?. *Nature reviews Drug discovery*, 3(8), 711-716.
55. ADME and Toxicology. MoDRN [En ligne]. 2016 Jun 13. Disponible sur : <https://modrn.yale.edu/education/undergraduate-curriculum/modrn-u-modules/admeand-toxicology>. [Consulté le 21 fév 2023].
56. Doogue, M. P., & Polasek, T. M. (2013). The ABCD of clinical pharmacokinetics. *Therapeutic advances in drug safety*, 4(1), 5-7.
57. Sugano, K. (2010). Aqueous boundary layers related to oral absorption of a drug: from dissolution of a drug to carrier mediated transport and intestinal wall metabolism. *Molecular pharmaceutics*, 7(5), 1362-1373.
58. Zakeri-Milani, P., & Valizadeh, H. (2014). Intestinal transporters: enhanced absorption through P-glycoprotein-related drug interactions. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 10(6), 859-871.
59. Lundquist, P., & Artursson, P. (2016). Oral absorption of peptides and nanoparticles across the human intestine: Opportunities, limitations and studies in human tissues. *Advanced drug delivery reviews*, 106, 256-276.
60. Brönsted, J. N. (1923). Einige bemerkungen über den begriff der säuren und basen. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 42(8), 718-728.
61. Peters Jr, T. (1995). All about albumin: biochemistry, genetics, and medical applications. Academic press.
62. Mallo V. (2015). Sous-traitance et développement pharmaceutique d’un médicament : application à la conception d’un comprimé à croquer. Sept. p. 130.
63. Meyer, U. A. (1996). Overview of enzymes of drug metabolism. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 24, 449–459.
64. La toxicologie. Chapitre 33 [En ligne]. [Consulté le : 21 fév 2023]. Disponible sur :

Chapitre II : Méthodes de criblage virtuel

<http://www.ilocis.org/fr/documents/ilo033.htm>.

65. 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/>.

66. Nutrition, C. for F. S. and A. Guidance Documents & Regulatory Information by Topic - Guidance for Industry: Preparation of Food Contact Notifications for Food Contact Substances (Toxicology Recommendations). (Accessed: 21 fév 2023) Available at: <https://www.fda.gov/food/guidanceregulation/guidancedocumentsregulatoryinformation/ucm081825.htm>.

67. Valerio, L.G., Jr. (2009). In silico toxicology for the pharmaceutical sciences. *Toxicol Appl Pharmacol.* 241(3): p. 356-70.

68. Mellor, C. L.; Steinmetz, F. P.; Cronin, M. T. D. (2016). Using Molecular Initiating Events to Develop a Structural Alert Based Screening Workflow for Nuclear Receptor Ligands Associated with Hepatic Steatosis. *Chem. Res. Toxicol.* 29 (2), 203–212. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.5b00480>.

Chapitre III

Matériels et

Méthodes



Chapitre III : Matériels et Méthodes

1. Introduction

Le choix du matériel et des méthodes est essentiel pour garantir des résultats fiables dans toute étude scientifique. Dans ce chapitre, nous allons concentrer sur le matériel et les méthodes utilisés pour obtenir et présenter les résultats de notre étude. En effet, il est crucial de comprendre le processus qui a conduit à l'obtention de ces résultats pour pouvoir les interpréter correctement et tirer des conclusions valides. Par conséquent, nous allons donc décrire en détail les instruments que nous avons utilisés, ainsi que les différentes méthodes employées pour préparer les échantillons et réaliser les mesures.

2. Matériel et outils utilisés

Les matériels suivants ont été utilisés pour identifier les meilleurs inhibiteurs de l'infection à virus Ebola par modélisation avec Docking moléculaire:

2.1. Micro-ordinateurs

Nous avons utilisé deux micro-ordinateurs ayant les caractéristiques suivantes pour réaliser notre travail.

Tableau III.1 les caractéristiques des micro-ordinateurs utilisés.

Caractéristiques	Ordinateur 1	Ordinateur 2
Mémoire (RAM)	6 GB	2 GB
Processeur	AMD A4-1250 APU with Radeon™ HD Graphics 1.00 GHz	Intel® Pentium® CPU G2030 @ 3.00 GHz
Système d'exploitation	Windows 10 Home	Windows 7 Ultimate
Type de système	64 bit	32 bit

2.2. Banques de données et logiciels

2.2.1. La banque de données « Protein Data Bank (PDB) »

La Banque de données protéiques a été créée en 1971 au Brookhaven National Laboratoire en tant que seul référentiel international pour les données de structure tridimensionnelle des macromolécules biologiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN ².

Chapitre III : Matériels et Méthodes

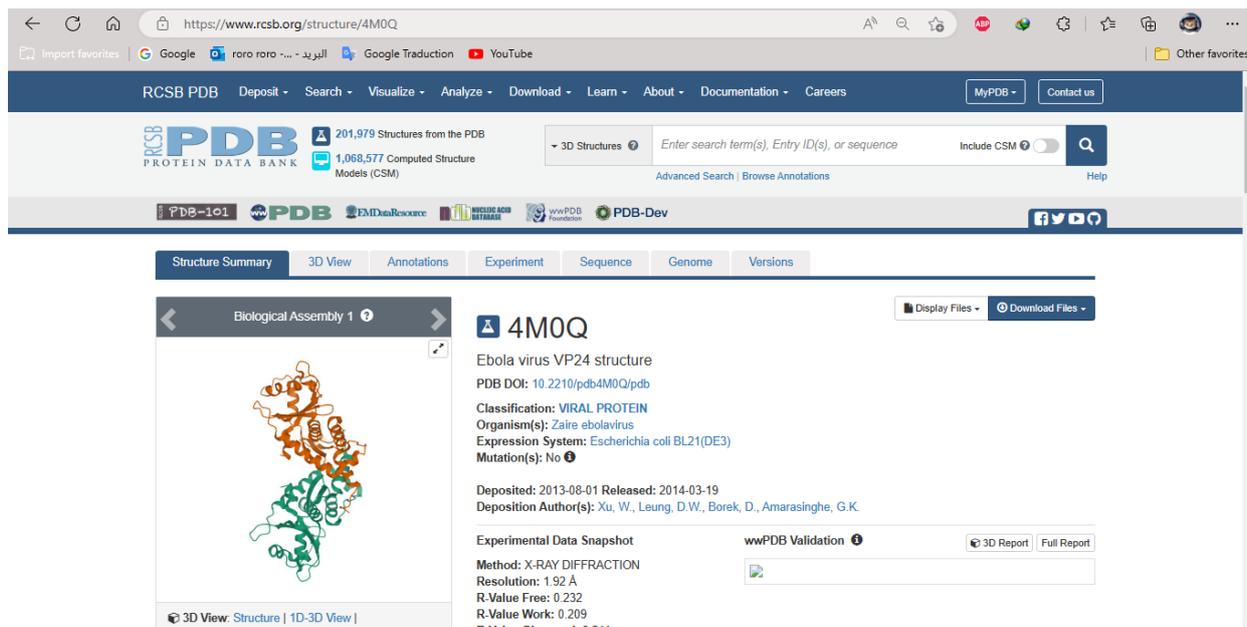


Figure III.1 L'interface du site Protein Data Bank.

2.2.2. La banque de données « PubChem »

PubChem est une source d'informations sur les produits chimiques du National Center for Biotechnology Information (NCBI) des États-Unis. Depuis son lancement en 2004, PubChem est devenu une base de connaissances clé qui sert les communautés de recherche biomédicale dans de nombreux domaines, notamment la chimio-informatique, la biologie chimique, la chimie médicinale et la découverte de médicaments ³.

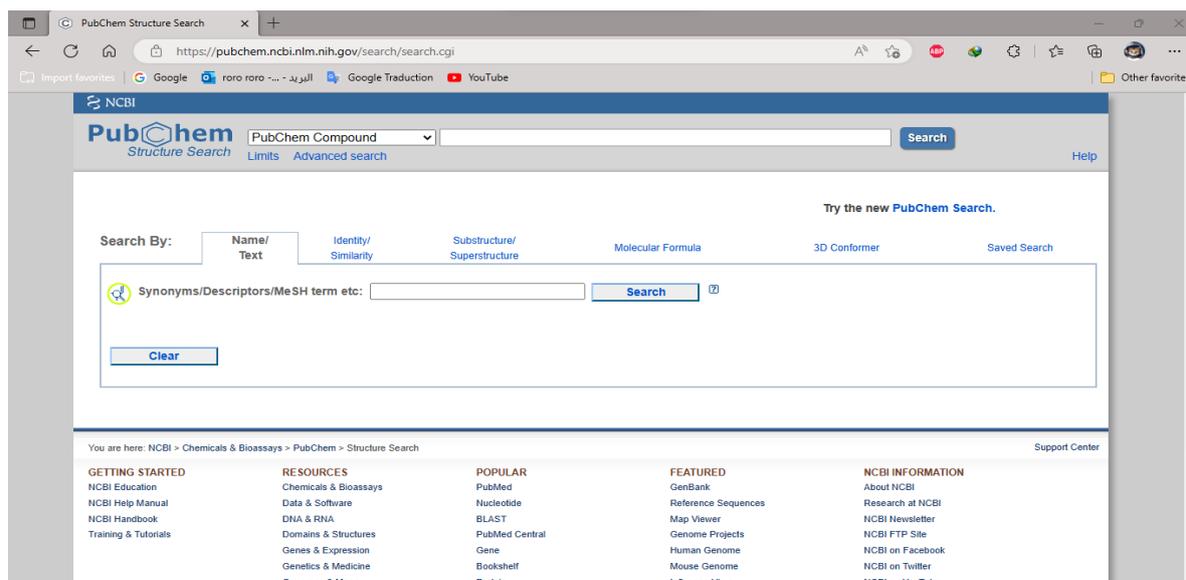


Figure III.2 L'interface du site PubChem.

Chapitre III : Matériels et Méthodes

2.2.3. Schrödinger suite

Schrödinger suite est un package de modélisation moléculaire très complet et très puissant qui comprend les programmes et applications, et les solutions les plus sophistiqués et les plus performants dans le monde de la bio-informatique, la chimio-informatique et la conception des médicaments assistée par ordinateur ⁴.

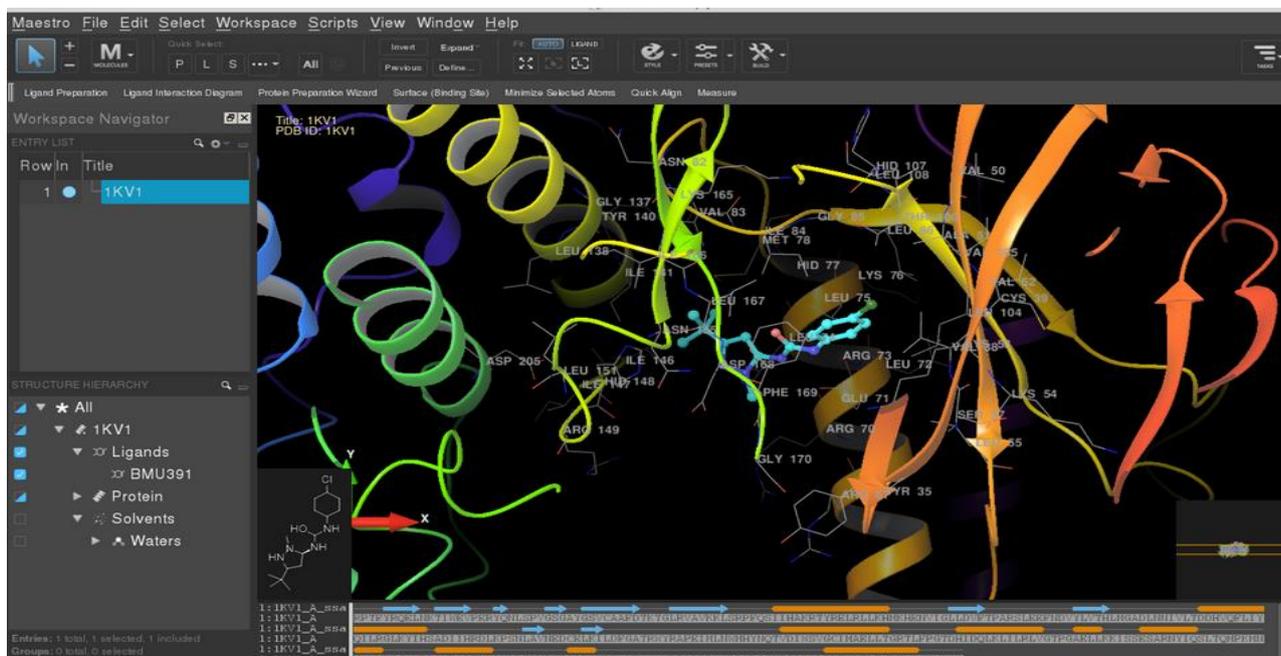


Figure III.3 L'interface du logiciel Schrödinger suite.

2.2.4. BIOVIA Discovery Studio

Discovery Studio est un ensemble de logiciels permettant de stimuler le système de petites molécules et de macromolécules. Il est développé et distribué par Accelrys ⁵. Il permet aux utilisateurs de visualiser, de profiler et d'analyser diverses sources de bibliothèques chimiques pour concevoir et optimiser la sélection de composés ⁶; et permet d'étudier et de tester des hypothèses in silico avant une mise en œuvre expérimentale coûteuse, réduisant ainsi le temps et les dépenses nécessaires à la mise sur le marché des produits ⁵.

Chapitre III : Matériels et Méthodes

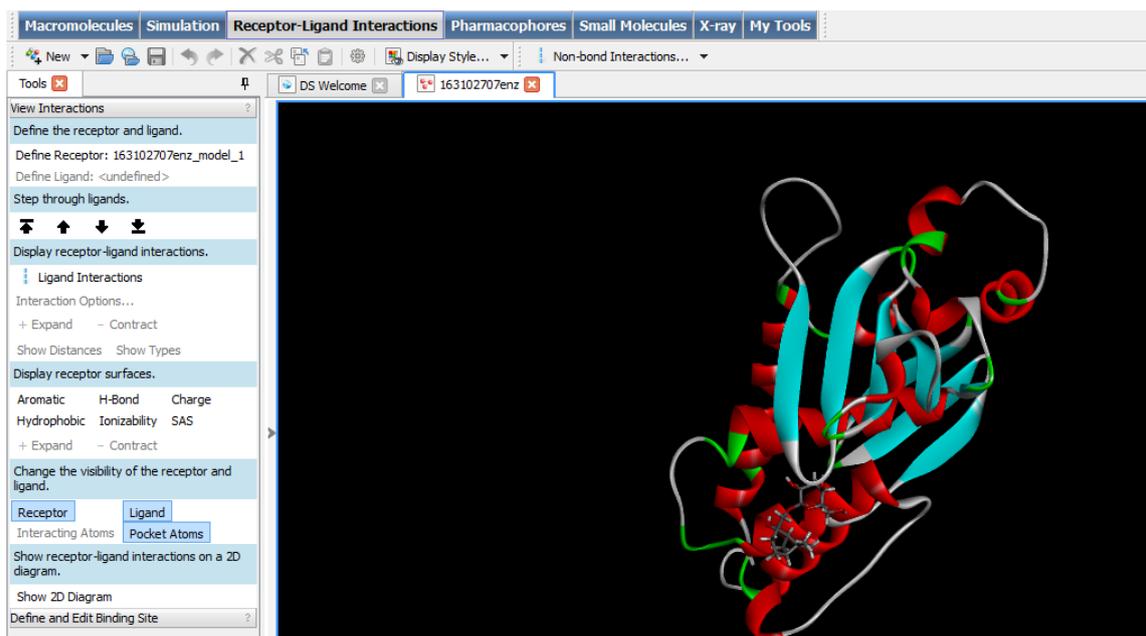


Figure III.4 L'interface du logiciel Discovery Studio.

2.2.5. SwissADME

SwissADME est destiné à une soumission conviviale et à une analyse facile des résultats. L'opération pour réaliser les études est simple et la génération des résultats est également rapide et fiable. La prévisibilité de divers facteurs tels que les facteurs physicochimiques, la lipophile, la solubilité dans l'eau, la pharmacocinétique, la ressemblance aux médicaments et d'autres facteurs liés à la chimie médicinale est incluse pour une meilleure compréhension des propriétés des petites molécules au cours du processus de découverte et de développement de médicaments ⁷.

Par rapport à l'état de l'art des outils gratuits en ligne pour l'ADME et la pharmacocinétique et en dehors d'un accès unique à des méthodes performantes, les points forts de SwissADME sont, de manière non exhaustive: différentes méthodes de saisie, le calcul pour plusieurs molécules et la possibilité d'afficher, enregistrer et partager les résultats par molécule individuelle ou via des graphiques globaux intuitifs et interactifs ⁸.

Chapitre III : Matériels et Méthodes

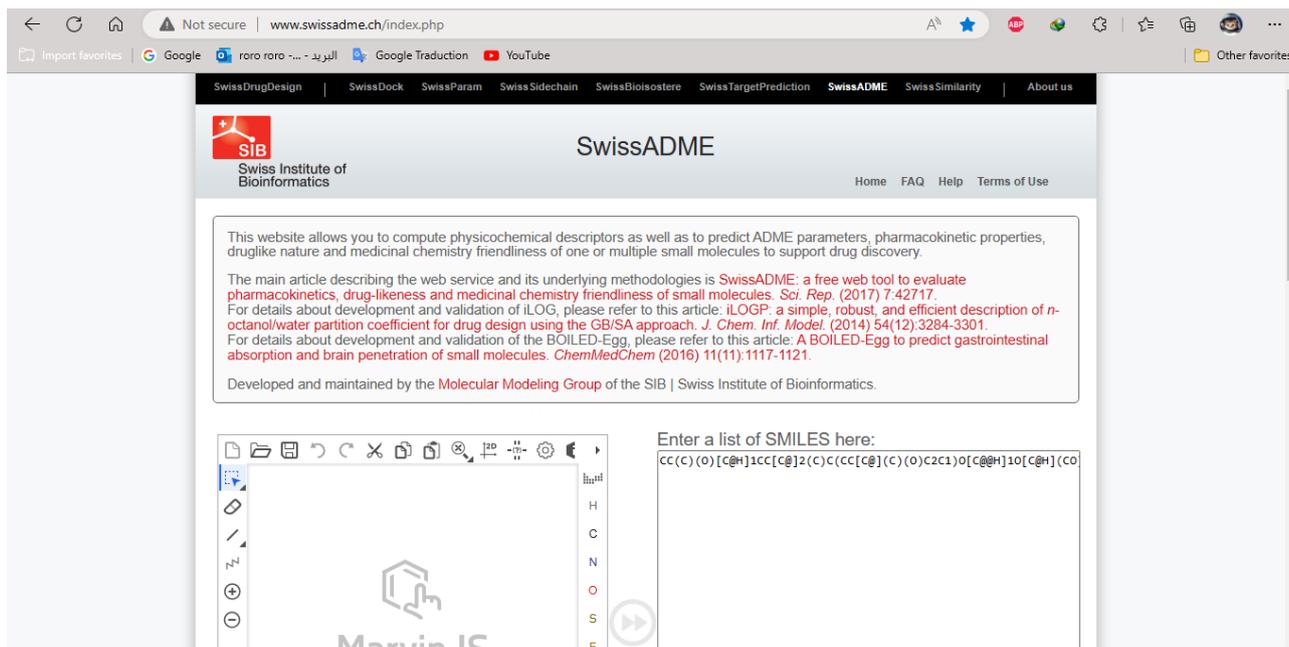


Figure III.5 L'interface du site SwissADME.

2.2.6. pkCSM

pkCSM utilise le concept de signatures structurales basées sur des graphes pour étudier et prédire une gamme de propriétés **ADME-Tox** pour de nouvelles entités chimiques. Cette approche fournit également une plate-forme pour l'analyse et l'optimisation des propriétés pharmacocinétiques et de toxicité mises en œuvre dans une interface Web conviviale et librement disponible, un outil précieux pour aider les chimistes médicaux à trouver l'équilibre entre la puissance, la sécurité et les propriétés pharmacocinétiques ⁹.

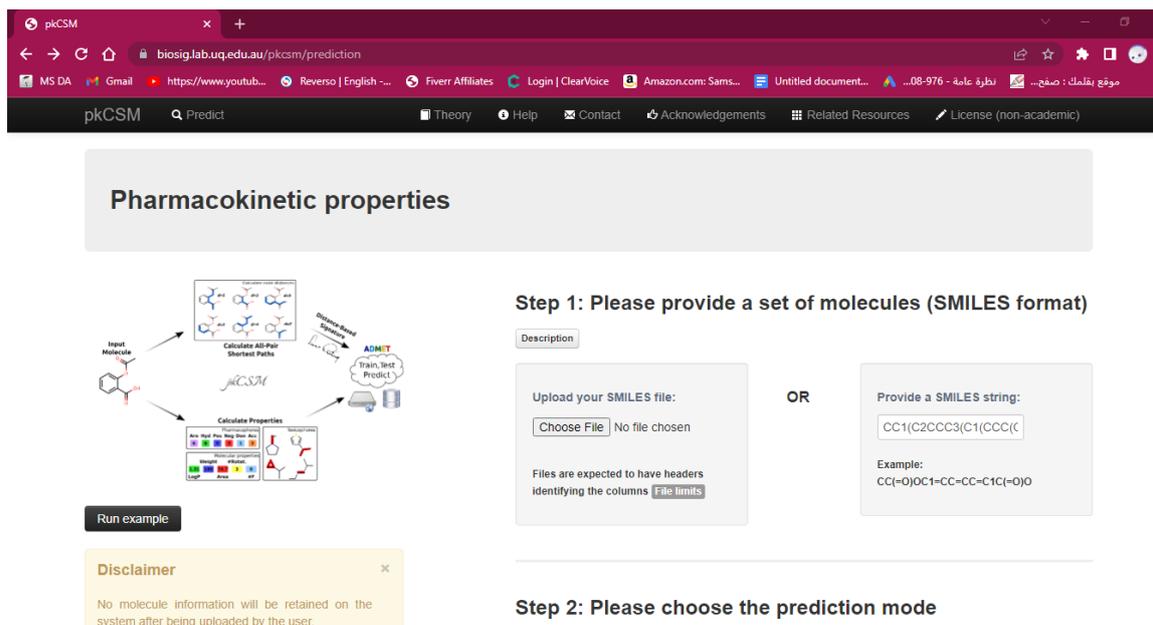


Figure III.6 L'interface du site pkCSM.

Chapitre III : Matériels et Méthodes

3. Méthodologie des calculs

Dans notre étude nous avons basés sur les interactions entre le site actif de la protéine **VP24** et les ligands pour former des complexes stables à l'aide du programme Schrödinger suite. Le protocole général de Docking moléculaire utilisée dans notre travail est schématisé dans la **Figure III.7**.

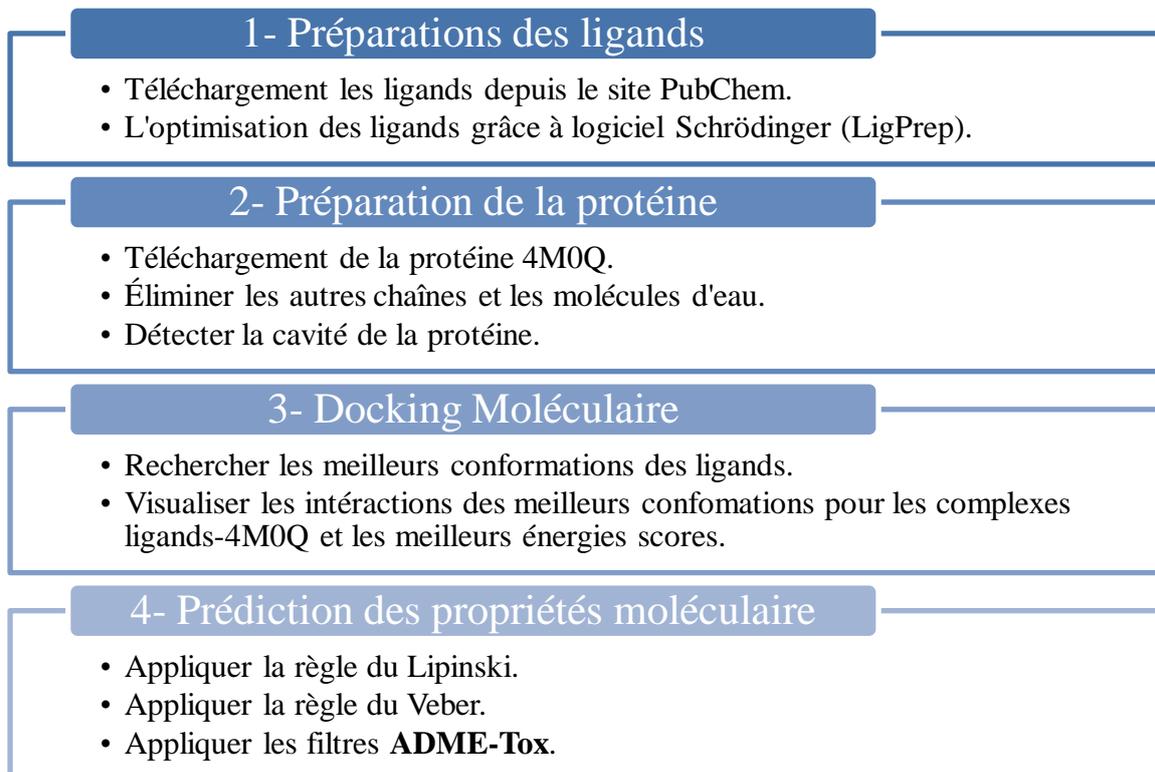


Figure III.7 La méthodologie de notre travail.

3.1. Préparations des ligands

La première étape du Docking moléculaire consiste à préparer les ligands utilisés dans l'étude. Dans notre travail, nous avons utilisé des dérivés de Terpénoïde comme ligands.

Les Terpénoïdes, parfois appelés isoprénoïdes, forment une classe large et diverse de composés organiques rencontrés dans la nature, similaires aux terpènes, dérivant d'unités isopréniques à cinq atomes de carbone assemblées et modifiées de milliers de façons. Les terpènes sont des hydrocarbures basiques, tandis que les Terpénoïdes contiennent des groupes fonctionnels supplémentaires.

Les composés ont été téléchargés à partir de la base de données PubChem sous forme de fichier "sdf" et optimiser ses géométries avec le logiciel LigPrep de la suite Schrödinger 2018. Cette préparation a été générée pour chaque ligand un certain nombre de structures (jusqu'à 32)

Chapitre III : Matériels et Méthodes

avec divers énantiomères, leurs états d'ionisation et tautomérisation a été prédit par Epik2.2 à pH $7,0 \pm 2$.

Les structures **2D** des 244 inhibiteurs sont représentées dans l'**Annexe N° 01**.

3.2. Préparation de la protéine

Nous avons obtenu la structure de la protéine **VP24**, qui est une cible clé dans le traitement du virus Ebola, en la téléchargeant à partir de la base de données Protein Data Bank www.rcsb.org/pdb sous forme de fichier **PDB** avec le code d'accès 4M0Q. Cette structure tridimensionnelle a été déterminée par diffraction de rayons X avec une résolution de 1.92 Å, comme indiqué dans la **Figure III.8**.

Le **Tableau III.2** résume les caractéristiques cristallographiques de la protéine 4M0Q.

Sur la base des résultats de recherche et des articles similaires à nos études, nous avons sélectionné le composé Bisdéméthoxycurcumine comme ligand de référence pour notre protéine. Cette décision a été prise après une analyse approfondie des informations disponibles et des études antérieures.

La Bisdéméthoxycurcumine est un curcuminoïde présent dans le curcuma qui est appartient à la famille des Terpénoïdes ¹⁰. La Bisdéméthoxycurcumine est utilisée comme pigment et nutraceutique aux propriétés antimutagènes. La structure chimique de Bisdéméthoxycurcumine ligand de référence est donnée dans la **Figure III.9**:

La structure de **PDB** comporte diverses informations manquantes sur une connectivité spécifique, ainsi que les charges formelles. La structure de la protéine est importée de **PDB** dans Maestro dans l'assistant de préparation de protéines (the protein preparation wizard). Lors de la préparation de la protéine simplifiée, on a éliminé la chaîne B ainsi que les molécules d'eau, ensuite La structure a été préparée en ajoutant des atomes d'hydrogène, en optimisant les liaisons hydrogène et en vérifiant les états de protonation de **HIS**, **GLN** et **ASN**. La minimisation de l'énergie a été réalisée en utilisant la contrainte par défaut de 0,3 Å **RMSD** et le champ de force **OPLS 2005**.

Chapitre III : Matériels et Méthodes

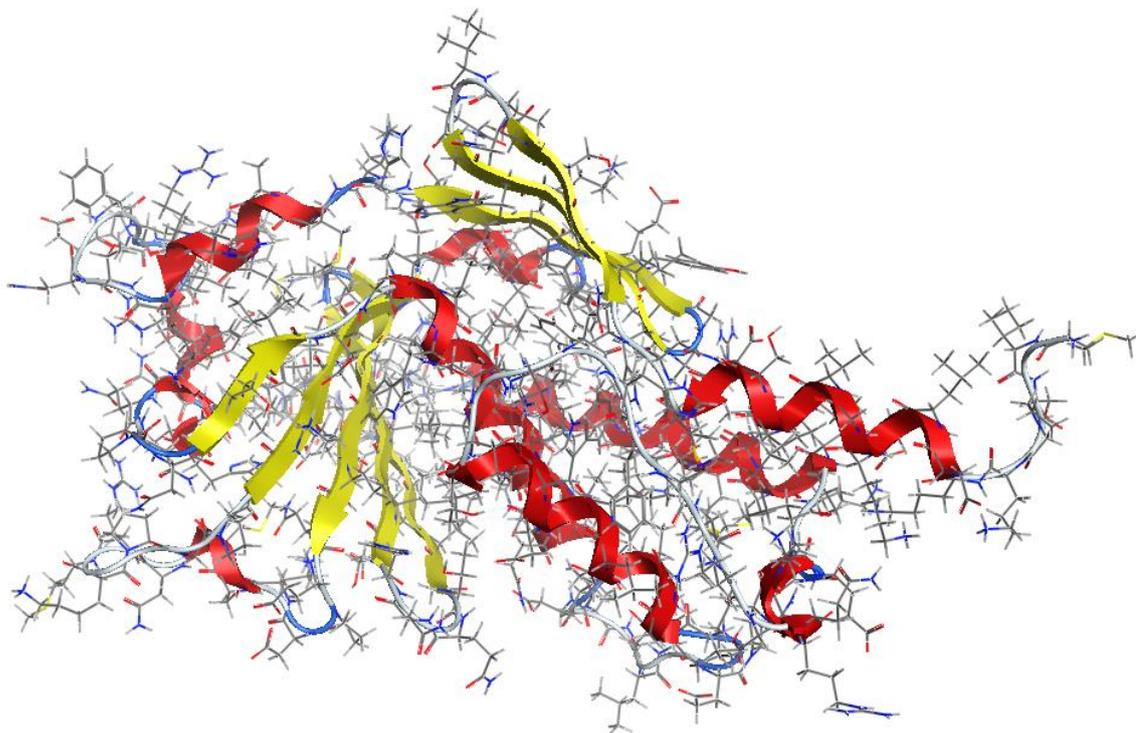


Figure III.8 Structure 3D de la protéine 4MOQ préparé.

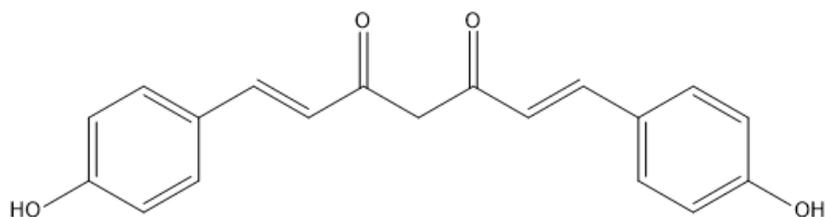


Figure III.9 Structure chimique de Bisdéméthoxycurcumine.

Tableau III.2 Données cristallographiques.

Protéine	Classificatio	Chaîne	Résolution	Résidus	Atomes
4MOQ	Protéine virale	A	1.92 Å	230	3581

3.3. Détection de cavité

Les cavités ont un rôle ambigu dans la stabilité de la protéine. Ces vides dans la structure permettent ainsi un équilibre entre stabilité thermodynamique et flexibilité ¹¹. Les cavités ont souvent un rôle central dans la fonction des protéines. Les sites actifs des enzymes en sont l'exemple évident: siège de la fonction, les cavités enzymatiques ont une forme particulière

Chapitre III : Matériels et Méthodes

permettant de fixer spécifiquement leur substrat. A ce titre, les cavités des sites enzymatiques sont régulièrement étudiées en parallèle de leur structure. Le lien entre les cavités et la fonction d'une protéine peut également apparaître de façon plus subtile et moins spécifique^{12,13}.

La boîte de grille peut généralement être générée en utilisant "the receptor grid generation". La génération de grille de récepteurs nécessitait une structure protéique préparée avec un ordre de liaison approprié et des charges formelles. Le site active est défini comme rectangulaire de 20 Å, Les coordonnées de grille x, y et z sont respectivement (-10, -15, -20) pour 4M0Q.

La **Figure III.10** présente la cavité choisie de la protéine 4M0Q.

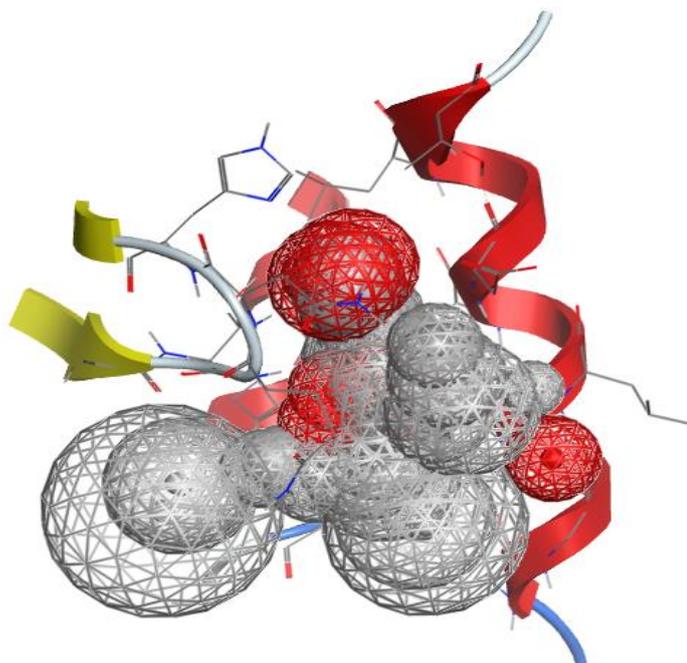


Figure III.10 La cavité choisie de la protéine 4M0Q.

3.4. Simulation de Docking moléculaire

Le protocole **GLIDE** de la suite Schrodinger a été utilisé pour ancrer les ligands dans la grille de récepteurs générée. Cela permet d'évaluer les interactions ligand-protéine et de sélectionner les ligands les plus prometteurs pour une étude plus approfondie.

Tous les composés ont été soumis à l'étape de Docking **SP** (Standard Precision). Les composés **SP** résultants ont ensuite été ancrés en utilisant un mode plus précis et plus intensif en termes de calcul lors de la dernière étape du criblage, appelée Docking **XP** (Extra Precision).

Chapitre III : Matériels et Méthodes

L'étape de Docking **SP** implique le positionnement des composés dans le site actif de la protéine cible en utilisant des calculs de Docking moléculaire pour prédire leur conformation et leur interaction. Cela permet de filtrer un grand nombre de composés et de ne retenir que les plus prometteurs pour la suite de l'étude.

Ensuite, lors de l'étape de Docking **XP**, une méthode de calcul plus avancée et précise est utilisée pour affiner d'avantage les prédictions de liaison et obtenir une estimation plus précise de l'affinité et de la stabilité des complexes ligand-protéine. Cela permet de sélectionner les composés les plus susceptibles de se lier avec haute affinité à la protéine cible.

3.5. Prédiction des propriétés moléculaires des ligands

Nous avons utilisé l'outil serveur SwissADME <http://www.swissadme.ch/> pour étudier la règle de Lipinski et Veber dans cette étape de notre travail. Pour chaque ligand, nous avons collé le SMILE dans l'outil SwissADME afin de calculer les propriétés du ligand.

3.6. Prédiction des ADME-Tox propriétés

Il y a eu récemment des développements dans les méthodes utilisées pour accéder à la précision du domaine de prédiction et d'applicabilité des modèles d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité, ainsi que dans les méthodes utilisées pour prédire les propriétés physicochimiques des composés aux premiers stades de la développement ¹⁴; une mauvaise **ADME-Tox** cause des échecs coûteux aux stades avancés du développement du médicament ¹⁵.

Pour étudier les propriétés **ADME-Tox**, nous avons utilisé l'outil pkCSM disponible à l'adresse <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction> . Pour chaque ligand, nous avons collé le SMILE correspondant dans l'outil pour obtenir les résultats nécessaires.

Chapitre III : Matériels et Méthodes

Références bibliographiques

1. Chikhi, A., & Boucherit, H. (2017). Etude theorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la methionine aminopeptidase de mycobacterium tuberculosis par diverses molecules.
2. Berman, H., Henrick, K., & Nakamura, H. (2003). Announcing the worldwide protein data bank. *Nature Structural & Molecular Biology*, 10(12), 980-980.
3. Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., ... & Bryant, S. H. (2016). PubChem substance and compound databases. *Nucleic acids research*, 44(D1), D1202-D1213.
4. Sabki, A. (2013). Etude in silico de l'effet d'un ensemble de flavonoïdes et de coumarines sur le chaperon moléculaire Hsp90 (Doctoral dissertation).
5. Jejurikar, B. L., & Rohane, S. H. (2021). Drug designing in discovery studio.
6. Design, L. I. G. A. N. D. (2014). Pharmacophore and ligand-based design with Biovia Discovery Studio®. BIOVIA. California.
7. Bakchi, B., Krishna, A. D., Sreecharan, E., Ganesh, V. B. J., Niharika, M., Maharshi, S., ... & Shaik, A. B. (2022). An overview on applications of SwissADME web tool in the design and development of anticancer, antitubercular and antimicrobial agents: A medicinal chemist's perspective. *Journal of Molecular Structure*, 132712.
8. Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, 7(1), 42717.
9. Pires, D. E., Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of medicinal chemistry*, 58(9), 4066-4072.
10. Afzal, A., Oriqat, G., Akram Khan, M., Jose, J., & Afzal, M. (2013). Chemistry and biochemistry of terpenoids from Curcuma and related species. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 3(1), 1-55.
11. Eriksson, A. E., Baase, W. A., Zhang, X. J., Heinz, D. W., Blaber, M. P. B. E., Baldwin, E. P., & Matthews, B. W. (1992). Response of a protein structure to cavity-creating mutations and its relation to the hydrophobic effect. *Science*, 255(5041), 178-183.

Chapitre III : Matériels et Méthodes

12. Tilton Jr, R. F., Kuntz Jr, I. D., & Petsko, G. A. (1984). Cavities in proteins: structure of a metmyoglobin xenon complex solved to 1.9. *ANG. Biochemistry*, 23(13), 2849-2857.
13. Elber, R., & Karplus, M. (1990). Enhanced sampling in molecular dynamics: use of the time-dependent Hartree approximation for a simulation of carbon monoxide diffusion through myoglobin. *Journal of the American Chemical Society*, 112(25), 9161-9175.
14. Tetko, I. V., Bruneau, P., Mewes, H. W., Rohrer, D. C., & Poda, G. I. (2006). Can we estimate the accuracy of ADME-Tox predictions?. *Drug discovery today*, 11(15-16), 700-707.
15. Hollingsworth, Scott A., and Ron O. Dror. (2018). "Molecular dynamics simulation for all." *Neuron* 99.6: 1129-1143.

Chapitre IV

Résultats et

Discussion



Chapitre IV : Résultats et Discussion

1. Introduction

La première étape de la plupart des réactions biologiques est l'interaction entre une protéine et son substrat. Pour comprendre son mode de fonctionnement et identifier les résidus impliqués, plusieurs éléments doivent être définis: l'affinité entre les deux molécules, les distances séparant les acides aminés du site actif de l'enzyme et ceux des inhibiteurs, ainsi que l'énergie d'interaction ¹.

Ce chapitre présentera les résultats de notre travail *in silico* sur les interactions entre différents inhibiteurs et la protéine **VP24** (4M0Q) à l'aide de la méthode de Docking moléculaire en utilisant le logiciel Schrödinger. Notre étude se base sur plusieurs paramètres clés, notamment le score de Docking et les distances entre certains groupements de la chaîne latérale de la protéine et ceux des inhibiteurs, ainsi que les différents types d'interactions qui se produisent entre certains acides aminés de la protéine étudiée et de l'inhibiteur.

Par ailleurs, nous aborderons l'étude des propriétés moléculaires des ligands en évaluant leur caractère DRUG-LIKENESS, ainsi que leurs propriétés **ADME-Tox**.

2. Résultats et discussion

2.1. Résultats de Docking moléculaire

Un criblage virtuel est effectué avec l'outil **GLIDE** pour prédire les molécules principales qui se lient sélectivement aux résidus biologiquement actifs de la protéine **VP24**. Une boîte de grille est générée avec des résidus actifs de la protéine **VP24** à l'aide de la génération de grille de récepteur dans l'outil de glissement de la suite de Schrödinger, pour obtenir la bonne interaction d'amarrage au niveau du domaine de liaison créé.

Nous avons étudiés les interactions entre la protéine **VP24** (4M0Q) et les inhibiteurs en utilisant le logiciel Discovery studio, en comparant les interactions de Bisdéméthoxycurcumine² similaire à nos inhibiteurs dans sa structure avec notre protéine.

Premièrement, nous allons exposer les résultats des scores de Docking **SP** et **XP** ainsi que de l'énergie de Glide des ligands, où les scores inférieurs à -6 Kcal/mol ont été obtenus à l'aide du logiciel Schrödinger (**Tableau IV.1**).

Les conformations de chaque ligand obtenues à l'aide de l'étape de Docking **XP** sont présentées dans l'**Annexe N° 02**.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

Tableau IV. 1 Résultats de de scores inférieur à -6 Kcal/mol de la protéine 4M0Q avec les ligands.

Ligands	SP Docking score (Kcal/mol)	XP Docking score (Kcal/mol)	Glide Energie (Kcal/mol)
CID163102707	-8.952	-9.660	-30.869
CID162994788	-8.044	-8.645	-46.607
CID76047846	-7.550	-8.400	-35.440
CID162966423	-7.750	-8.374	-27.940
CID163858558	-7.396	-8.134	-42.437
CID75069707	-7.620	-7.973	-30.612
CID162934567	-6.759	-7.525	-55.459
CID163108317	-6.756	-7.137	-68.125
CID75110805	-6.066	-7.105	-32.759
CID22298413	-6.809	-6.996	-48.130
CID162818176	-6.541	-6.971	-36.650
CID162897348	-6.373	-6.874	-29.765
CID73657143	-6.546	-6.855	-33.815
CID155130667	-5.380	-6.855	-54.905
CID85225929	-5.756	-6,410	-38.877
CID102126897	-5.236	-6.390	-36.070
CID73815018	-5.610	-6.357	-32.806
Bisdéméthoxycurcumine	-3.918	-4.334	-49.52

Le protocole utilisé dans le Docking moléculaire avec le logiciel Schrödinger est montré dans la Figure IV.1:

Chapitre IV : Résultats et Discussion

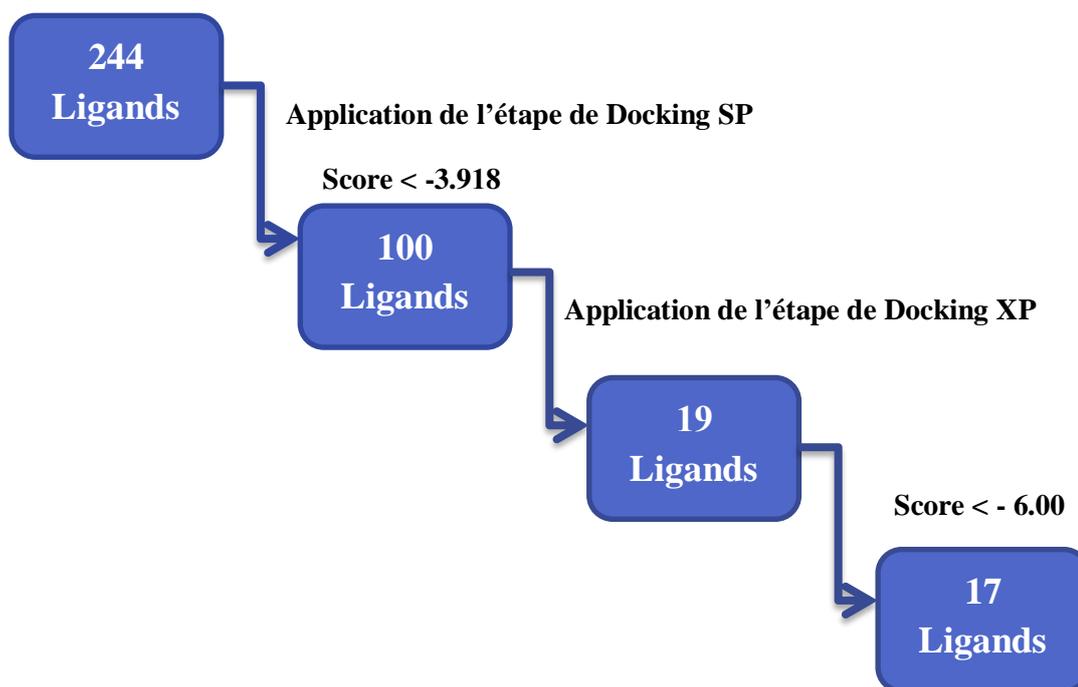


Figure IV.1 Le protocole utilisé dans le Docking moléculaire.

2.1.1. Étude des interactions protéine-ligand

Dans notre étude, nous avons examiné la conformation la plus stable du complexe protéine-ligand, qui correspond au niveau d'énergie le plus bas. Cette partie de notre étude a été réalisée en utilisant les six meilleurs ligands CID (163102707, 162994788, 76047846, 162966423, 163858558 et 75069707). En choisissant les ligands avec les scores d'énergie les plus faibles, nous cherchions à identifier les composés qui présentaient une meilleure complémentarité et interaction avec la protéine cible par rapport à Bisdéméthoxycurcumine.

Les résultats des interactions entre ces ligands et la protéine sont présentés dans le **Tableau IV.2**, et les structures **2D** et **3D** des interactions protéine-ligand ont été visualisées à l'aide du logiciel Discovery Studio. Dans cette analyse, les composés interagissent avec les résidus d'acides aminés du site actif par le biais de forces d'interaction telles que la liaison hydrogène et l'interaction hydrophobe.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

Tableau IV.2 Les interactions des meilleurs inhibiteurs de la protéine 4M0Q.

Complexes (Ligands -4M0Q)	Les interactions	Les catégories	Les types
CID163102707-4M0Q	ASP124	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	THR183	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	SER123	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN184	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN184	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN103	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	ASP124	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	GLN103	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	GLY120	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	GLY120	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	LEU121	Hydrophobe	Alkyl
	LEU121	Hydrophobe	Alkyl
CID1629943788-4M0Q	GLU180	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	ASP108	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	ASP104	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	ALA116	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN103	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN103	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN184	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN184	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLY120	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	GLN184	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	GLN103	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
CID76047846-4M0Q	ASP124	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	THR183	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	SER123	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN184	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN184	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN103	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	ASP124	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	GLN103	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	GLY120	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ALA116	Hydrophobe	Alkyl
CID162966423-4M0Q	ASP124	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN184	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	SER123	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN103	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	ASP124	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	GLN103	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	GLY120	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ILE107	Hydrophobe	Alkyl
	ILE107	Hydrophobe	Alkyl
ALA120	Hydrophobe	Alkyl	

Chapitre IV : Résultats et Discussion

CID163858558-4M0Q	ASP124	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN184	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN103	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN103	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLY120	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ALA116	Hydrophobe	Alkyl
	ALA116	Hydrophobe	Alkyl
	ALA116	Hydrophobe	Alkyl
CID75069707-4M0Q	ILE107	Hydrophobe	Alkyl
	ASP124	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN184	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	SER123	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN103	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	ASP124	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
Bisdéméthoxycurcumine -4M0Q	GLN103	Hydrogène	Carbone hydrogène bond
	ASP124	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	ASP108	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	GLN103	Hydrogène	Conventionnel hydrogène bond
	ASP108	Hydrophobe	Pi-Anion
SER123	Hydrophobe	Amide-Pi Stacked	

✚ Les interactions protéine-Bisdéméthoxycurcumine

La re-Docking du ligand de référence fait référence au processus de repositionnement du ligand de référence dans le site de liaison d'une cible protéique, Le but du re-Docking est de vérifier la capacité du logiciel de Docking à prédire avec précision la pose du ligand de référence dans le site de liaison, en utilisant les informations de structure de la cible.

La re-Docking du ligand de référence (Bisdéméthoxycurcumine) a été réalisée à l'aide du logiciel Schrödinger. Les résultats ont révélé un score de -4,334 Kcal/mol, Il est observé que le ligand de référence a établi cinq interactions avec le récepteur 4M0Q:

- Deux liaisons hydrogène ont été établies entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus **ASP124** et **ASP108** de la protéine.
- Le ligand de référence a également formé une liaison hydrogène entre l'atome d'oxygène du ligand et le résidu **GLN103** de la protéine.
- Enfin, deux liaisons hydrophobes ont été formées entre le cycle benzénique du ligand de référence et les résidus **ASP108**, **SER123** de la protéine.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

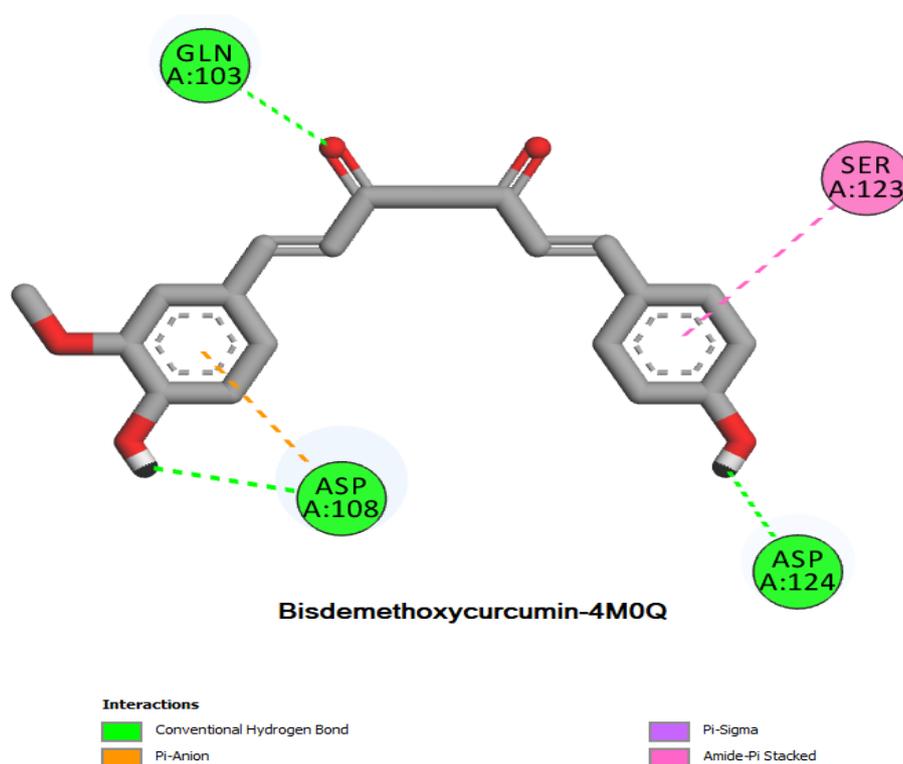


Figure IV.2 Interactions entre le ligand de référence et les résidus de 4M0Q (structure **2D**).

✚ Les interactions protéine-CID163102707

La complexe **CID163102707-4M0Q** a un score de Docking moléculaire faible de -9.660 Kcal/mol, ce qui indique une forte affinité entre le composé et la protéine. De plus, ce composé est le meilleur inhibiteur identifié lors de notre criblage virtuel en termes de score. Dans cette conformation, il forme 12 interactions avec la protéine, comprenant des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes avec différents résidus d'acides aminés de la protéine.

➤ Nous avons observé dix liaisons hydrogène différentes dans le complexe étudié. Sept d'entre elles se sont formées entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus **ASP124**, **GLN103**, **THR183**, **SER123** et **GLY120**. Pour le résidu **ASP124**, deux liaisons ont été détectées à des distances de 1.59 Å et 2.30 Å, tandis que pour le résidu **GLN103**, les liaisons ont été mesurées à des distances de 1.86 Å et 2.56 Å, et trois autres impliquant les résidus **THR183**, **SER123** et **GLY120** avec les distances 1.91 Å, 2.13 Å et 2.71 Å respectivement. Nous avons également identifié deux liaisons formées entre les atomes d'oxygène du ligand et les atomes d'hydrogène du résidu **GLN184**, avec des distances de 2.03 Å et 2.47 Å. Enfin, une liaison a été observée entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome de carbone du résidu **GLY120**, à une distance de 3.68 Å.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

➤ De plus, nous avons détecté deux liaisons hydrophobes entre le résidu **LEU121** et les atomes de carbone du ligand, mesurées à des distances de 5.21 Å et 4.54 Å.

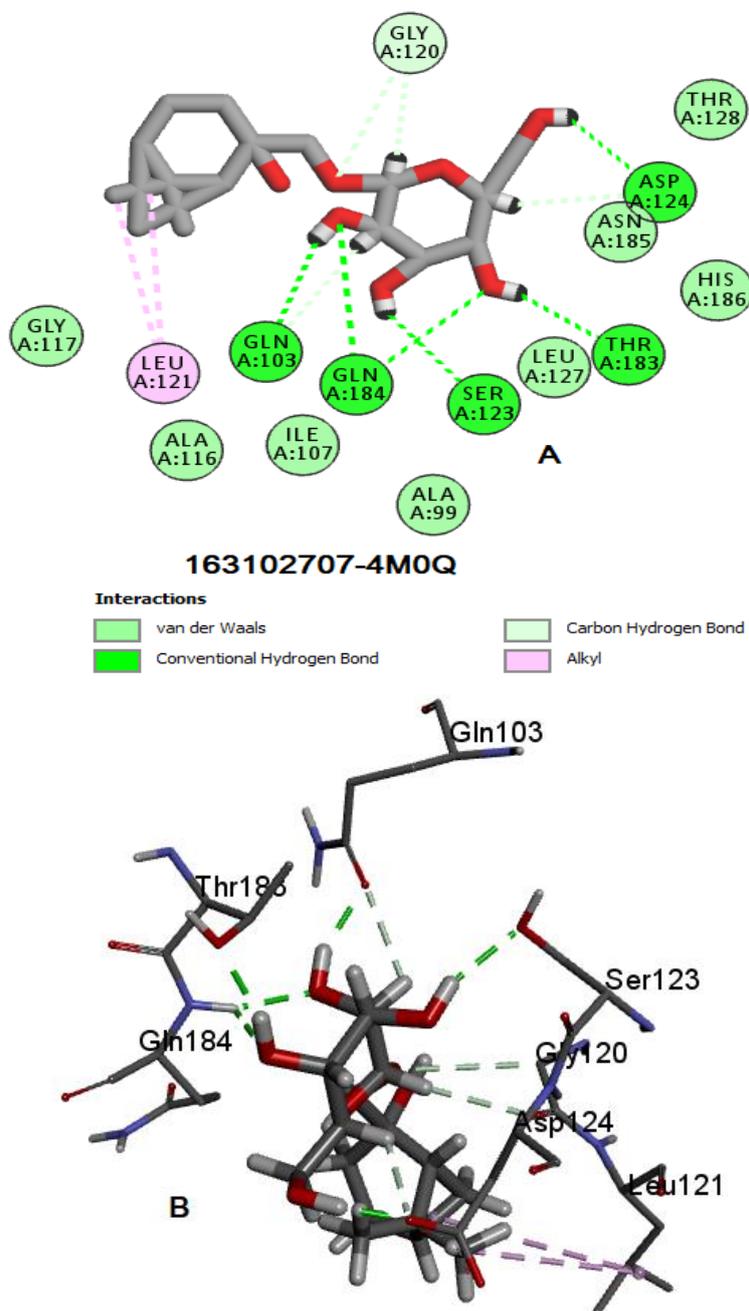


Figure IV. 3 Les interactions entre le ligand CID163102707 et la protéine VP24 (A: 2D ; B: 3D).

Chapitre IV : Résultats et Discussion

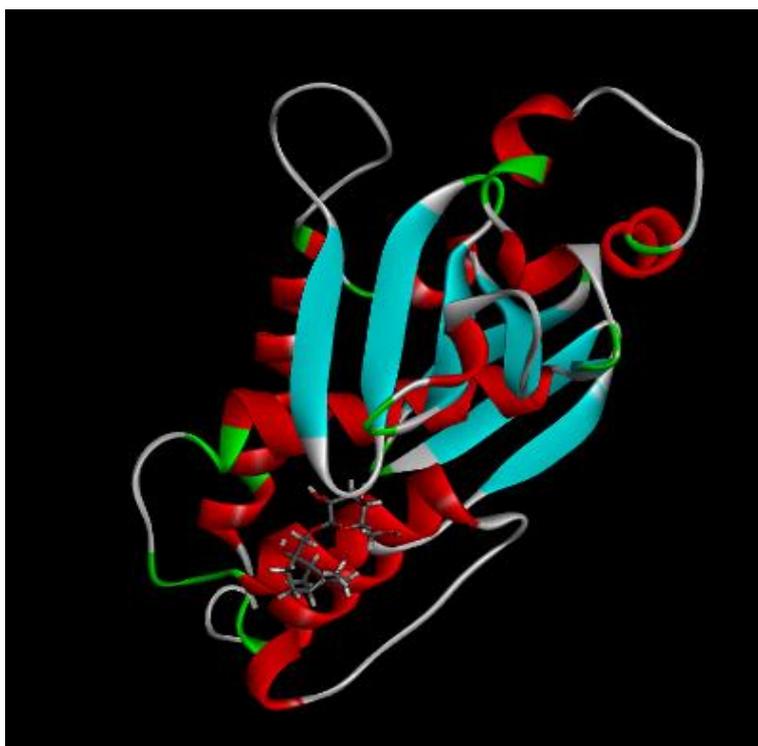


Figure IV. 4 Les structures 3D de la protéine VP24 avec le ligand CID163102707.

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:GLN184:HN - :UNK900:O4	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	2,03609	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2 A:GLN184:HN - :UNK900:O6	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	2,47756	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3 :UNK900:H25 - A:GLN103:OE1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	1,8601	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4 :UNK900:H26 - A:SER123:OG	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	2,13657	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5 :UNK900:H27 - A:THR183:OG1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	1,91289	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
6 :UNK900:H28 - A:ASP124:OD1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	1,59676	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
7 A:GLY120:CA - :UNK900:O2	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand No...	3,68825	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8 :UNK900:H18 - A:GLY120:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand No...	2,71391	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
9 :UNK900:H19 - A:GLN103:OE1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand No...	2,56271	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
10 :UNK900:H21 - A:ASP124:OD1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand No...	2,30772	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
11 :UNK900 - A:LEU121	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand No...	5,21285	Hydrophobic	Alkyl
12 :UNK900:C8 - A:LEU121	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand No...	4,54159	Hydrophobic	Alkyl

Tableau IV.3 Les interactions entre le ligand CID163102707 et la protéine VP24.

Les interactions protéine-CID162994788

Le score de Docking moléculaire du complexe est de -8.645 Kcal/mol, ce qui est considéré comme un score faible, indiquant une forte interaction entre le ligand et la protéine. Le complexe forme un total de 12 liaisons, ce qui suggère une forte affinité entre le ligand et le site actif de la protéine:

➤ Ce complexe présente 12 liaisons de type hydrogène : neuf liaisons sont formées entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus **GLN103**, **ASP104**, **GLN184**, **ALA116**, **ASP108** et **GLU180**, avec trois liaisons pour le résidu **GLN103** avec des distances de 1.94 Å, 2.72 Å et 2.46 Å, et deux liaisons pour le résidu **ASP104** avec des distances de 1.57 Å et

Chapitre IV : Résultats et Discussion

2.58 Å, tandis que les quatre autres liaisons concernent les résidus **GLN184**, **ALA116**, **ASP108** et **GLU180** avec des distances respectives de 2.51 Å, 2.14 Å, 1.98 Å et 1.94 Å. De plus, deux liaisons sont formées entre les atomes d'oxygène du ligand et les atomes d'hydrogène du résidu **GLN184** avec des distances de 3.06 Å et 2.01 Å. Enfin, une liaison est observée entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome de carbone du résidu **GLY120**, avec une distance de 3.36 Å.

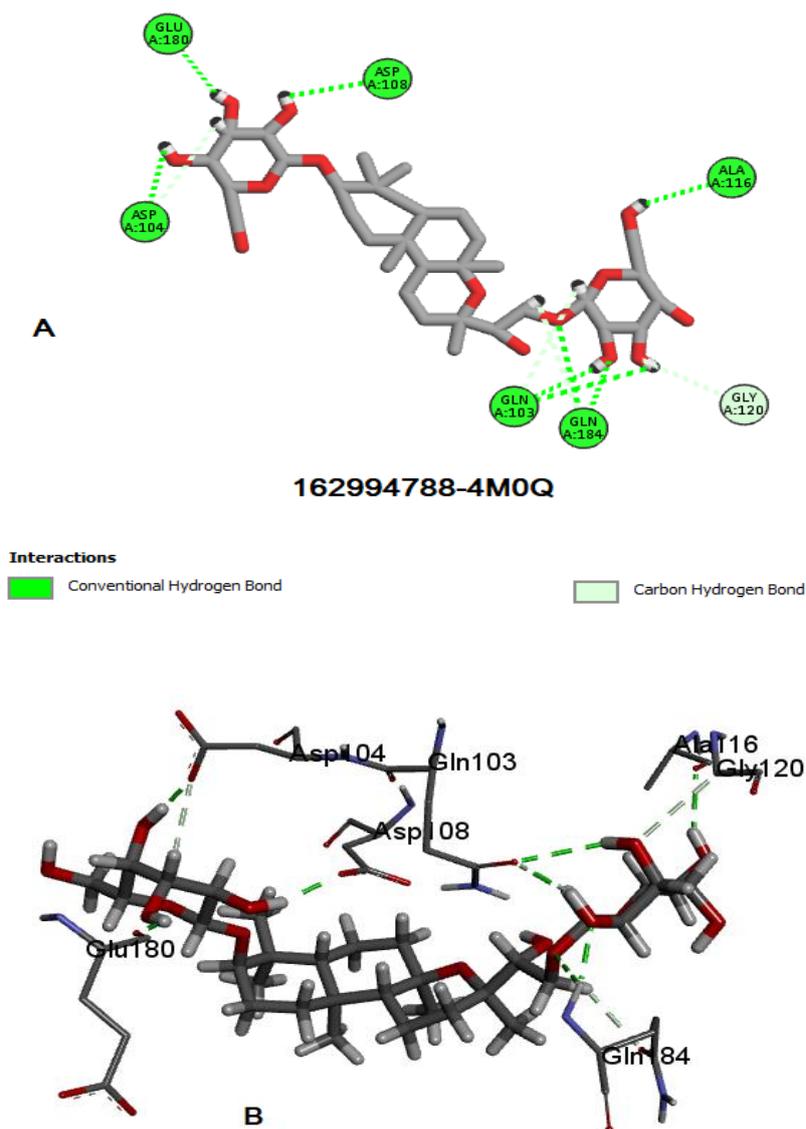


Figure IV.5 Les interactions entre le ligand CID162994788 et la protéine VP24 (A: 2D ; B: 3D).

Chapitre IV : Résultats et Discussion

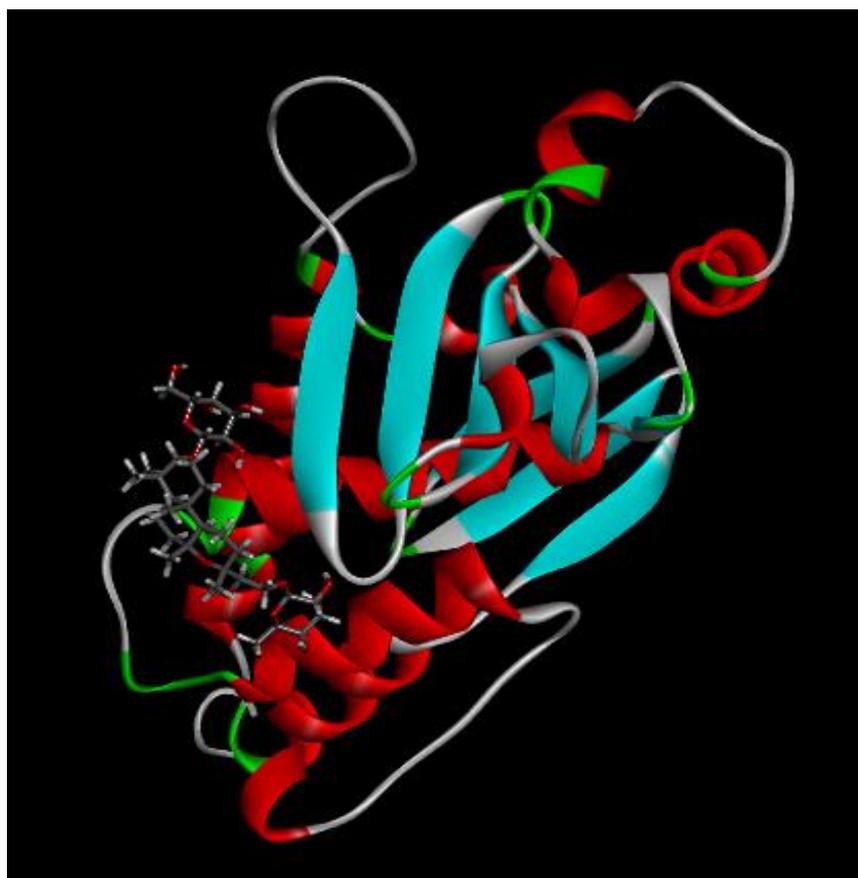


Figure IV.6 Les structures 3D de la protéine VP24 avec le ligand CID162994788.

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:GLN184:HN - :UNK900:O5	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	3,06236	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2 A:GLN184:HN - :UNK900:O11	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,01174	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3 :UNK900:H40 - A:ASP108:OD2	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	1,98867	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4 :UNK900:H44 - A:GLU180:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	1,94579	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5 :UNK900:H46 - A:ASP104:OD1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	1,57224	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
6 :UNK900:H51 - A:GLN103:OE1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	1,96324	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
7 :UNK900:H54 - A:GLN103:OE1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,72646	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
8 :UNK900:H56 - A:ALA116:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,14445	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
9 A:GLY120:CA - :UNK900:O12	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	3,36182	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
10 :UNK900:H33 - A:GLN184:OE1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,51157	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
11 :UNK900:H37 - A:ASP104:OD1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,5811	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
12 :UNK900:H41 - A:GLN103:OE1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,46433	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond

Tableau IV.4 Les interactions entre le ligand CID162994788 et la protéine VP24.

✚ Les interactions protéine-CID76047846

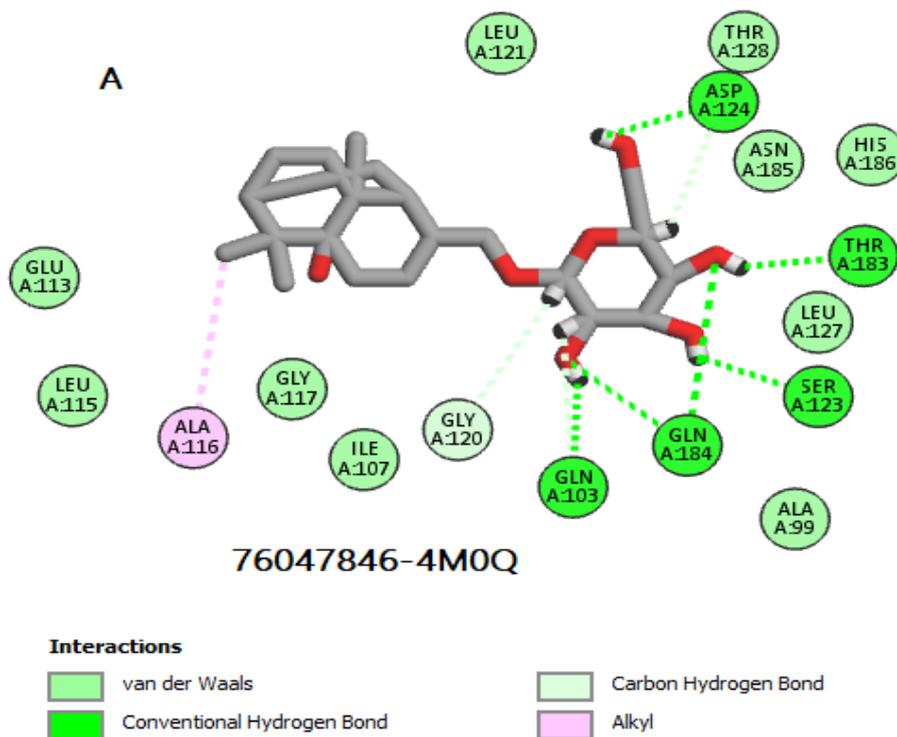
Ce complexe présente un total de 10 liaisons et affiche un score de -8.400 Kcal/mol:

➤ Le ligand forme neuf liaisons de type hydrogène. Sept liaisons formées entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus **ASP124**, **GLN103**, **THR183**, **SER123** et **GLY120**, dont deux liaisons pour **ASP124** (1.59 Å et 2.30 Å), deux pour **GLN103** (1.88 Å et

Chapitre IV : Résultats et Discussion

2.58 Å), et trois pour **THR183**, **SER123** et **GLY120** (1.91 Å, 2.15 Å et 2.65 Å respectivement). De plus, il y a deux liaisons formées entre les atomes d'oxygène du ligand et les atomes d'hydrogène du résidu **GLN184** (2.02 Å et 2.47 Å).

➤ Enfin, une liaison de type hydrophobe est observée entre le carbone du ligand et le résidu **ALA116** avec une distance de 4.49 Å.



Chapitre IV : Résultats et Discussion

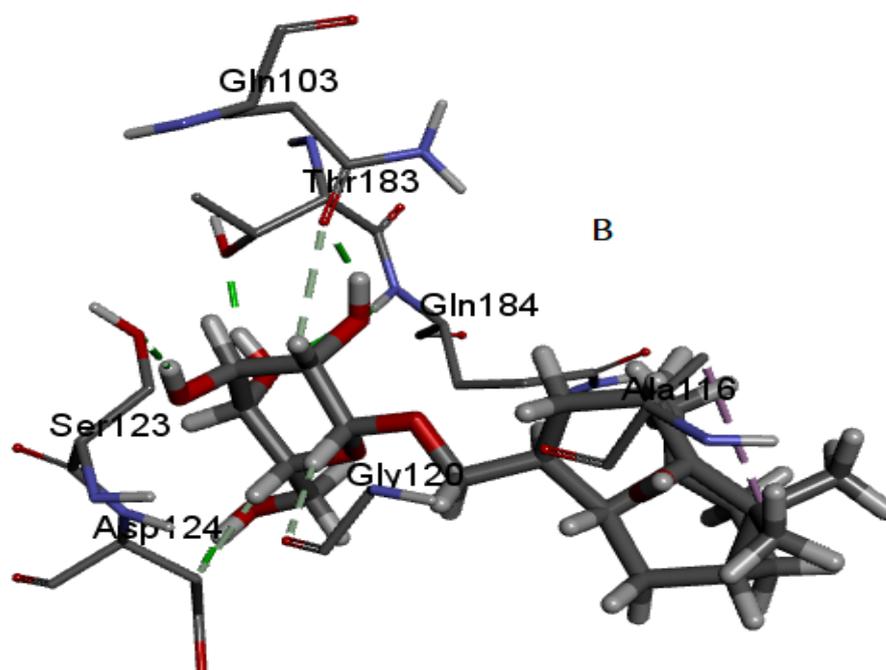


Figure IV.7 Les interactions entre le ligand CID76047846 et la protéine VP24 (A: 2D ; B: 3D).

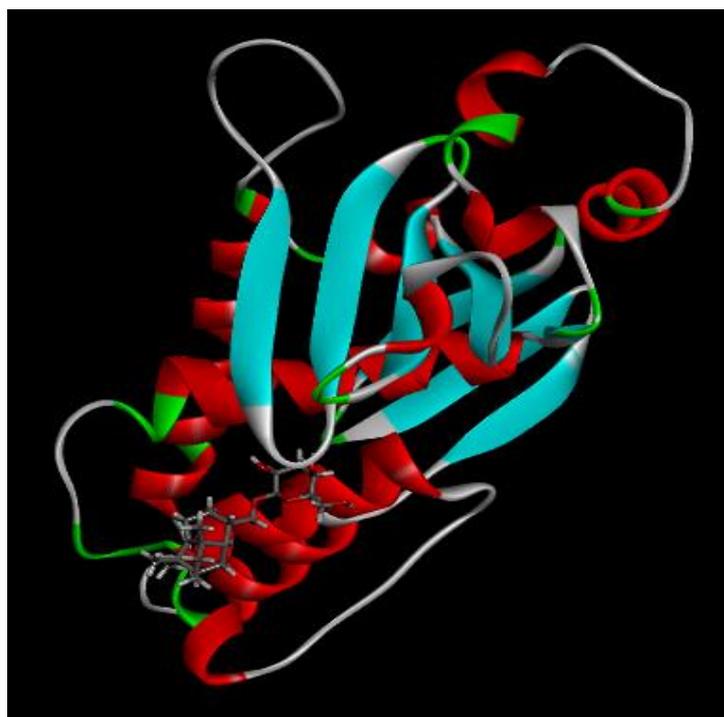


Figure IV. 8 Les structures 3D de la protéine VP24 avec le ligand 76047846.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:GLN184:HN - :UNK900:O4	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	2,02176	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2 A:GLN184:HN - :UNK900:O6	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	2,47676	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3 :UNK900:H31 - A:GLN103:OE1	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	1,88171	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4 :UNK900:H34 - A:SER123:OG	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	2,15426	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5 :UNK900:H35 - A:THR183:OG1	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	1,9118	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
6 :UNK900:H36 - A:ASP124:OD1	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	1,59481	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
7 :UNK900:H26 - A:GLY120:O	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	2,65765	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8 :UNK900:H27 - A:GLN103:OE1	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	2,58261	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
9 :UNK900:H29 - A:ASP124:OD1	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	2,30816	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
10 A:ALA116 - :UNK900:C14	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	4,4939	Hydrophobic	Alkyl

Tableau IV.5 Les interactions entre le ligand CID76047846 et la protéine VP24.

✚ Les interactions protéine-CID162966423

Le score de ce complexe est de -8.374 Kcal/mol, avec formation de 10 liaisons:

➤ Il y a sept liaisons de type hydrogène dans ce complexe, dont six sont formées entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus **ASP124**, **GLN103**, **GLY120** et **SER123**. Les distances de deux liaisons du résidu **ASP124** sont de 1.64 Å et 2.32 Å, celles de deux liaisons du résidu **GLN103** sont de 1.66 Å et 2.92 Å, et les distances des deux autres liaisons formées avec les résidus **GLY120** et **SER123** sont de 2.67 Å et 2.18 Å, respectivement. De plus, une liaison est formée entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu **GLN184**, avec une distance de 2.14 Å.

➤ En outre, ce complexe présente trois liaisons de type hydrophobe, dont deux sont formées entre le cycle benzénique du ligand et les résidus **ILE107** et **ALA116**, avec des distances respectives de 5.45 Å et 4.52 Å, tandis que l'autre liaison est formée entre le carbone du ligand et le résidu **ILE107**, avec une distance de 4.39 Å.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

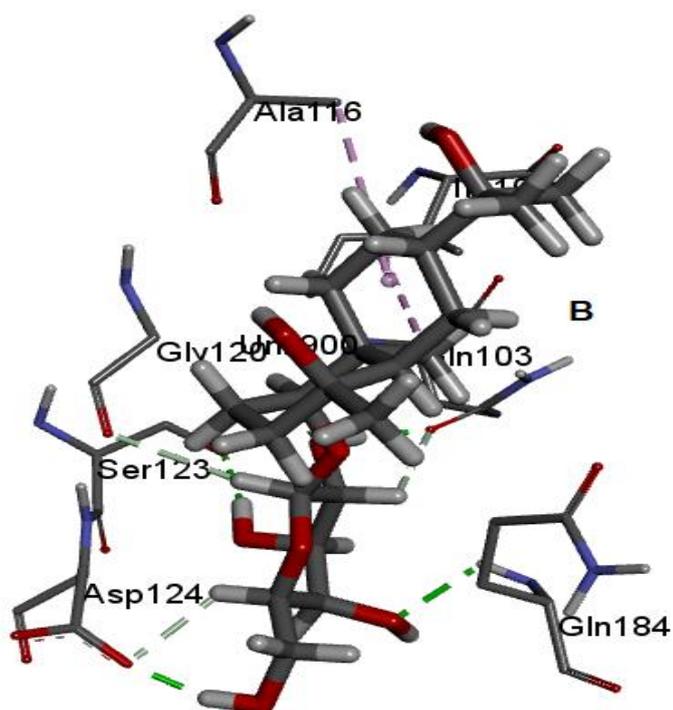
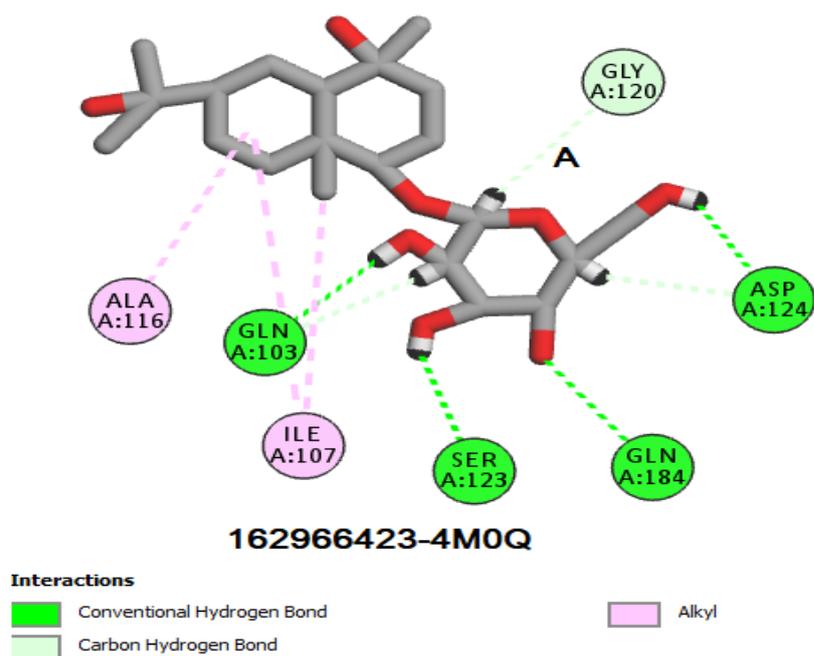


Figure IV. 9 Les interactions entre le ligand CID162966423 et la protéine VP24 (A: 2D ; B: 3D).

Chapitre IV : Résultats et Discussion



Figure IV.10 Les structures 3D de la protéine **VP24** avec le ligand **CID162966423**.

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:GLN184:HN - :UNK900:O7	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	2,14642	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2 :UNK900:H33 - A:GLN103:OE1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	1,66625	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3 :UNK900:H36 - A:SER123:OG	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	2,18057	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4 :UNK900:H38 - A:ASP124:OD1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand No...	1,64555	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5 :UNK900:H2 - :UNK900:O5	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand No...	2,76177	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
6 :UNK900:H21 - A:GLY120:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand No...	2,67537	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
7 :UNK900:H29 - A:GLN103:OE1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand No...	2,92814	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8 :UNK900:H31 - A:ASP124:OD1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand No...	2,32117	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
9 A:ALA116 - :UNK900	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand No...	4,52987	Hydrophobic	Alkyl
10 :UNK900 - A:ILE107	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand No...	5,45855	Hydrophobic	Alkyl
11 :UNK900:C11 - A:ILE107	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand No...	4,39759	Hydrophobic	Alkyl

Tableau IV.6 Les interactions entre le ligand **CID162966423** et la protéine **VP24**.

✚ Les interactions protéine-CID163858558

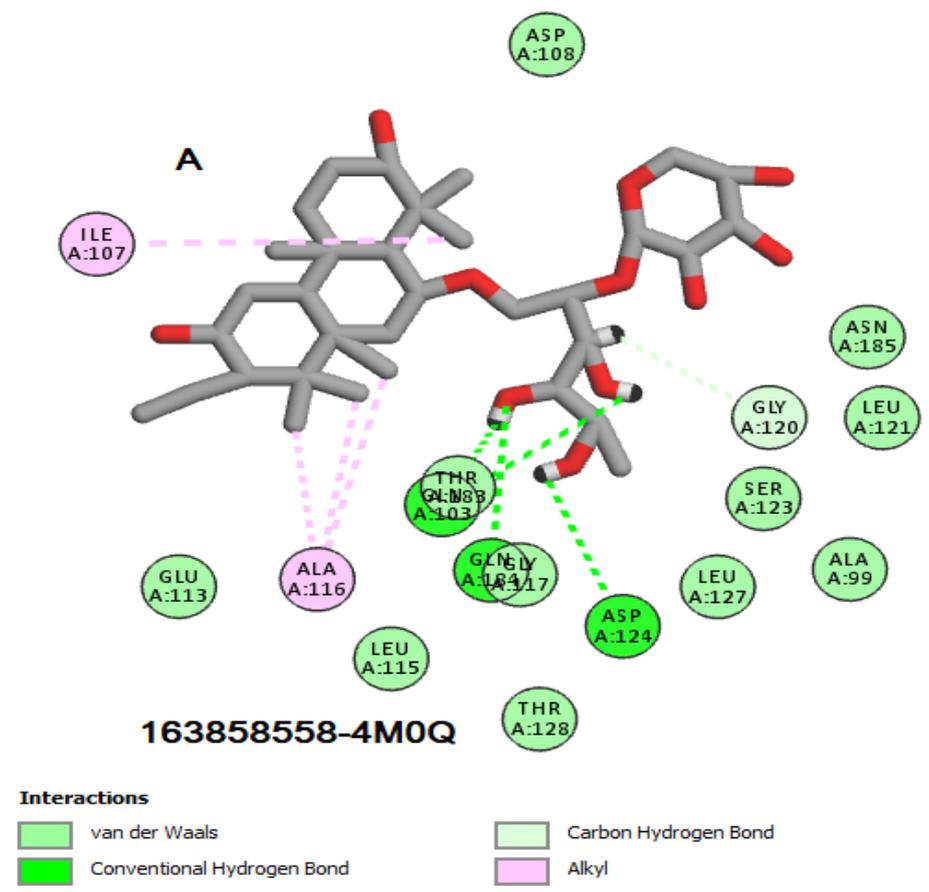
Le score de ce complexe est de -8.134 Kcal/mol et il établit neuf liaisons:

➤ Le complexe présente cinq liaisons hydrogène, dont quatre impliquent les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus **GLN103**, **ASP124** et **GLY120**. Les distances des deux liaisons de **GLN103** sont de 2.09 Å et 2.06 Å, tandis que les deux liaisons d'**ASP124** et **GLY120** ont des distances respectives de 2.60 Å et 2.42 Å. De plus, il y a une liaison

Chapitre IV : Résultats et Discussion

entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu **GLN184**, avec une distance de 2.01 Å.

➤ Il y a également quatre liaisons de type hydrophobe formées entre les atomes de carbone du ligand et les résidus **ALA116** et **ILE107**. Trois liaisons sont de résidu **ALA116** avec des distances de 3.84 Å, 3.79 Å et 3.84 Å, tandis qu'une autre liaison est de résidu **ILE107** avec une distance de 5.09 Å.



Chapitre IV : Résultats et Discussion

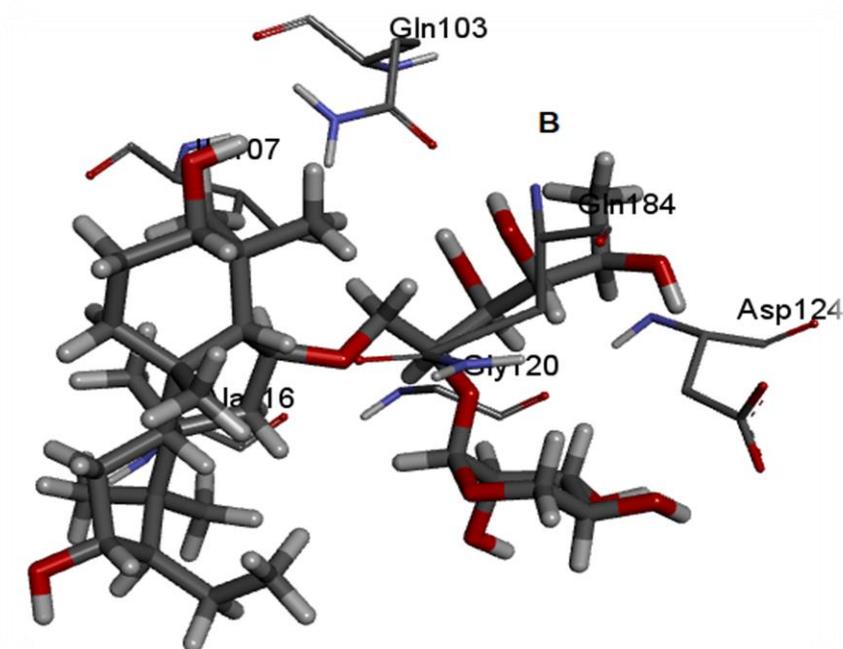


Figure IV.11 Les interactions entre le ligand CID163858558 et la protéine VP24 (A: 2D ; B: 3D).



Figure IV.12 Les structures 3D de la protéine VP24 avec le ligand CID163858558.

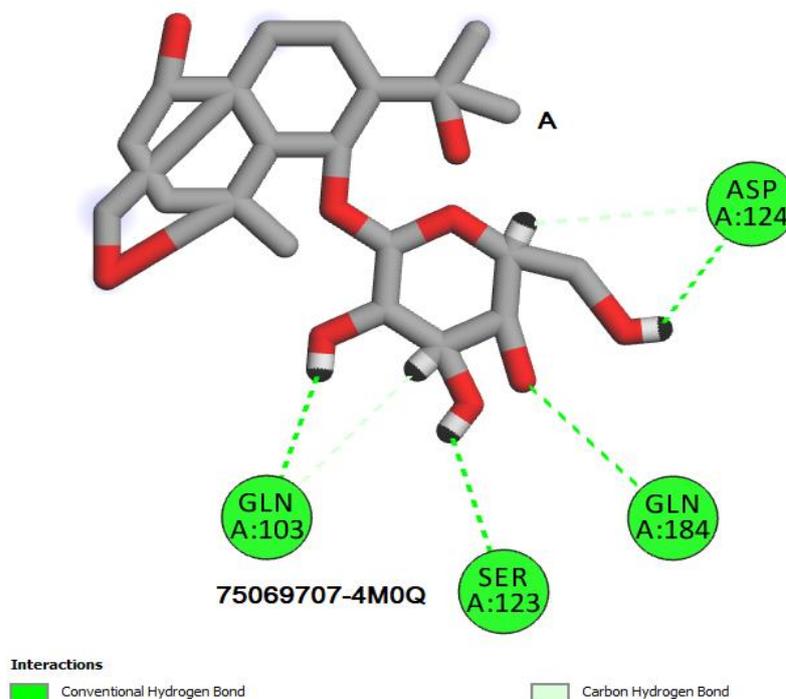
Chapitre IV : Résultats et Discussion

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:GLN184:HN - :UNK900:O6	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	2,01673	Hydrogen Bond	Conventional Hydroge...
2 :UNK900:H46 - A:GLN103:OE1	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	2,09924	Hydrogen Bond	Conventional Hydroge...
3 :UNK900:H49 - A:GLN103:OE1	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	2,06965	Hydrogen Bond	Conventional Hydroge...
4 :UNK900:H57 - A:ASP124:OD1	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	2,60742	Hydrogen Bond	Conventional Hydroge...
5 :UNK900:H40 - :UNK900:O6	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	2,41735	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
6 :UNK900:H43 - A:GLY120:O	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	2,42255	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
7 :UNK900:H45 - :UNK900:O1	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	2,71998	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8 A:ALA116 - :UNK900:C14	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	3,84223	Hydrophobic	Alkyl
9 A:ALA116 - :UNK900:C17	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	3,79908	Hydrophobic	Alkyl
10 A:ALA116 - :UNK900:C18	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	3,84069	Hydrophobic	Alkyl
11 :UNK900:C20 - A:ILE107	<input type="checkbox"/> No	■	Ligand No...	5,09174	Hydrophobic	Alkyl

Tableau IV.7 Les interactions entre le ligand CID163858558 et la protéine VP24.

✚ Les interactions protéine-CID75069707

➤ Le complexe présent affiche un score de -7.973 Kcal/mol, qui est attribué à la formation de six liaisons de type hydrogène. Les atomes d'hydrogène du ligand se lient aux atomes d'oxygène des résidus **ASP124**, **GLN103** et **SER123** pour former cinq liaisons distinctes. Le résidu **ASP124** forme deux liaisons, dont les distances sont de 1.89 Å et 2.23 Å, tandis que le résidu **GLN103** forme également deux liaisons, avec des distances de 1.82 Å et 3.07 Å. La dernière liaison est formée avec le résidu **SER123**, à une distance de 2.28 Å. De plus, une liaison est formée entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu **GLN184**, à une distance de 2.26 Å.



Chapitre IV : Résultats et Discussion

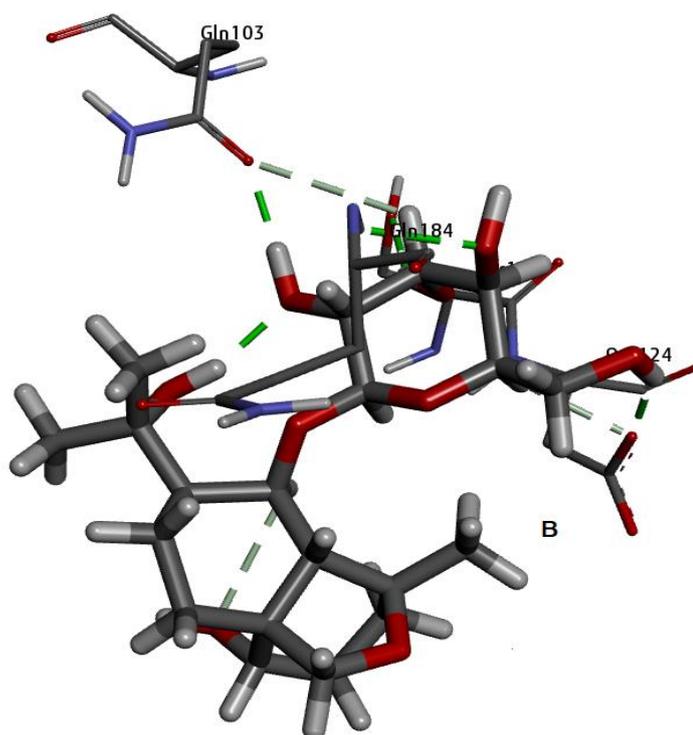


Figure IV.13 Les interactions entre le ligand CID75069707 et la protéine VP24 (A: 2D ; B: 3D).



Figure IV.14 Les structures 3D de la protéine VP24 avec le ligand CID75069707.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 :A:GLN184:HN - :UNK900:O8	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand Non-bond Monitor	2,26944	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2 :UNK900:H26 - :UNK900:O6	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand Non-bond Monitor	1,89032	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3 :UNK900:H31 - A:GLN103:OE1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand Non-bond Monitor	1,82537	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4 :UNK900:H34 - A:SER123:OG	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand Non-bond Monitor	2,28985	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5 :UNK900:H36 - A:ASP124:OD1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand Non-bond Monitor	1,89232	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
6 :UNK900:H2 - :UNK900:O3	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand Non-bond Monitor	3,0126	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
7 :UNK900:H28 - A:GLN103:OE1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand Non-bond Monitor	3,07713	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8 :UNK900:H29 - A:ASP124:OD1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand Non-bond Monitor	2,23455	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond

Tableau IV.8 Les interactions entre le ligand CID75069707 et la protéine **VP24**.

2.1.2. Discussion de Docking moléculaire

Les résultats présentés dans le **Tableau IV.1** révèlent ce qui suit:

En comparant le score de Bisdéméthoxycurcumine avec ceux de tous les autres ligands, nous avons conclu que 17 inhibiteurs présentent une faible énergie (score inférieur à -6 Kcal/mol).

Les complexes des six ligands **CID (163102707, 162994788, 76047846, 162966423, 163858558 et 75069707)** formés avec le récepteur 4M0Q présentent les scores les plus faibles par rapport au ligand de référence, suggérant ainsi qu'ils sont les plus stables. En conséquence, on peut ordonner ces ligands par rapport au ligand de référence comme suit:

CID163102707 < CID162994788 < CID76047846 < CID162966423 < CID163858558 < CID75069707 < Bisdéméthoxycurcumine.

Selon les résultats de **Tableau IV.2**:

Nous avons constaté que les distances d'interactions hydrogène dans nos complexes étaient généralement courtes (Distances entre 2.5 Å et 3.1 Å), ce qui suggère une interaction forte.

Le nombre de liaisons hydrogène dans les complexes formés est élevé, ce qui a contribué à la stabilité de ces composés.

Les résultats de notre étude ont identifié plusieurs acides aminés clés qui jouent un rôle crucial dans la formation des liaisons les plus favorables avec le ligand. Ces acides aminés sont **SER123, ASP124, GLN103, GLY120, GLN184 et ALA116**. Ils ont été observés pour être les principaux résidus impliqués dans les interactions dans le site actif de la cible étudiée.

Ces acides aminés spécifiques sont souvent impliqués dans des interactions spécifiques, telles que des liaisons hydrogène (**ASP124, GLN103, GLY120**) des interactions hydrophobes

Chapitre IV : Résultats et Discussion

(ALA116, SER123., etc). Leur présence et leur arrangement spatial dans le site actif de la cible permettent une reconnaissance et une liaison optimales avec le ligand.

2.2. Résultats des propriétés moléculaires (DRUG LIKNESS)

Suite à l'étude antérieure, nous avons identifié 17 composés comme étant les meilleurs inhibiteurs par rapport à la Bisdéméthoxycurcumine. Pour approfondir notre analyse, nous procédons à l'évaluation de leurs propriétés moléculaires selon divers règles :

2.2.1. Application de la règle de LIPINSKI

Tableau IV.9 Les résultats de la règle de LIPINSKI pour les meilleurs ligands sur 4M0Q.

Ligands	Masse(UMA)	Log P	N°OHNH	N°ON	Nombre de violation
CID163102707	332.39	-1.01	5	7	0
CID162994788	664.78	-1.47	9	14	3
CID76047846	400.51	0.41	5	7	0
CID162966423	418.52	-0.09	6	8	1
CID163858558	632.82	0.95	8	11	3
CID75069707	432.51	-1.10	6	9	1
CID162934567	664.78	-1.47	9	14	3
CID163108317	632.82	0.95	8	11	3
CID75110805	434.52	-1.26	7	9	1
CID22298413	416.51	-0.07	5	8	0
CID162818176	392.48	-0.62	6	8	1
CID162897348	420.49	-1.65	7	9	1
CID73657143	434.52	-1.12	7	9	1
CID155130667	544.72	2.28	6	9	2
CID85225929	402.52	0.94	5	7	0
CID102126897	402.52	0.94	5	7	0

Chapitre IV : Résultats et Discussion

CID73815018	392.48	-0.48	6	8	1
Bisdéméthoxycurcumine	308.33	3.13	2	4	0

N°ON : Liaisons hydrogène accepteurs, N° OHNH : Liaisons hydrogène donateurs.

Le **Tableau IV.9** fournit les informations suivantes:

✚ **Les valeurs des poids moléculaire:** Les ligands avec des poids moléculaires inférieurs à 500 UMA, tels que **CID (163102707, 76047846, 162966423, 75069707, 75110805, 22298413, 162818176, 162818176, 162897348, 73657143, 85225929, 102126897, 73815018)** et **Bisdéméthoxycurcumine**; ont généralement une meilleure capacité à être absorbées par le corps. Leur taille réduite facilite leur passage à travers les membranes cellulaires, ce qui favorise une meilleure absorption après administration. Et aussi peuvent se disperser plus facilement dans les tissus et atteindre leur site d'action souhaité. Leur petite taille leur permet de pénétrer dans les espaces intercellulaires et de se diffuser plus rapidement dans l'organisme.

En revanche, les ligands ayant des poids moléculaires supérieurs à 500 UMA, tels que **CID (162994788, 163858558, 162934567, 163108317 et 155130667)**, sont considérés comme ayant une faible capacité de pénétration à travers les membranes cellulaires.

✚ **Les valeurs de log p:** Le coefficient de partage est un indicateur de la différence de solubilité des composés chimiques dans deux solvants différents: l'eau et l'octanol. Cette mesure permet de déterminer si un composé est hydrophile ou hydrophobe (lipophile) ⁴.

Les ligands **CID (76047846, 163858558, 163108317, 155130667, 85225929, 102126897)** et **Bisdéméthoxycurcumine** ont des valeurs de log P positives et inférieures à 5, ce qui indique leur caractère lipophile. Ces composés ont une bonne perméabilité à travers la membrane cellulaire, une forte affinité pour les protéines plasmatiques et une élimination métabolique via le foie. Cependant, ils ont une faible solubilité et une mauvaise tolérance gastrique.

En revanche, les ligands **CID (163102707, 162994788, 162966423, 75069707, 162934567, 75110805, 22298413, 162818176, 162897348, 73657143 et 73815018)** ont des valeurs de log P négatives, ce qui indique leur caractère hydrophile. Ces composés ont une bonne solubilité dans l'eau, une tolérance gastrique améliorée et une élimination efficace via les reins. Cependant, ils ont une faible perméabilité à travers la membrane cellulaire et une mauvaise affinité pour les protéines plasmatiques.

✚ **Nombre des liaisons d'hydrogène accepteur:** Les ligands **CID (163102707, 76047846, 162966423, 75069707, 75110805, 22298413, 162818176, 162897348, 73657143, 155130667,**

Chapitre IV : Résultats et Discussion

85225929, 102126897, 73815018) et **Bisdéméthoxycurcumine** présentent un nombre d'accepteurs d'hydrogène inférieur à 10, En revanche, les ligands **CID (162994788, 163858558, 162934567 et 163108317)** ont des valeurs supérieures à 10.

Une molécule avec moins de 10 liaisons hydrogène accepteur peut avoir une plus grande sélectivité dans son interaction avec les récepteurs cibles. Cela peut permettre de réduire les effets indésirables en minimisant les interactions non spécifiques avec d'autres composants du corps. Une molécule avec un nombre limité de liaisons hydrogène accepteur peut avoir une meilleure activité pharmacologique en se liant de manière plus spécifique à sa cible thérapeutique. Cela peut améliorer l'efficacité et réduire les doses nécessaires pour obtenir l'effet désiré.

✚ **Nombre des liaisons d'hydrogène donneur:** Les ligands **CID (163102707, 76047846, 22298413, 85225929, 102126897)** et **Bisdéméthoxycurcumine** présentent un nombre de donneurs d'hydrogène inférieur ou égal à 5, ce qui favorise les propriétés physico-chimiques, telles qu'une meilleure solubilité ou une meilleure perméabilité à travers les membranes biologiques. Cela peut faciliter l'absorption, la distribution et la biodisponibilité du médicament dans l'organisme.

En revanche, les ligands **CID (162994788, 162966423, 163858558, 75069707, 162934567, 163108317, 75110805, 162818176, 162897348, 73657143, 155130667 et 73815018)** ont un nombre de donneurs d'hydrogène supérieur à 5, ce qui réduit leur perméabilité à travers la bicouche lipidique.

✚ **Le nombre de violation:** Les ligands suivants ont des nombres de violations inférieurs ou égaux à 1 : **CID (163102707, 76047846, 162966423, 75069707, 75110805, 22298413, 162818176, 162897348, 73657143, 85225929, 102126897, 73815018)** et **Bisdéméthoxycurcumine**. En revanche, les ligands **CID (162994788, 163858558, 162934567, 163108317 et 155130667)** ont des nombres de violations supérieurs à 1.

Donc on à conclure que les composés **CID (163102707, 76047846, 162966423, 75069707, 75110805, 22298413, 162818176, 162897348, 73657143, 85225929, 102126897, 73815018)** et **Bisdéméthoxycurcumine** sont en accord avec la règle de LIPINSKI, ce qui suggère que ces composés théoriquement n'auront pas des problèmes avec la biodisponibilité orale.

2.2.2. Application de la Règle de VEBER

Après avoir vérifié le respect de la règle de Lipinski et confirmé les résultats positifs, nous pouvons également vérifier le respect de la règle de Veber pour assurer sa conformité. La règle de

Chapitre IV : Résultats et Discussion

Veber se concentre sur le nombre de liaisons libres dans la molécule et mesure la mobilité potentielle de la molécule.

Tableau IV.10 Les résultats de la règle de VEBER pour les meilleurs ligands sur 4M0Q.

Ligands	NRB	TPSA (Å ²)	Nombre de violation
CID163102707	4	119.61	0
CID162994788	8	228.22	1
CID76047846	4	119.61	0
CID162966423	4	139.84	0
CID163858558	9	189.53	1
CID75069707	4	149.07	1
CID162934567	8	228.22	1
CID163108317	12	189.53	2
CID75110805	4	160.07	1
CID22298413	4	128.84	0
CID162818176	7	139.84	0
CID162897348	4	160.07	1
CID73657143	4	160.07	1
CID155130667	7	149.07	1
CID85225929	4	119.61	0
CID102126897	4	119.61	0
CID73815018	6	139.84	0
Bisdéméthoxycurcumine	6	74.60	0

D'après le **Tableau IV.10**, on peut constater que:

✚ **Les valeurs des NRB:** Notre ensemble des composés présentent des valeurs de liaisons rotatives inférieures à 10, suggérant une faible flexibilité moléculaire lors de leur interaction avec une protéine, et donc des changements de conformation minimes. À l'exception du composé **CID163108317**, dont la valeur de liaison rotative dépasse 10, indiquant une plus grande flexibilité moléculaire et potentiellement une mauvaise biodisponibilité.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

✚ **Les valeurs des TPSA:** Les composés **CID (163102707, 76047846, 162966423, 22298413, 162818176, 85225929, 102126897, 73815018)** et **Bisdéméthoxycurcumine** ont des valeurs de surface moléculaire inférieures à 140 \AA^2 . Les molécules ayant une faible surface polaire ont tendance à être moins solubles dans les milieux aqueux. Cela peut limiter leur dissolution et leur disponibilité dans le corps, ce qui peut avoir un impact sur leur efficacité.

En revanche, les composés **CID (162994788, 163858558, 75069707, 162934567, 163108317, 75110805, 162897348, 73657143 et 155130667)** présentent des valeurs de surface moléculaire supérieures à 140 \AA^2 , ce qui indique une mauvaise capacité de transport à travers les membranes.

D'après les résultats obtenus de l'étude des propriétés moléculaires (DRUG LIKNESS) nous trouvons que seuls les composés **CID (163102707, 76047846, 162966423, 22298413, 162818176, 85225929, 102126897, 73815018)** et **Bisdéméthoxycurcumine** sont respectés les règles de VEBER et LIPINSKI. Le respect des règles de Veber et de Lipinski est une étape importante pour la sélection de composés potentiels en tant que médicaments.

2.3. Résultats des filtres ADME-Tox

L'étude du profil **ADME-Tox** des huit composés est très importante pour comprendre la capacité de ces composés à produire un effet thérapeutique souhaité et pour éviter l'apparition d'effets secondaires pouvant conduire à des résultats négatifs. D'autre part, la cible de prédiction d'**ADME-Tox** nous facilite également l'identification du meilleur composé potentiel pour tous les composés récupérés.

2.3.1. Absorption

Cette étape consiste à évaluer la capacité du composé à être absorbé dans le système biologique après administration. Le **Tableau IV.11** présente les résultats obtenus.

Tableau IV.11 Les résultats de l'Absorption.

Ligands	Solubilité dans l'eau (Log. Mol/L)	Perméabilité Caco2 (Log Papp an 10^{-6} cm/s)	Absorption intestinale (humain Absorbé %)	Perméabilité cutanée (Log.kp)	Glycoprotéine P de la Substrat
CID163102707	-2.758	0.51	54.86	-2.808	Oui
CID76047846	-3.358	0.711	61.67	-2.773	Oui
CID162966423	-3.194	0.23	50.70	-2.864	Oui

Chapitre IV : Résultats et Discussion

CID22298413	-3.399	0.313	59.589	-2.963	Oui
CID162818176	-2.545	0.195	31.999	-3.062	Oui
CID85225929	-3.421	0.154	58.662	-3.097	Oui
CID102126897	-3.416	0.154	58.662	-3.065	Oui
CID73815018	-2.227	0.233	35.743	-3.157	Oui
Bisdéméthoxycur- Cumine	-3.38	0.957	91.159	-2.804	Oui

Selon les résultats du **Tableau IV.11**:

✚ **Solubilité dans l'eau:** C'est une propriété importante de l'absorption. Selon le **Tableau IV.11**, tous les composés et la Bisdéméthoxycurcumine sont inférieures à -2, ils sont donc considérés comme des molécules soluble dans l'eau. La solubilité dans l'eau facilite l'administration du médicament, car de nombreux médicaments sont administrés sous forme de solutions orales ou injectables. Un composé soluble dans l'eau peut être formulé plus facilement dans ces formes galéniques et permet une administration plus pratique au patient.

✚ **Perméabilité caco2:** Les lignées cellulaires **Caco2** ou d'adénocarcinome colorectal épithélial humain sont couramment employées comme modèles in vitro pour anticiper l'absorption d'un médicament administré par voie orale dans la muqueuse intestinale humaine ⁵. Donc selon les résultats : seul la valeur prédite de Bisdéméthoxycurcumine supérieur à 0.90 il a donc une perméabilité élevée pour le **Caco2**. Par contre nos composés ont des valeurs inférieures à 0.90 donc une mauvaise perméabilité pour le **Caco2**. Une mauvaise perméabilité pour les cellules Caco-2 peut indiquer que le composé a du mal à traverser la barrière intestinale et à être absorbé efficacement dans la circulation sanguine. Cela peut entraîner une biodisponibilité réduite du médicament, c'est-à-dire que seule une faible quantité de médicament atteint la circulation systémique.

✚ **Absorption intestinale:** En raison de sa grande surface, l'intestin est le principal site d'absorption d'un médicament administré par voie orale ⁶. Si la valeur de l'absorbance d'une molécule est inférieure à 30%, on considère qu'elle est mal absorbée. Donc d'après notre analyse, les composés **CID (163102707, 76047846, 76047846, 162966423, 22298413, 85225929, 102126897)** et **Bisdéméthoxycurcumine**, ils ont une bonne absorption dans les intestins humains, tandis que les deux composés **CID (162818176 et 73815018)** sont mal absorbés.

✚ **Perméabilité cutanée:** Le développement de systèmes d'administration de médicaments transdermiques et d'autres formulations topiques de médicaments dépend largement de la

Chapitre IV : Résultats et Discussion

perméabilité cutanée ⁷. Une pénétration cutanée satisfaisante est attendue si le log K_p est supérieur à -2.5. D'après les résultats obtenus les valeurs de log K_p de tous les composés soit inférieur à -2.5, le fait que suggère généralement que leur capacité à traverser la peau est limitée.

✚ **Substrat P-glycoprotéine:** Les résultats indiquent que tous les composés, y compris la Bisdéméthoxycurcumine, sont des substrats de la glycoprotéine P (**P-gp**). si les composés sont des substrats de la glycoprotéine P (**P-gp**) et que leur log K_p est inférieur à -2,5, cela suggère généralement que la capacité de ces composés à traverser la peau est limitée. La glycoprotéine P (**P-gp**) est une pompe de transport active qui joue un rôle dans l'efflux des médicaments hors des cellules, y compris des cellules de la peau.

✚ 2.3.2. Distribution

Les résultats d'évaluation des différents paramètres de distribution sur les inhibiteurs les plus performants ont été étudiés lors du processus de développement du médicament. Les détails de ces résultats sont présentés dans le **Tableau IV.12**.

Tableau IV.12: Les résultats de Distribution.

Ligands	V _{ds} (humain)	Perméabilité BBB	Perméabilité du SNC
CID163102707	0.249	-0.857	-3.655
CID76047846	0.042	-0.811	-3.647
CID162966423	-0.214	-0.936	-3.812
CID22298413	-0.18	-0.888	-3.805
CID162818176	-0.366	-1.128	-3.741
CID85225929	-0.199	-0.907	-3.572
CID102126897	-0.181	-0.893	-3.572
CID73815018	-0.43	-1.246	-4.086
Bisdéméthoxycurcumine	0.139	-0.089	-2.271

✚ **Le volume de distribution:** Le volume de distribution est un paramètre clé de la pharmacocinétique qui permet de déterminer la quantité de médicament distribuée dans les tissus du corps, et qui est donc essentiel pour la conception d'un schéma posologique adapté à chaque

Chapitre IV : Résultats et Discussion

médicament ⁹. Il représente le volume de plasma ou de sang dans lequel le composé est supposé être dissous à l'état stable ou à l'équilibre ¹⁰.

Si le volume de distribution est inférieur à 0.15, il est considéré comme faible. En revanche, s'il est supérieur à 0.45, il est considéré comme élevé. D'après l'analyse, tous les composés et la Bisdéméthoxycurcuine ont des valeurs de volume de distribution faible. Cela peut être dû à un efflux de **P-gp**.

✚ **Perméabilité BBB**: Prédire si un composé est capable de traverser la barrière hématoencéphalique (**BBB**) peut être bénéfique pour minimiser les effets secondaires et les toxicités des composés de tête. En outre, cela peut également améliorer l'efficacité des médicaments ayant une activité pharmacologique dans le cerveau ¹¹.

Les molécules ayant un **log BBB** supérieur à 0.3 sont susceptibles de traverser facilement la barrière hématoencéphalique, tandis que les composés ayant un **log BBB** inférieur à -1 ont généralement une mauvaise distribution dans le cerveau ⁵. Ainsi, les valeurs de **log BBB** des deux composés **CID (162818176 et 73815018)** sont inférieures à -1, cela suggère qu'ils ont une faible distribution dans le cerveau.

✚ **Perméabilité de SNC**: La mesure de la perméabilité de **SNC** est considérée comme une méthode plus directe que la mesure de la perméabilité **BBB**, car elle est obtenue à partir de perfusions cérébrales *in situ* où le composé est injecté directement dans l'artère carotide. Contrairement à la mesure de la perméabilité **BBB**, cette méthode est moins sujette aux effets de distribution systémique qui peuvent fausser la perméation cérébrale ¹².

Les composés dont le coefficient de perméabilité à travers la barrière hématoencéphalique (**PS**) est supérieur à -2 peuvent pénétrer dans le système nerveux central (**SNC**), alors que ceux avec un **PS** inférieur à -3 sont incapables de traverser la barrière hématoencéphalique pour atteindre le **SNC** ²⁶. L'analyse indique que tous les composés ont des valeurs de **PS** inférieures à -3, ce qui signifie qu'ils sont incapables de traverser la barrière hématoencéphalique pour atteindre le système nerveux central (**SNC**). Par conséquent, ces composés ne peuvent pas exercer d'activité pharmacologique dans le **SNC** ni induire d'effets secondaires dans cette région du corps.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

2.3.3. Métabolisme

Les modèles de type "Oui" ou "Non" indiquent si une molécule étudiée a une probabilité plus élevée d'être un inhibiteur ou un non-inhibiteur d'un cytochrome P450 (CYP) donné.

Tableau IV.13 Les résultats de Métabolisme.

Ligands	Inhibiteur du CYP1A2	Inhibiteur du CYP2C19	Inhibiteur du CYP2C9	Inhibiteur du CYP2D6	Inhibiteur du CYP3A4
CID163102707	Non	Non	Non	Non	Non
CID76047846	Non	Non	Non	Non	Non
CID162966423	Non	Non	Non	Non	Non
CID22298413	Non	Non	Non	Non	Non
CID162818176	Non	Non	Non	Non	Non
CID85225929	Non	Non	Non	Non	Non
CID102126897	Non	Non	Non	Non	Non
CID73815018	Non	Non	Non	Non	Non
Bisdéméthoxycurcumine	Oui	Oui	Oui	Non	Oui

Dans le métabolisme il existe deux types de réactions: la réaction de phase I et la réaction de phase II, les enzymes les plus couramment impliquées dans la phase I sont les cytochromes P450, qui ont lieu dans le foie et sont responsables de l'oxydation, de la réduction et de l'hydrolyse des composés lipophiles. Si une molécule ne réagit pas avec ces enzymes, elle ne subira pas ces réactions et ne sera pas métabolisée dans la phase I.

Les résultats de l'analyse ont montré que notre composé ne réagit pas avec les enzymes de la phase I, ce qui signifie qu'ils ne subiront pas les réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse dans cette phase du métabolisme. Si le médicament candidat est un inhibiteur du CYP, il peut toujours être sujet à d'autres réactions de métabolisme de phase II, telles que la glucuronidation, la sulfatation ou la méthylation. Si le médicament candidat est un inhibiteur du CYP, il peut toujours être sujet à d'autres réactions de métabolisme de phase II, telles que la glucuronidation, la sulfatation ou la méthylation.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

Par contre le Bisdéméthoxycucumine est inhibe **CYP1A2**, **CYP2C19**, **CYP2C9** et **CYP3A4** mais n'inhibe pas le **CYP2D6** (**CYP1A2**, **CYP2C19**, **CYP2C9**, **CYP2D6** et **CYP3A4** sont les isoformes du cytochrome P450).

2.3.4. Élimination

La phase finale du cycle de vie d'un médicament est son élimination de l'organisme, ou excrétion. Cette étape est très importante pour le corps. Le **Tableau IV.14** présente les principaux paramètres relatifs à cette étape.

Tableau IV.14 Les résultats de l'Élimination.

Ligands	Clearance totale (Log ml/min/kg)	Substrat OCT2 rénal
CID163102707	1.1	Non
CID76047846	0.921	Non
CID162966423	1.015	Non
CID22298413	0.98	Non
CID162818176	1.396	Non
CID85225929	0.979	Non
CID102126897	0.993	Non
CID73815018	1.304	Non
Bisdéméthoxycurcumine	-0.008	Non

✚ **La clairance totale:** La clairance totale du médicament est le résultat de la combinaison de sa clairance hépatique et de sa clairance rénale, et elle est liée à sa biodisponibilité. Il est essentiel de déterminer les doses nécessaires pour atteindre des concentrations à l'état d'équilibre.

On remarque que tous les composés, à l'exception de la Bisdéméthoxycurcumine, présentent des valeurs de clairance totale élevées, ce qui indique qu'ils sont éliminés plus rapidement du corps.

✚ **Le transporteur rénal de cations organiques 2 (OCT2):** Le transporteur de cations organiques 2 rénal (**OCT2**) est un acteur clé dans l'élimination rénale des médicaments cationiques. Cela implique un risque potentiel d'interactions médicamenteuses, notamment pour les composés

Chapitre IV : Résultats et Discussion

qui inhibent l'OCT2, réduisant ainsi la clairance du substrat OCT2¹³. Cependant, les résultats obtenus ont montré qu'aucun des composés n'était considéré comme un substrat rénal de l'OCT2.

2.3.5. Toxicité

L'étude de la toxicité d'une substance implique la réalisation d'essais pharmacologiques visant à déterminer son niveau de dangerosité et/ou de nocivité, dans le but de réglementer son utilisation. L'évaluation de l'action d'une substance toxique se base sur plusieurs paramètres, notamment son mode d'administration¹⁴. Le **Tableau IV.15** représente les différents paramètres de toxicité étudiés.

Tableau IV.15 Les résultats de Toxicité.

Ligands	Toxicité AMES	Toxicité aiguë (LD50) « Mol/kg »	Sensibilisation cutanée
CID163102707	Non	2.101	Non
CID76047846	Non	2.342	Non
CID162966423	Non	2.347	Non
CID22298413	Non	2.318	Non
CID162818176	Non	1.923	Non
CID85225929	Non	2.278	Non
CID102126897	Non	2.305	Non
CID73815018	Non	2.198	Non
Bidéméthoxycurcumine	Non	2.09	Non

✚ **AMES toxicité:** Le test **AMES** est une méthode largement répandue pour évaluer le potentiel mutagène d'un composé à l'aide de bactéries. Un résultat positif indique que le composé est mutagène, ce qui signifie qu'il peut avoir des effets cancérigènes¹⁵.

D'après l'analyse, tous les composés, y compris la Bisdéméthoxycurcumine, ont donné des résultats de test négatifs, ce qui indique l'absence de risque mutagène.

✚ **La dose létale médiane ou (LD50):** La **LD50** est une mesure couramment utilisée pour évaluer la toxicité aiguë d'un composé chez le rat. Elle permet de déterminer la dose de substance

Chapitre IV : Résultats et Discussion

nécessaire pour tuer 50% des animaux testés ¹⁶. En général, plus la valeur de la **LD50** est faible, plus le composé est considéré comme étant toxique et potentiellement mortel.

D'après les résultats, tous les composés ont des valeurs de **LD50** élevées, ce qui indique qu'ils sont moins toxiques et moins létaux.

✚ **La sensibilisation cutanée:** La dermatite de contact allergique est un effet secondaire des médicaments qui peut causer des problèmes de santé potentiellement mortels ¹⁷. Les résultats ont montré qu'aucun des composés n'était susceptible de causer une allergie cutanée.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

Références bibliographiques

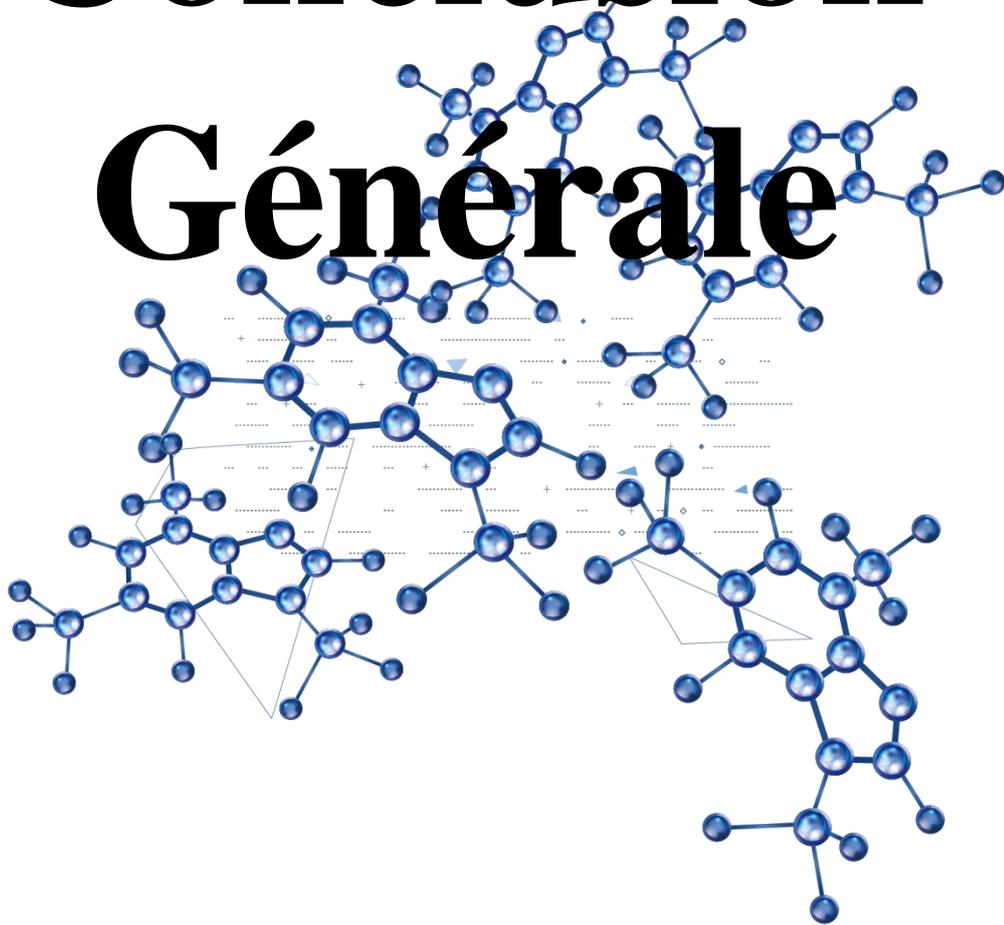
1. Chikhi, A., & Boucherit, H. (2017). Etude theorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la methionine aminopeptidase de mycobacterium tuberculosis par diverses molecules.
2. Pires, D. E., Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of medicinal chemistry*, 58(9), 4066-4072.
3. Ottaviani, G., Gosling, D. J., 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.
4. GHEFFAR, C., & MOULAI MOSTEFA, N. (2012). ETUDE DE LA DIFFUSION D'UN PRINCIPE ACTIF A TRAVERS UNE MEMBRANE POLYMERIQUE.
5. Artursson, P., Neuhoff, S., Tavelin, S., & Matsson, P. (2007). Passive permeability and active transport models for the prediction of oral absorption.
6. Mayersohn M. (1987). Drug absorption. *J Clin Pharmacol*. 27(9):634-8.
7. Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, 7(1), 42717.
8. Zhivkova, Z. D., 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.
9. FREITAS, Alex A.; LIMBU, Kriti; GHAFOURIAN, Taravat. Predicting volume of distribution with decision tree-based regression methods using predicted tissue: plasma partition coefficients. *Journal of Cheminformatics*, 2015, 7.1: 1-17.
10. Suenderhauf, C., Hammann, F., & Huwyler, J. (2012). Computational prediction of blood-brain barrier permeability using decision tree induction. *Molecules*, 17(9), 10429-10445.
11. Boulal, H., Bouzelifa, S., Guttiche, N. E., & Lahouel, A. E. (2019). Evaluation de l'activité antioxydante in vitro des dérivés de benzothiazole nouvellement synthétisés (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

Chapitre IV : Résultats et Discussion

12. Ndombera, F., Maiyoh, G., & Tuei, V. (2019). Pharmacokinetic, physicochemical and medicinal properties of n-glycoside anti-cancer agent more potent than 2-deoxy-d-glucose in lung cancer cells.
13. Mulliner, D., Schmidt, F., Stolte, M., Spirkl, H. P., 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.
14. Chong, L. H., Li, H., Wetzel, I., Cho, H., & Toh, Y. C. (2018). A liver-immune coculture array for predicting systemic drug-induced skin sensitization. *Lab on a Chip*, 18(21), 3239-3250.
15. CHAMLAL, N. (2022). Etude et évaluation génotoxique des viandes transformées (Doctoral dissertation).
16. Lecoq, P., Dor, F., & Kairo, C. (2009). Description des valeurs repères toxicologiques utilisées lors d'expositions aiguës par inhalation des populations. *Synthèse*, 2(9), 71.
17. Benoit, Y., Nicolas, J. F., & Guilloux, L. (2004). Allergie et anesthésie. John libbey Eurotext.

Conclusion

Générale



Conclusion Générale

Les méthodes de criblage virtuel ont démontré leur efficacité dans l'accélération de la recherche, en particulier dans le domaine pharmaceutique où elles sont largement utilisées en phases pré-cliniques. Grâce à ces méthodes, il est possible de filtrer des bases de données pour prédire des hits pour une cible thérapeutique, mais également pour détecter des composés qui pourraient avoir des effets délétères et qui doivent donc être éliminés de la liste des candidats thérapeutiques avant de poursuivre les phases d'optimisation chimique et de tests in vitro et in vivo. En somme, le criblage virtuel est un atout majeur pour la recherche pharmaceutique, qui permet d'optimiser les processus de découverte de médicaments et de réduire les coûts et les délais associés à leur développement.

Notre travail de recherche s'est concentré principalement sur la réalisation du Docking moléculaire et l'étude des paramètres d'**ADME-Tox**, afin de contribuer au développement in silico de nouveaux inhibiteurs potentiellement actifs et efficaces de dérivés de Terpénoïde ciblant la protéine **VP24** «4M0Q» impliquée dans la régulation de la réponse immunitaire de l'hôte infecté par le virus Ebola.

Au début de notre travail, nous avons examiné de manière générale le virus Ebola, en étudiant sa structure, sa réplication virale et les vaccins existants.

Dans le deuxième chapitre de notre travail, nous nous sommes concentrés sur les principes fondamentaux de la méthode de Docking moléculaire. Nous avons également abordé les différents concepts de filtrage tels que DRUG-LIKENESS et **ADME-Tox**, qui sont utilisés pour évaluer la capacité des composés proposés dans cette étude à être développés en tant que médicaments potentiels. Ces concepts de filtrage sont importants pour approfondir notre étude de la série de composés proposés et évaluer leur efficacité et leur sécurité en tant qu'agents antiviraux potentiels.

Dans le troisième chapitre, nous avons abordé l'aspect pratique de notre recherche en détaillant les méthodes et matériels que nous avons utilisés pour effectuer le criblage virtuel de nos composés. Nous avons présenté les différentes bases de données moléculaires que nous avons utilisées, ainsi que les logiciels de simulation moléculaire pour effectuer le Docking et l'analyse **ADME-Tox**. Nous avons également expliqué les critères de sélection des composés pour le criblage virtuel et comment nous avons évalué leur activité potentielle contre la protéine **VP24**.

Le cœur de notre recherche est présenté dans le quatrième chapitre:

Nous avons utilisé le logiciel «Schrödinger» pour réaliser le Docking Moléculaire sur 244 ligands et prédire leur affinité lors de la formation de complexes protéine-ligand. En analysant les

Conclusion Générale

différentes liaisons formées, nous avons pu identifier les meilleurs complexes obtenus, en nous concentrant sur deux facteurs clés:

🌈 **L'énergie score formée par le complexe protéine – ligands:** Nous avons comparé les scores d'énergie obtenus pour nos complexes avec la valeur de ligand de référence Bisdéméthoxycurcumine (-4,334 Kcal/mol) pour sélectionner les ligands avec les scores les plus bas, ce qui indique une affinité plus élevée pour la protéine cible.

🌈 **Les interactions moléculaires** des meilleurs composés avec la protéine 4M0Q ont été étudiées en détail.

Nous avons identifié 17 inhibiteurs grâce à une étude d'amarrage moléculaire. Parmi eux, les six inhibiteurs suivants : **CID (163102707, 162994788, 76047846, 162966423, 163858558 et 75069707)**, ont formé des complexes avec le récepteur 4M0Q ayant les scores d'énergie les plus bas par rapport à Bisdéméthoxycurcumine. Ces six composés présentent de fortes liaisons avec les résidus du site actif de la protéine 4M0Q, notamment de type hydrogènes et hydrophobiques, ce qui contribue à la stabilité des complexes formés. En comparaison avec Bisdéméthoxycurcumine, ces six composés ont démontré une activité potentiellement plus élevée. Ainsi, nous pouvons conclure que ces six composés sont les meilleurs inhibiteurs pour la cible 4M0Q.

Nous avons ensuite mené une étude de filtrage en évaluant d'autres concepts, à savoir les propriétés de DRUG-LIKENESS, sur les 17 composés identifiés précédemment. Cette étude a été réalisée en appliquant les règles de LIPINSKI et de VEBER. D'après les résultats obtenus en appliquant la règle de LIPINSKI, les ligands **CID (163102707, 76047846, 162966423, 75069707, 75110805, 22298413, 162818176, 162897348, 73657143, 85225929, 102126897 et 73815018)** respectent cette règle et sont donc susceptibles d'être biodisponibles par voie orale. Les résultats de la règle de VEBER montrent que seuls les composés **CID (163102707, 76047846, 162966423, 22298413, 162818176, 85225929, 102126897 et 73815018)** respectent cette règle.

Nous avons effectué une analyse de la pharmacocinétique et de la toxicologie de ces huit composés **CID (163102707, 76047846, 162966423, 22298413, 162818176, 85225929, 102126897 et 73815018)** pour approfondir nos recherches. Les résultats ont montré que ces composés avaient des propriétés favorables en termes d'absorption intestinale et qu'ils ne présentaient aucun risque mutagène. Ces résultats suggèrent que ces composés pourraient être prometteurs pour un développement ultérieur en tant que candidats médicamenteux potentiels.

Nos résultats nous permettent de conclure que les composés **CID (163102707, 76047846, 162966423, 22298413, 162818176, 85225929, 102126897 et 73815018)** sont des inhibiteurs

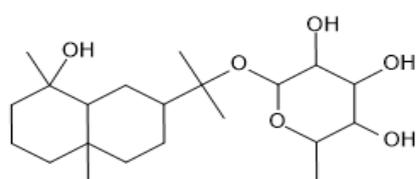
Conclusion Générale

puissants de la protéine **VP24**, présentant des caractéristiques structurales favorables pour le développement de traitements antiviraux efficaces. Cette étude démontre également l'importance de l'utilisation de plusieurs méthodes de modélisation moléculaire dans la découverte et l'identification de nouveaux médicaments. Ces résultats sont encourageants et peuvent fournir une base solide pour de futures recherches sur le développement de médicaments antiviraux.

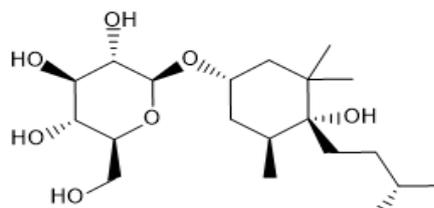


ANNEXES

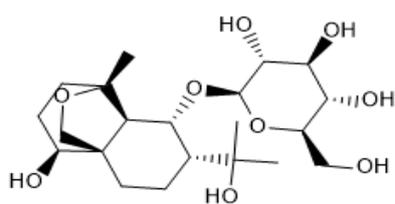
Annexe N° 01: Structures des 244 inhibiteurs.



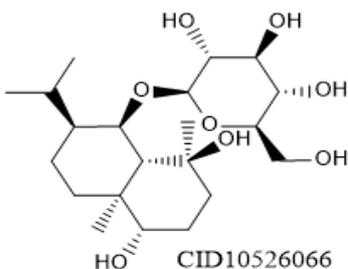
CID73077690



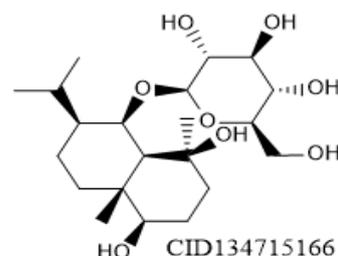
CID54582814



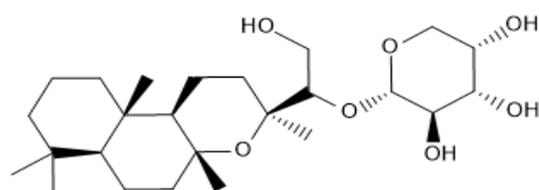
CID44560015



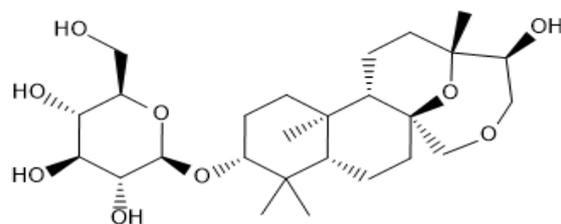
CID10526066



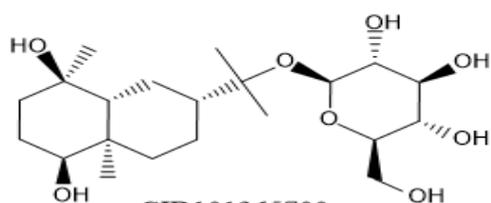
CID134715166



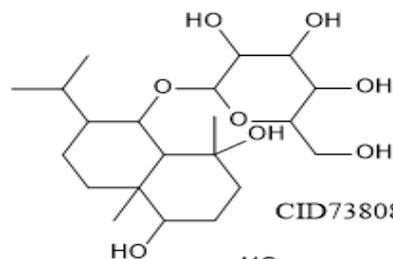
CID102302608



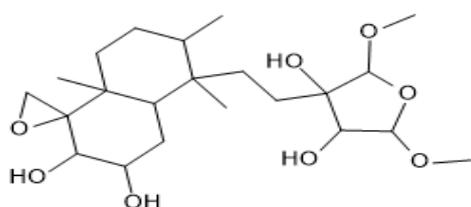
CID101506965



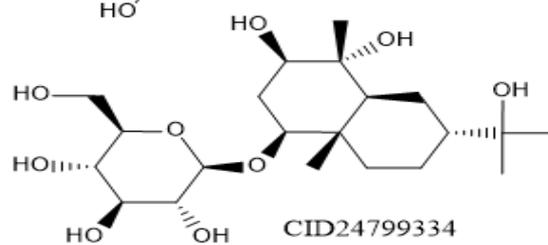
CID101265700



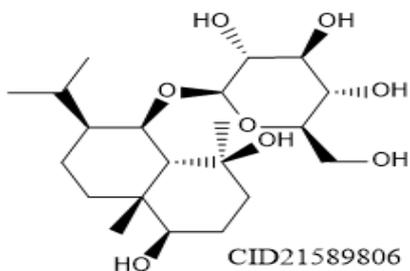
CID73808182



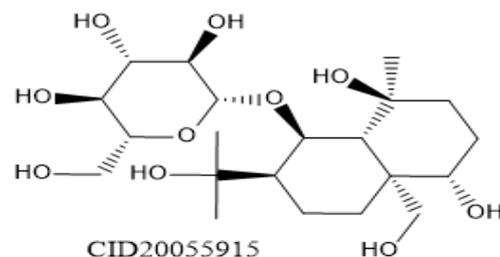
CID44715535



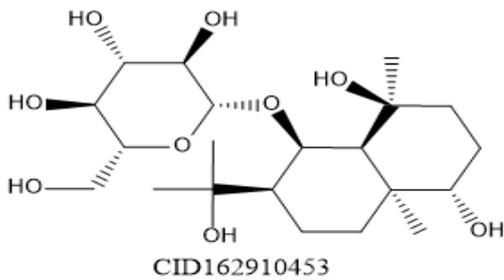
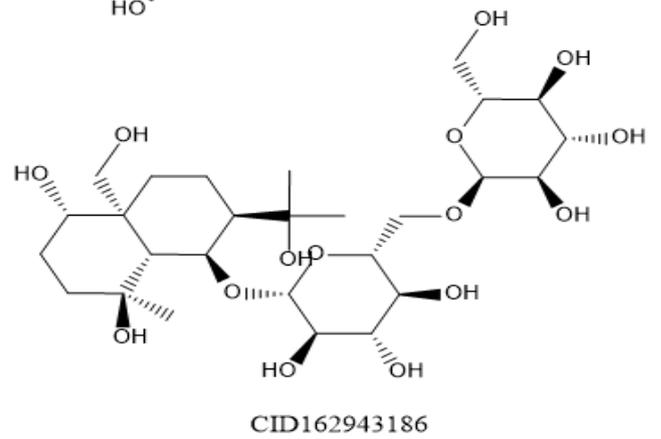
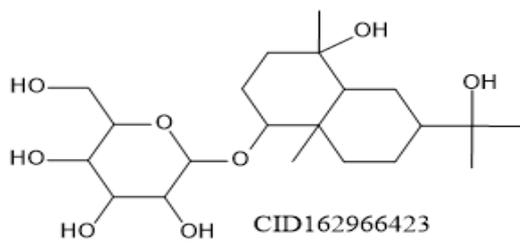
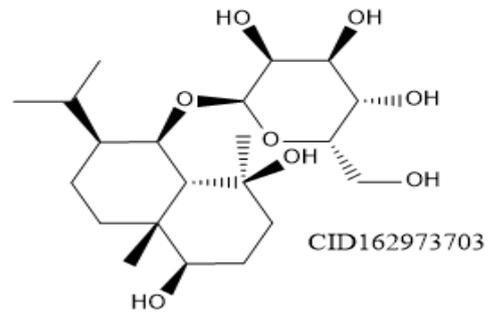
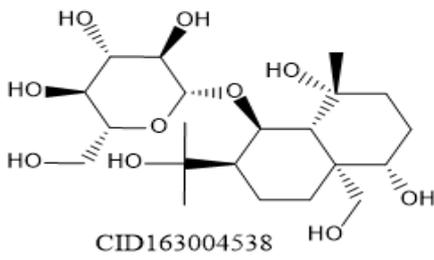
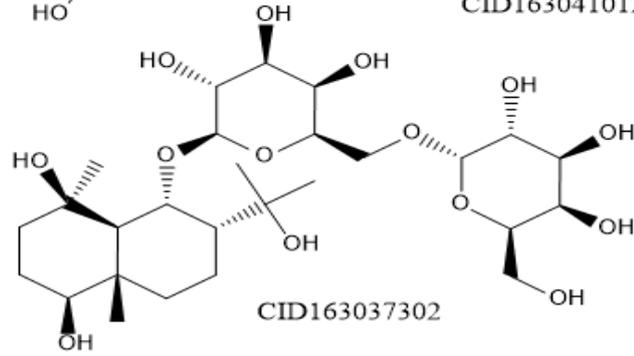
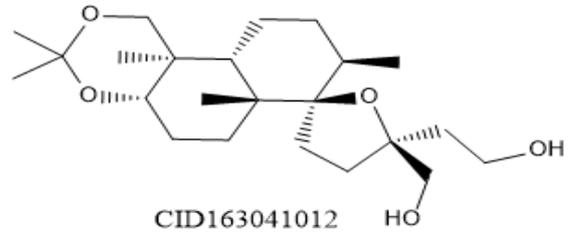
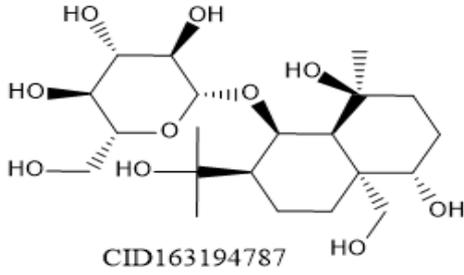
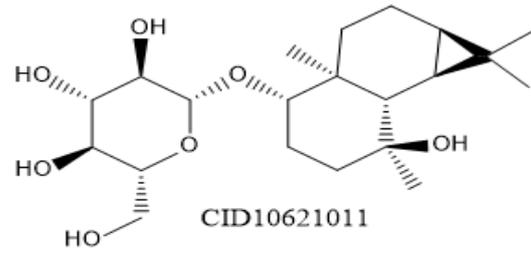
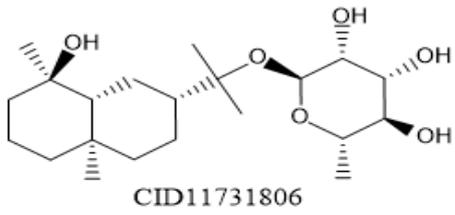
CID24799334

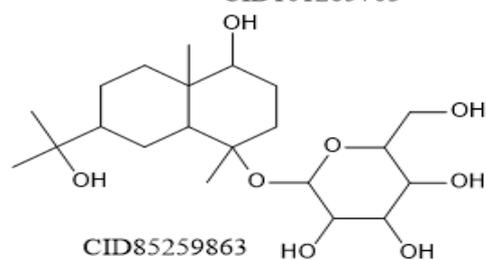
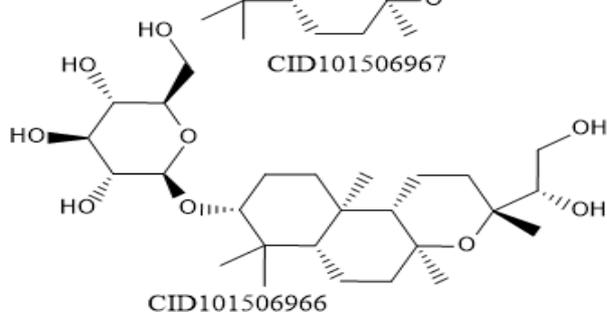
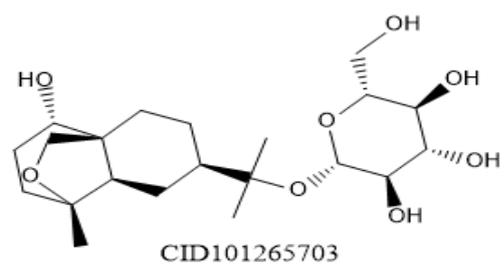
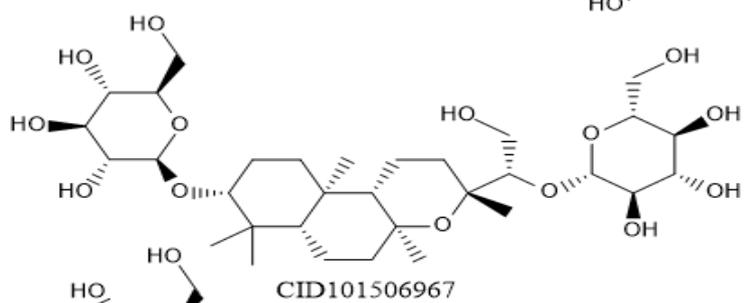
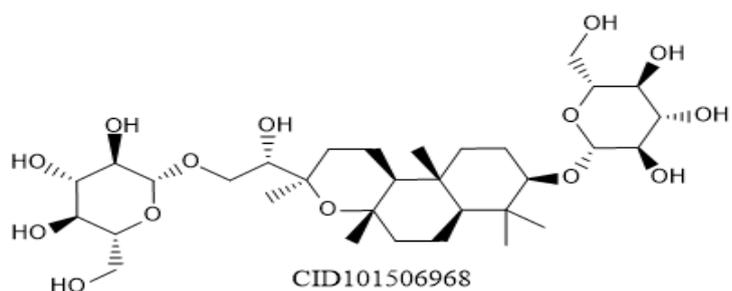
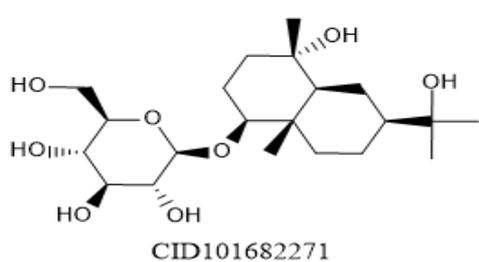
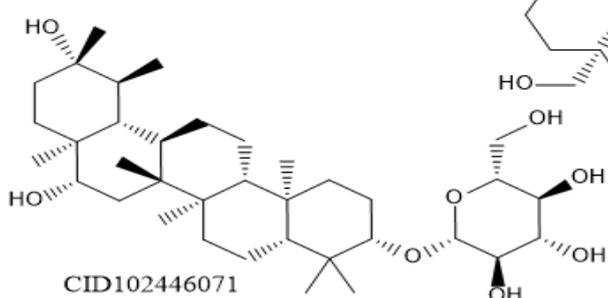
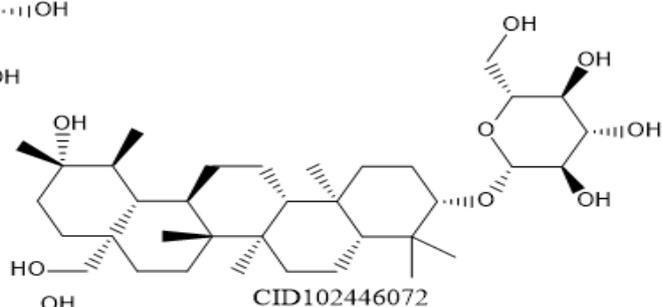
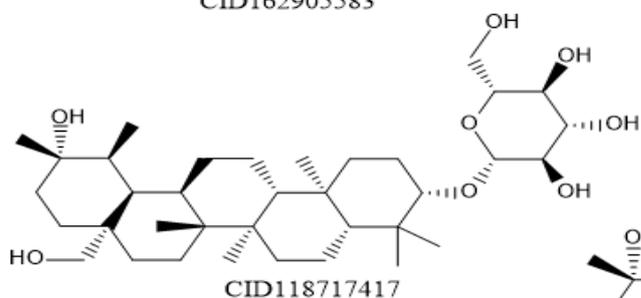
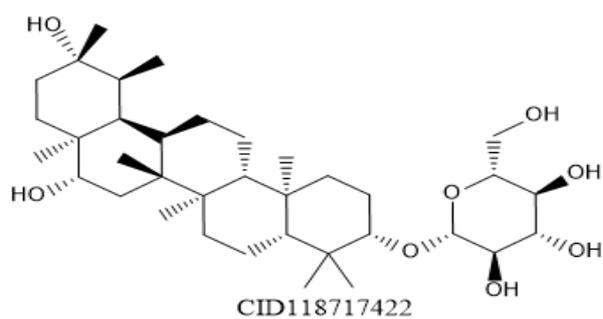
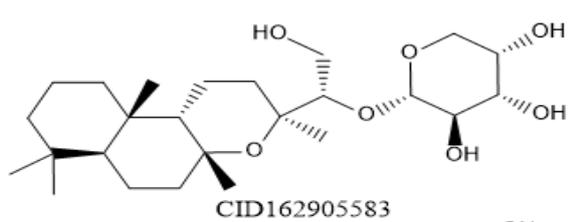


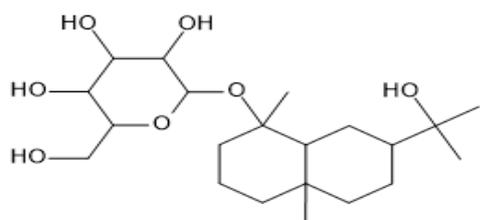
CID21589806



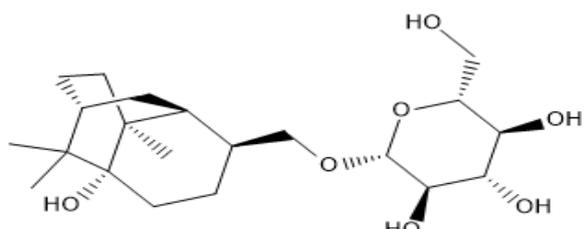
CID20055915



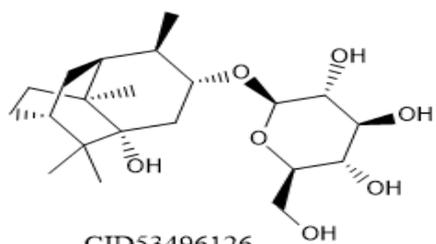




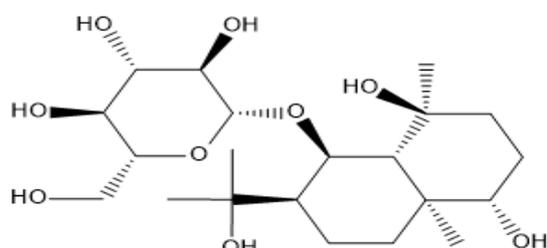
CID85225929



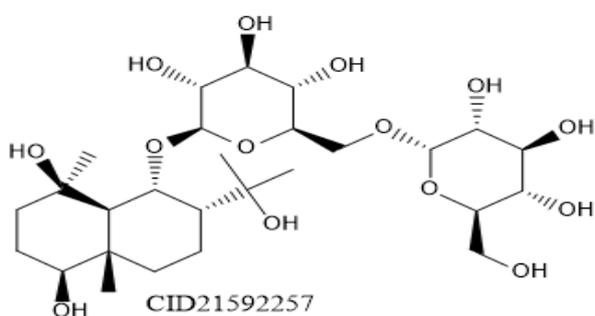
CID53496127



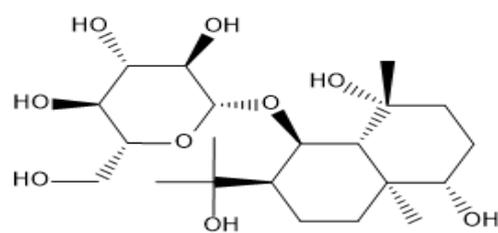
CID53496126



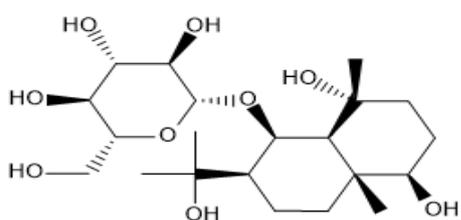
CID20055914



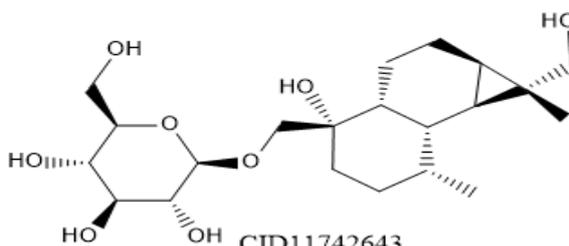
CID21592257



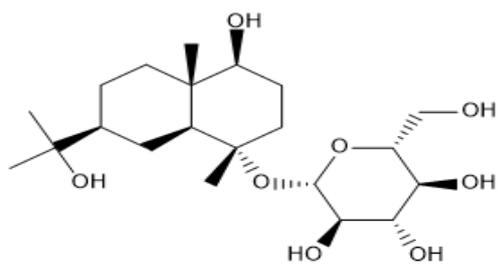
CID20055913



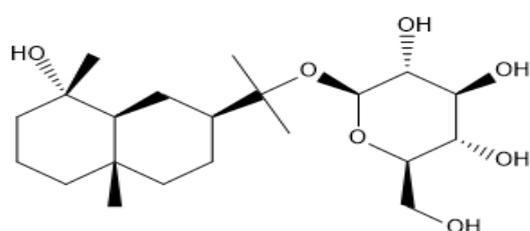
CID15071447



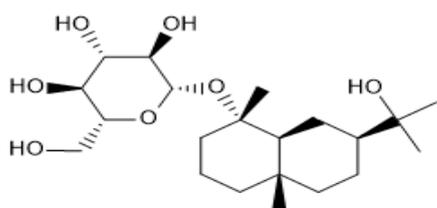
CID11742643



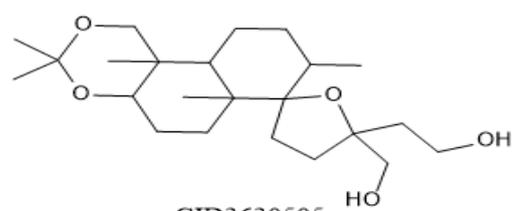
CID10811958



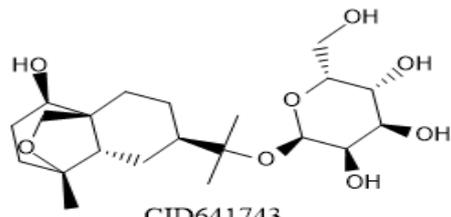
CID10811116



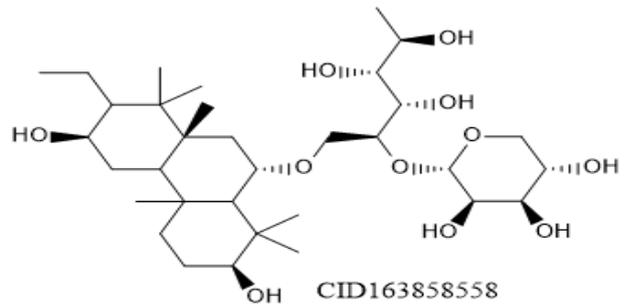
CID10668830



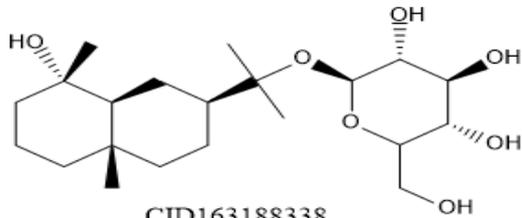
CID3630505



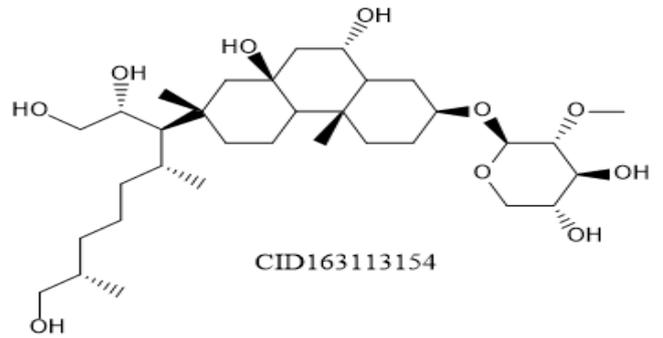
CID641743



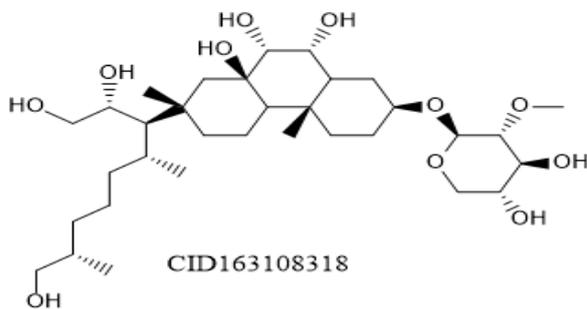
CID163858558



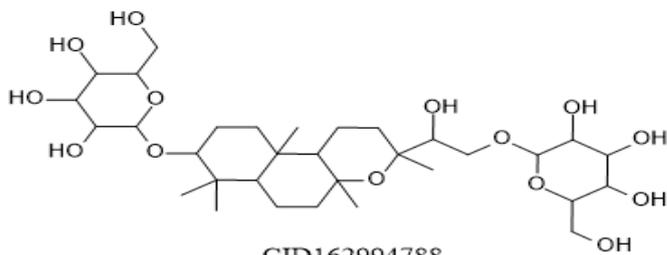
CID163188338



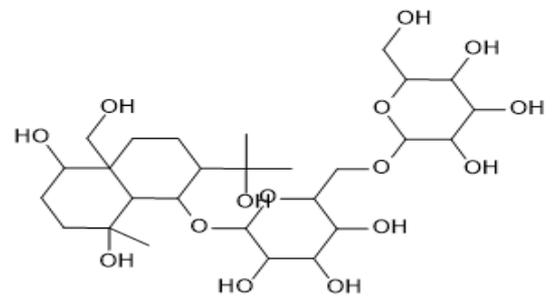
CID163113154



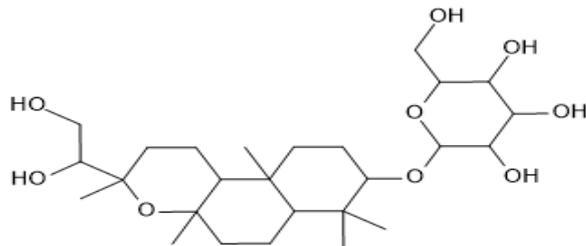
CID163108318



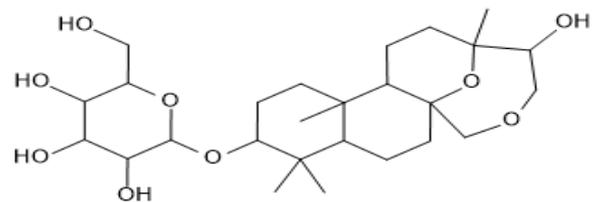
CID162994788



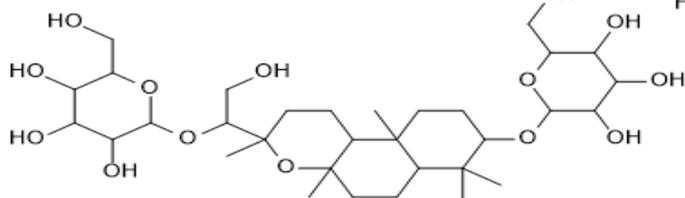
CID162943185



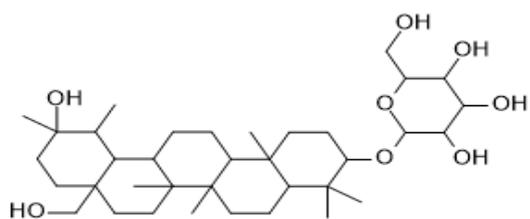
CID162937657



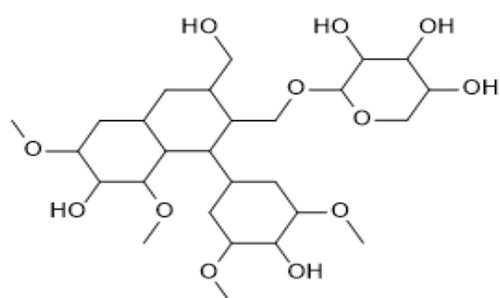
CID162931351



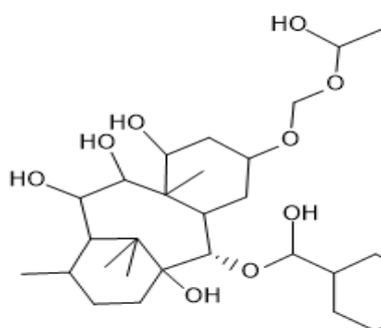
CID162934567



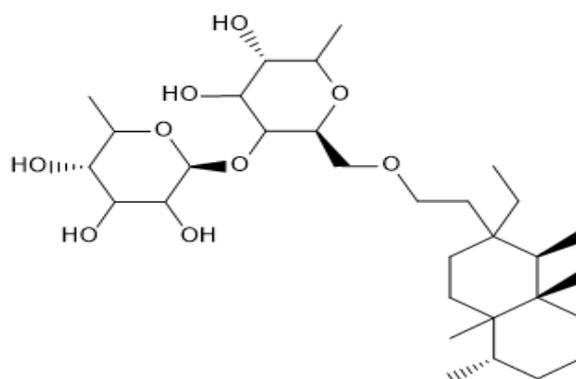
CID162864181



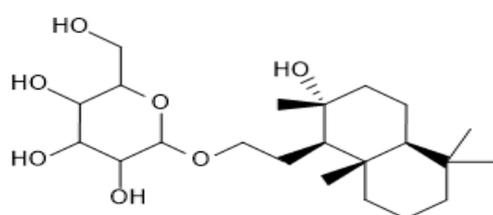
CID140693018



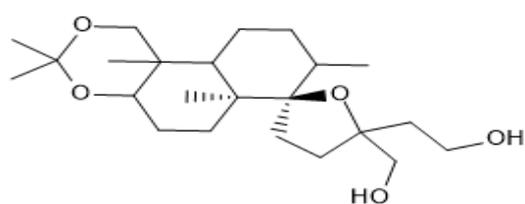
CID155130667



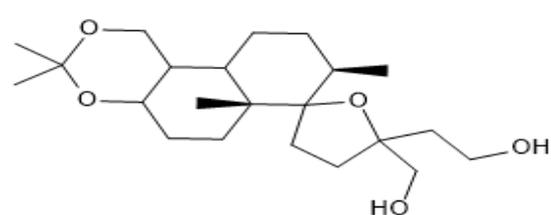
CID126548220



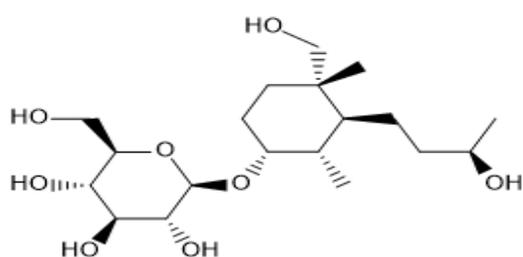
CID149388750



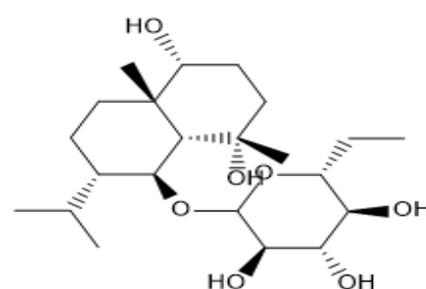
CID122164562



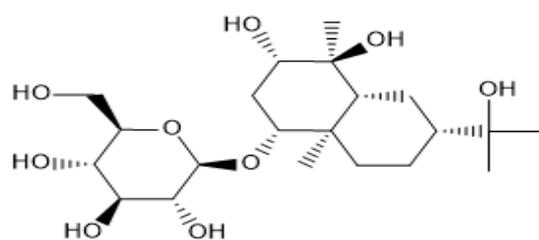
CID89703331



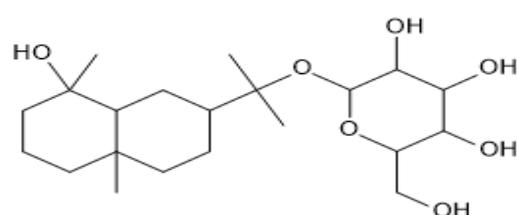
CID101165166



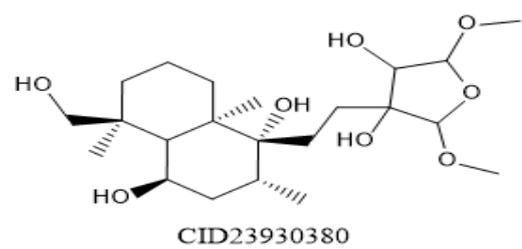
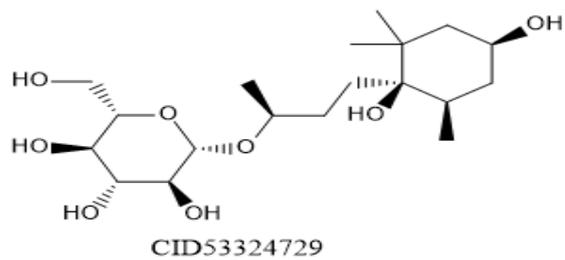
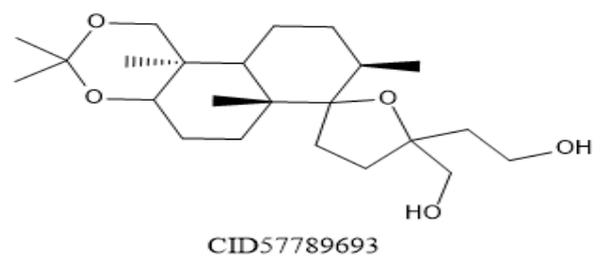
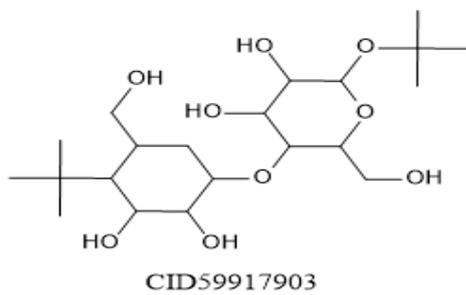
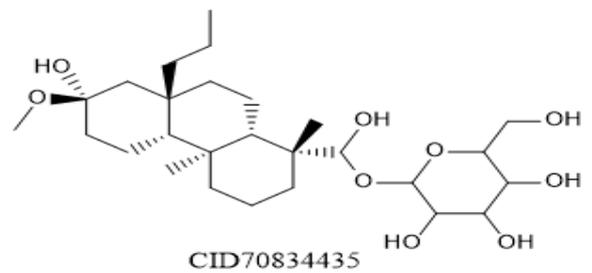
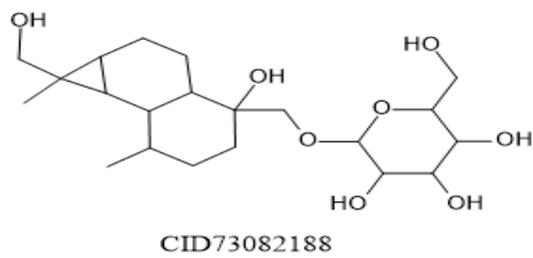
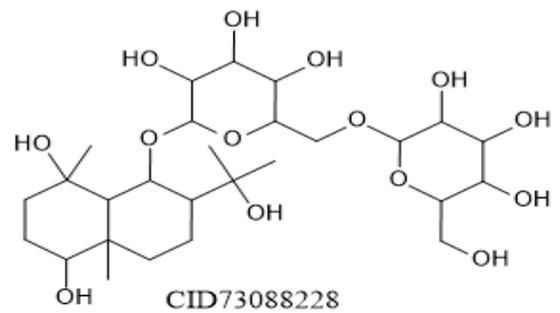
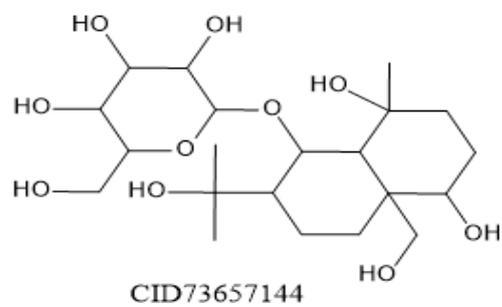
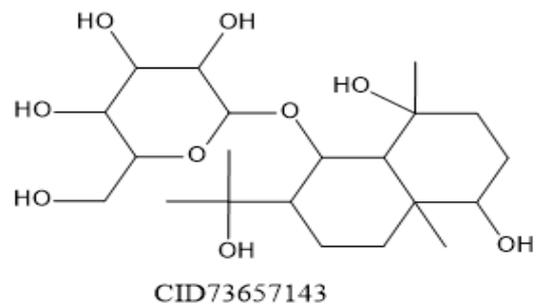
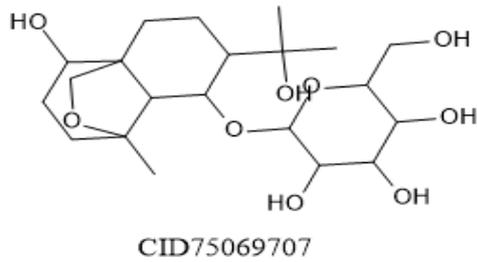
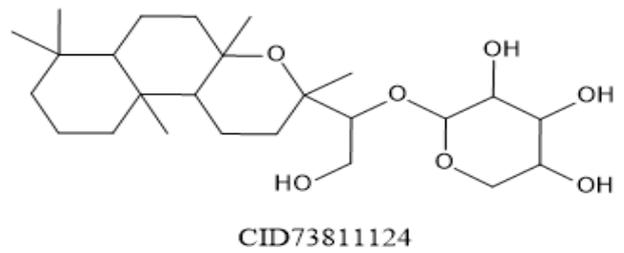
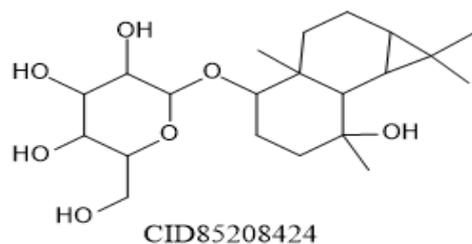
CID86580072

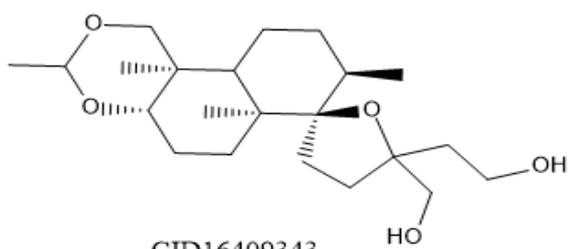


CID90918689

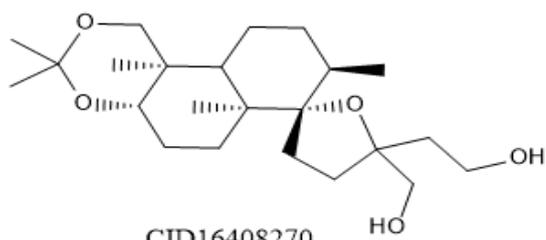


CID85275716

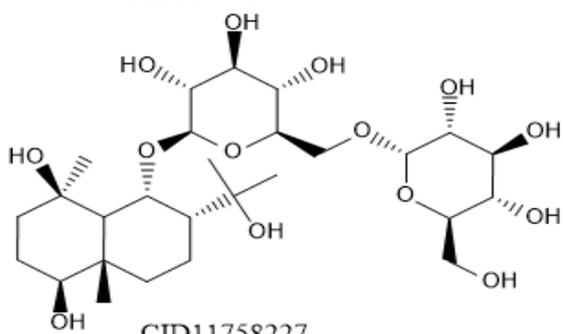




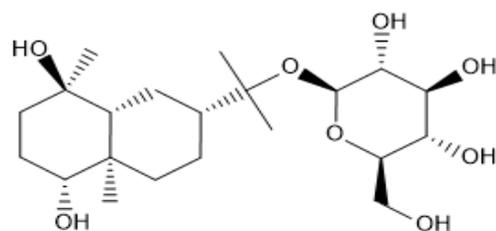
CID16409343



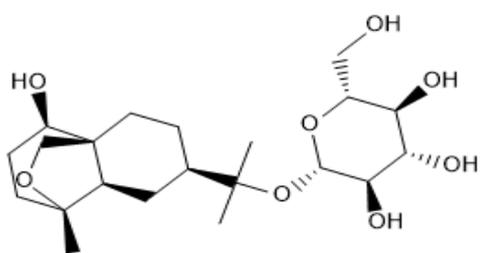
CID16408270



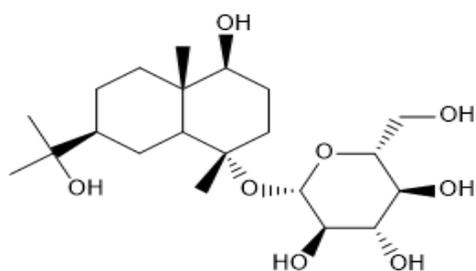
CID11758227



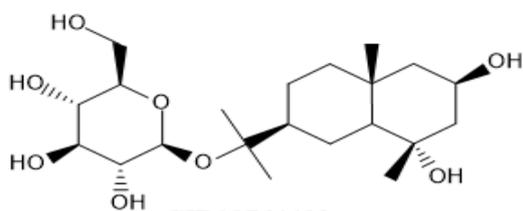
CID11418678



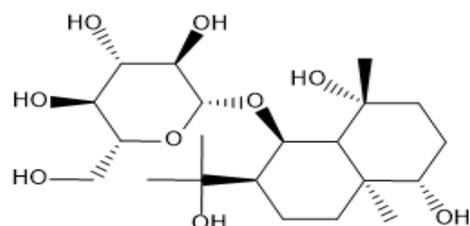
CID11373407



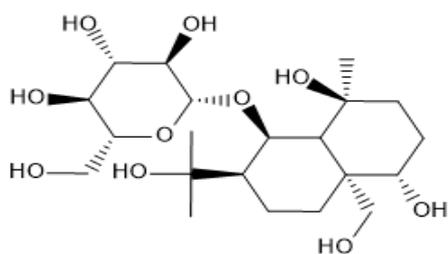
CID10764484



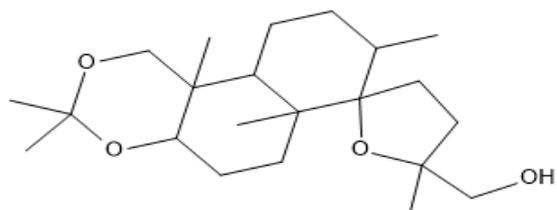
CID10764483



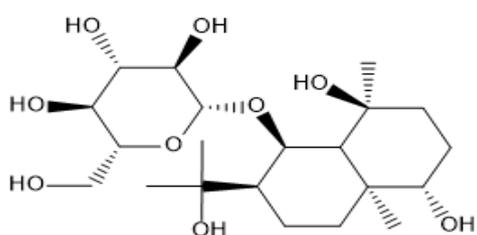
CID9980366



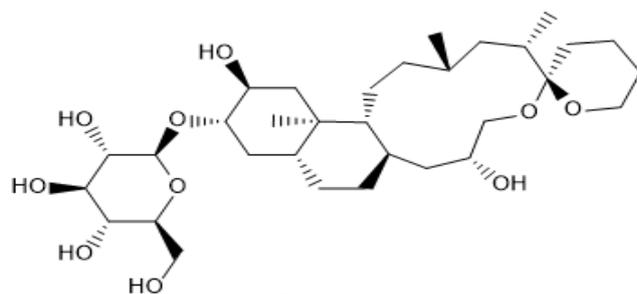
CID10411473



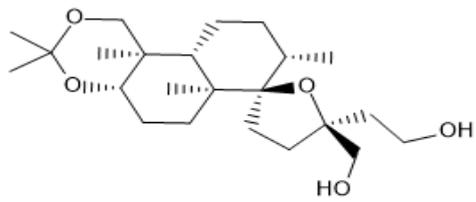
CID3130512



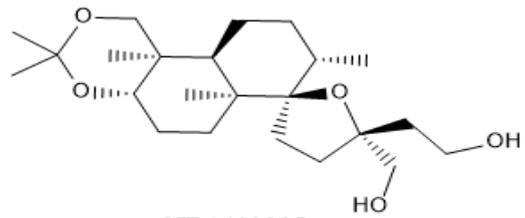
CID10342873



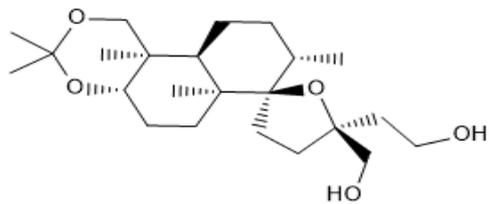
CID164664488



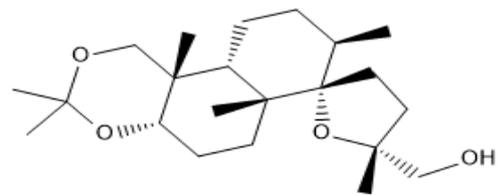
CID1403382



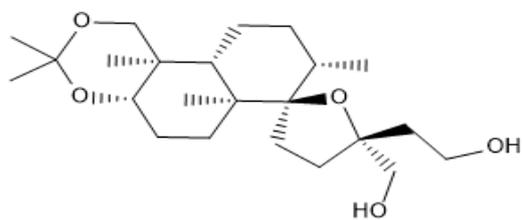
CID1403385



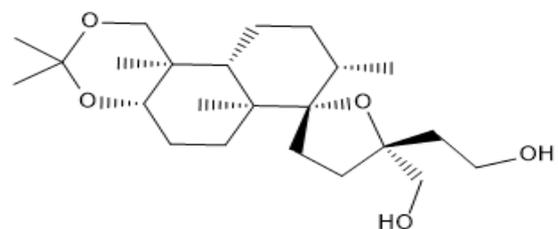
CID1403383



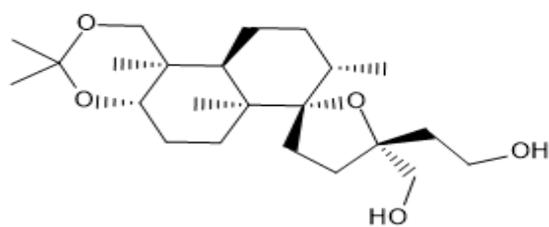
CID1504814



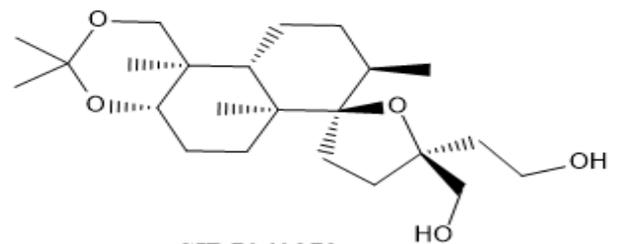
CID1403384



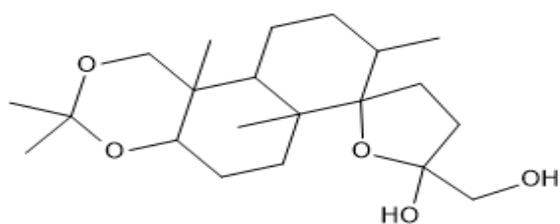
CID1738042



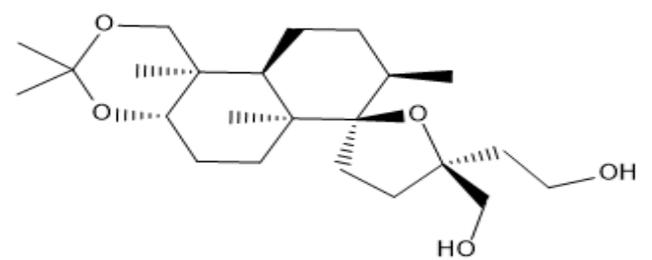
CID1738043



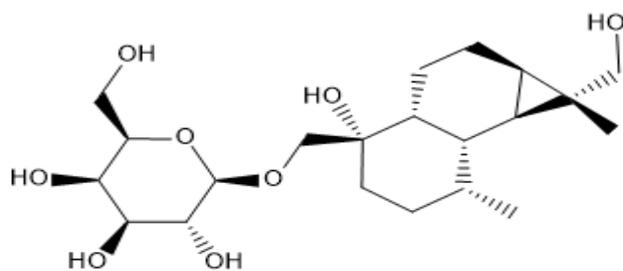
CID7060873



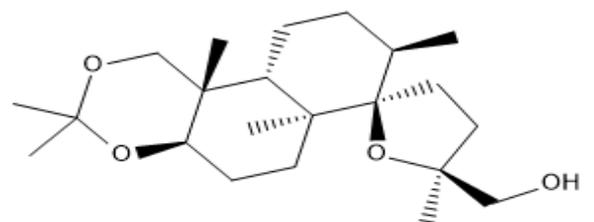
CID3983104



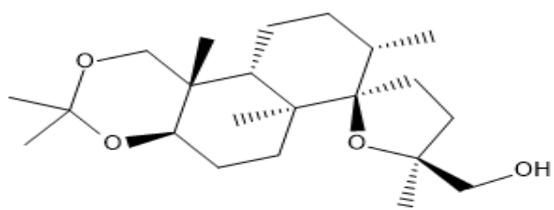
CID7060874



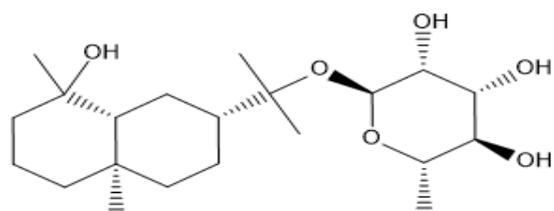
CID6325053



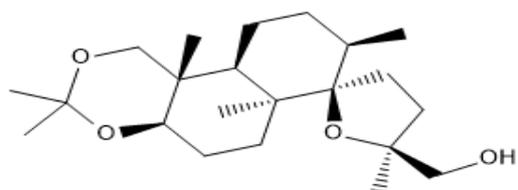
CID7112170



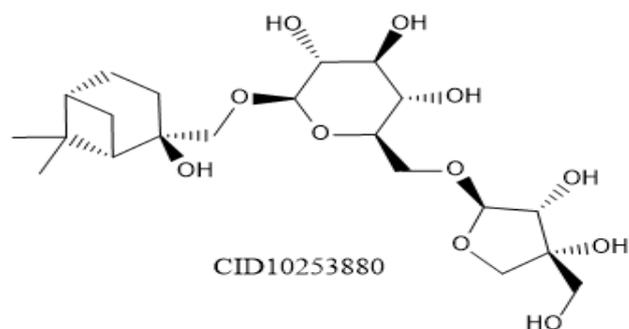
CID7112171



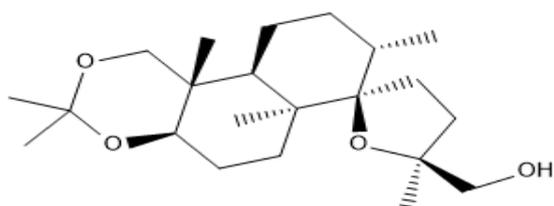
CID10000233



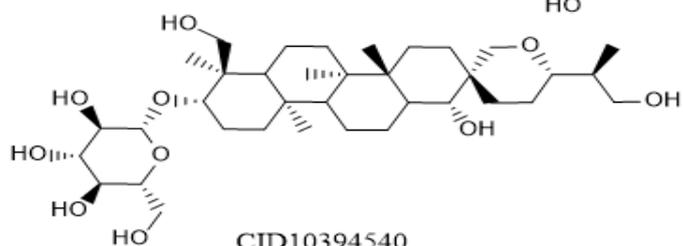
CID7112172



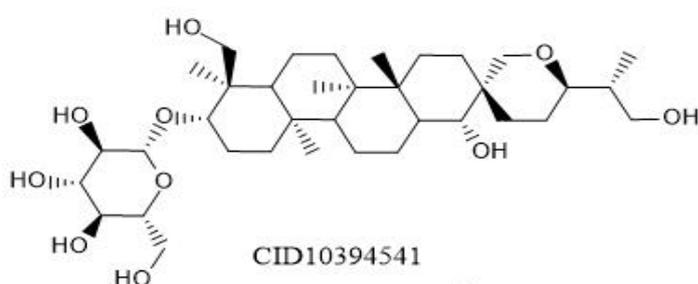
CID10253880



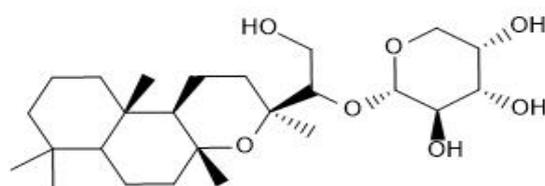
CID7112173



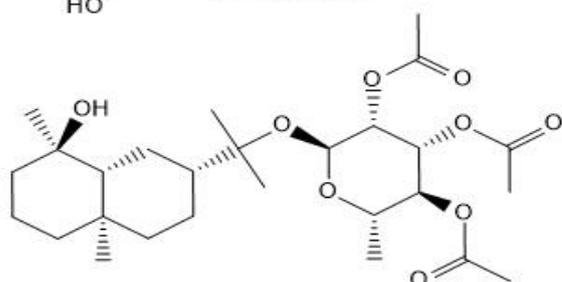
CID10394540



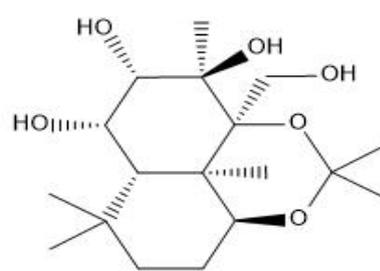
CID10394541



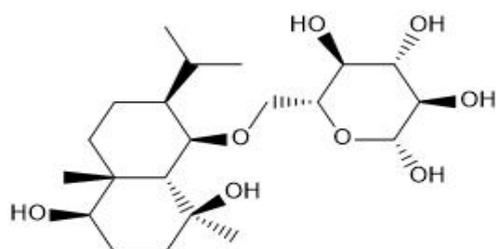
CID11091721



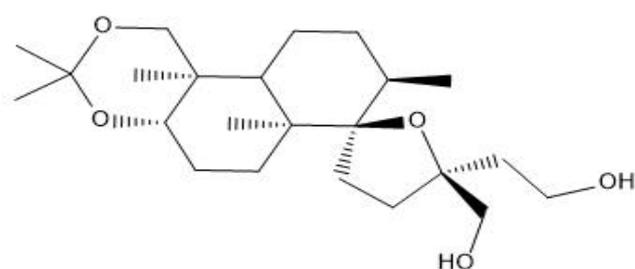
CID11113966



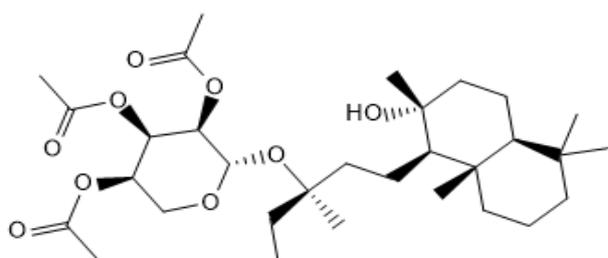
CID11121489



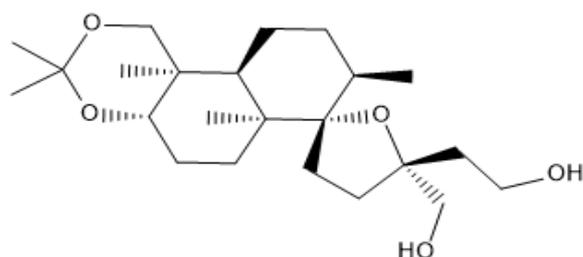
CID11395991



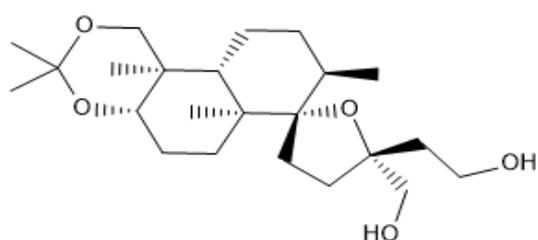
CID16394477



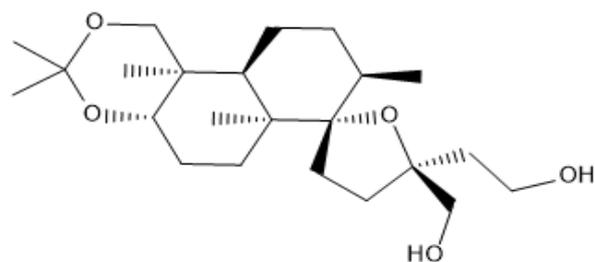
CID24766791



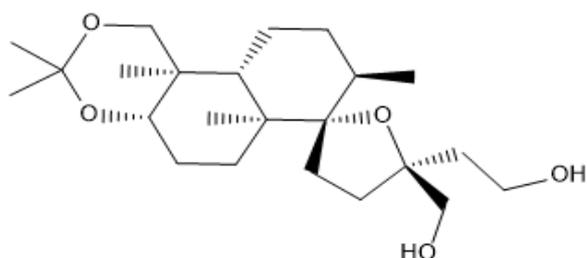
CID40592131



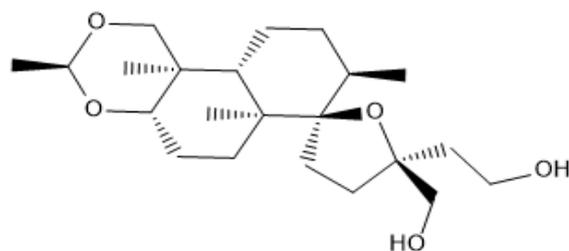
CID40592127



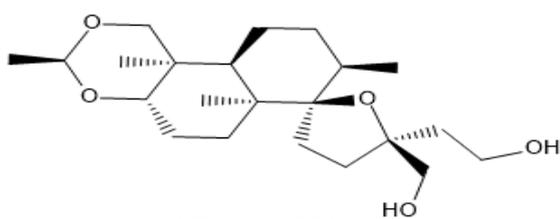
CID40592132



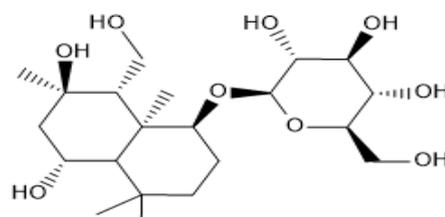
CID40592128



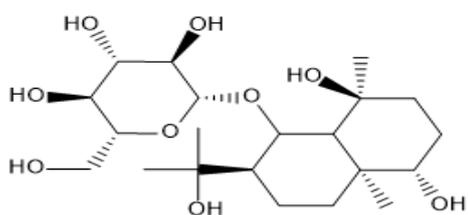
CID40816573



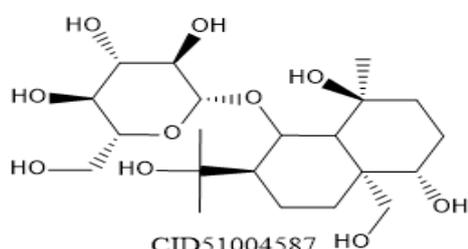
CID40816574



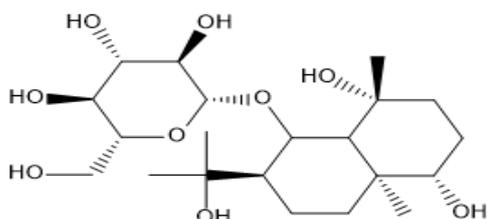
CID45359172



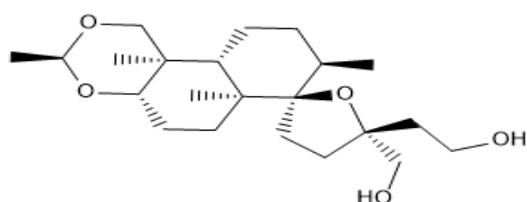
CID42619289



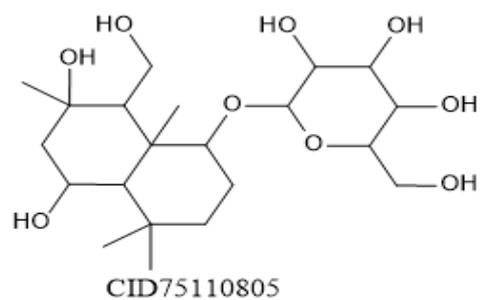
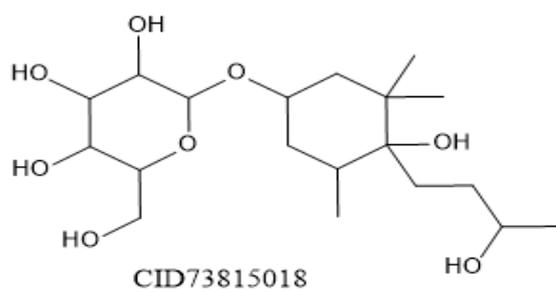
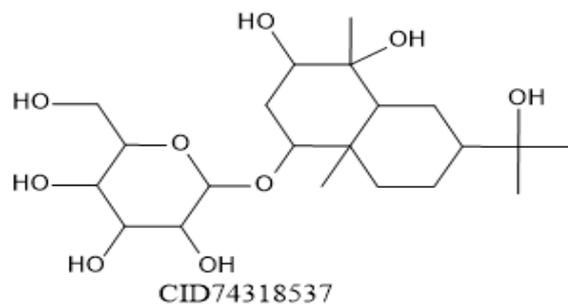
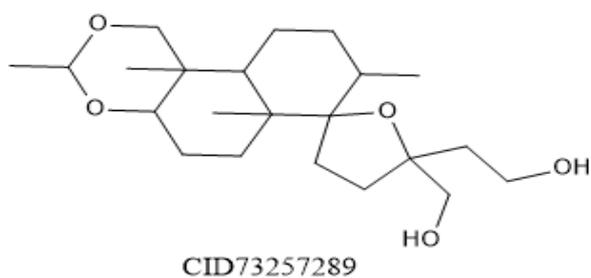
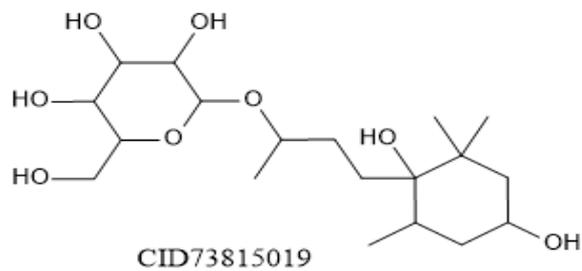
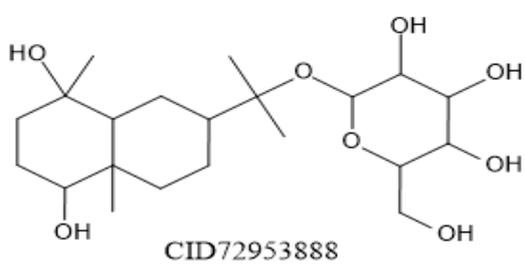
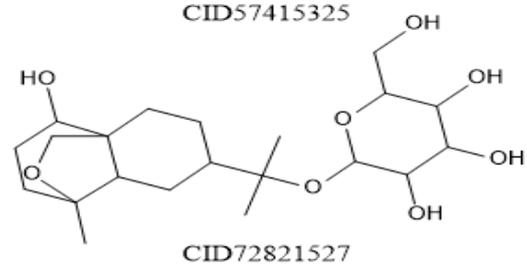
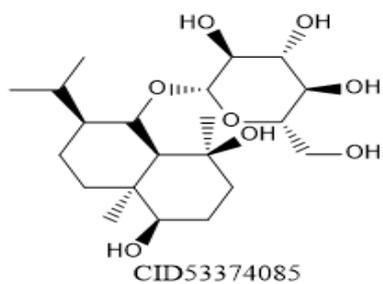
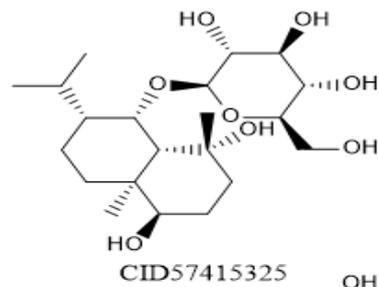
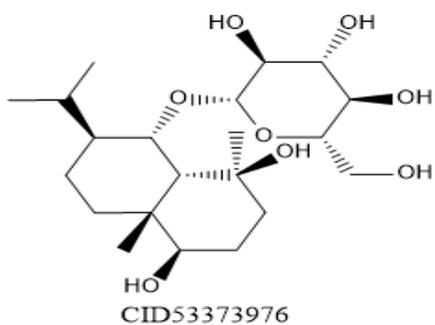
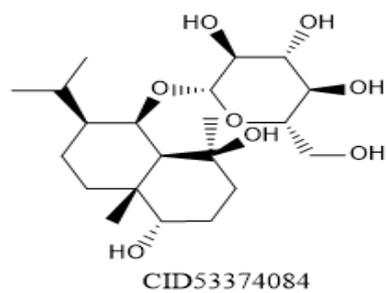
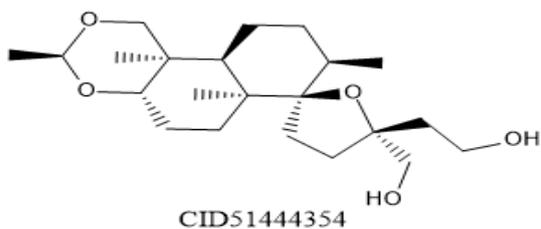
CID51004587

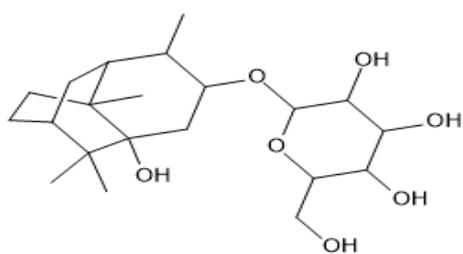


CID42619290

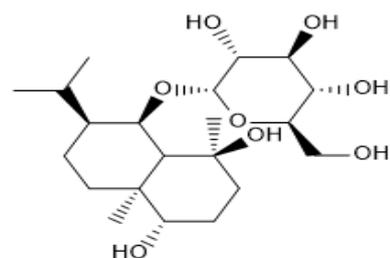


CID51444353

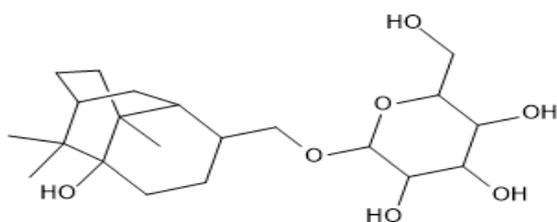




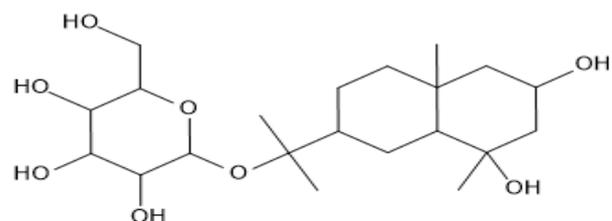
CID76047845



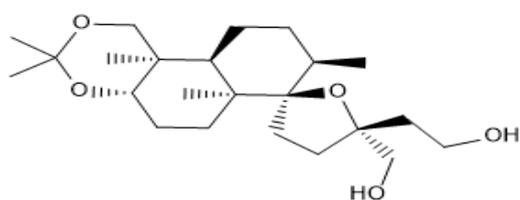
CID76900127



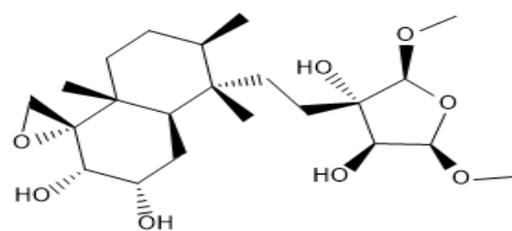
CID7604746



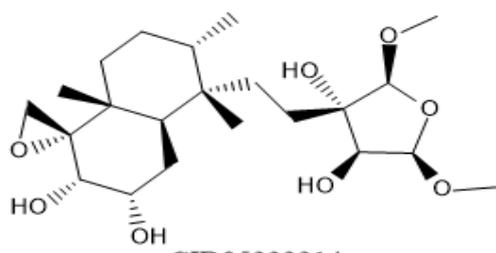
CID85259862



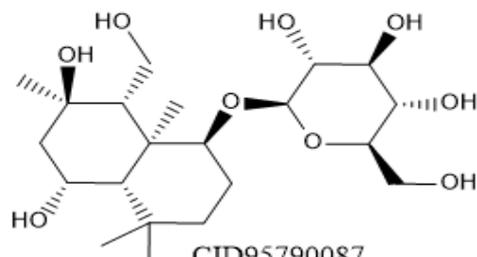
CID92275769



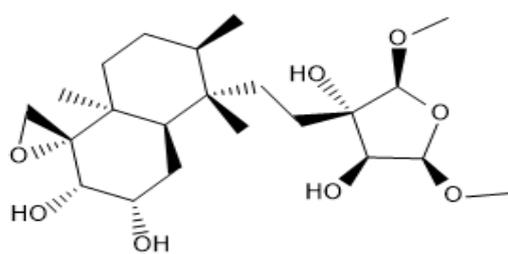
CID95223213



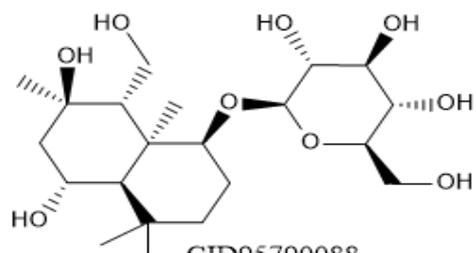
CID95223214



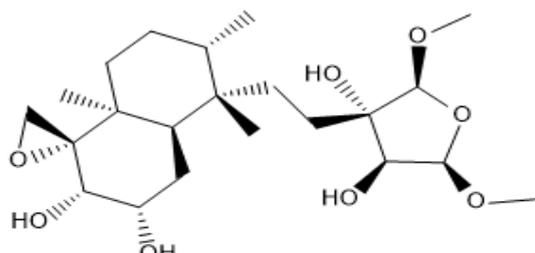
CID95790087



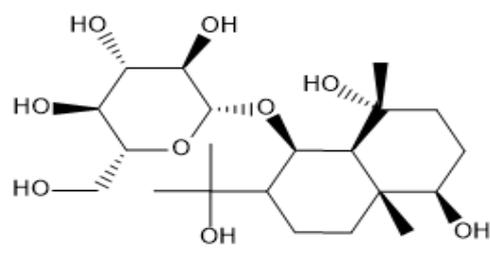
CID95223215



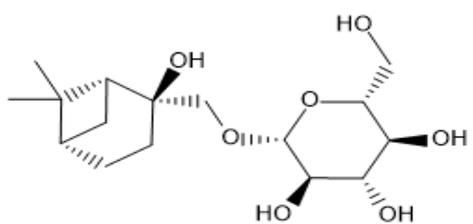
CID95790088



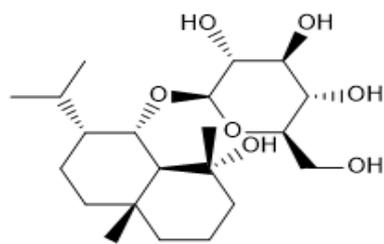
CID95223216



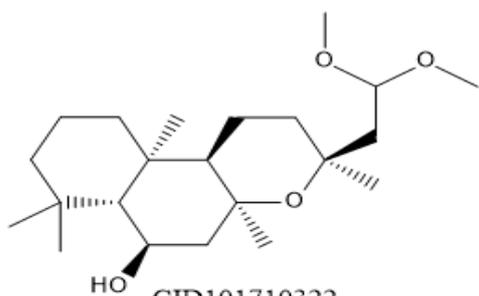
CID101606234



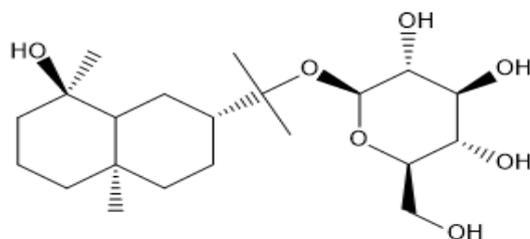
CID101606399



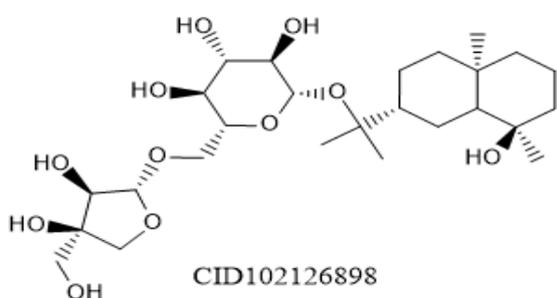
CID101784406



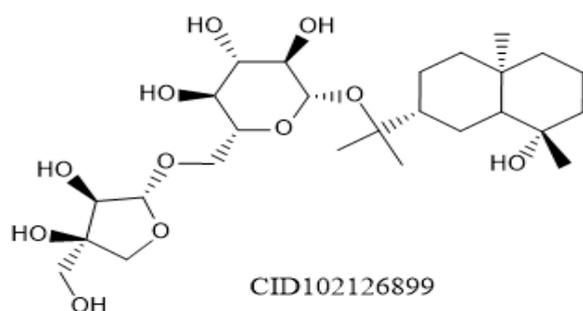
CID101710322



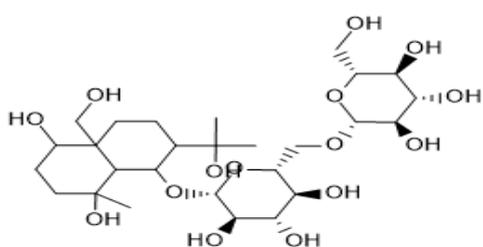
CID102126897



CID102126898



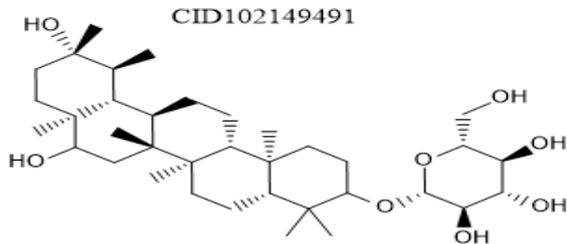
CID102126899



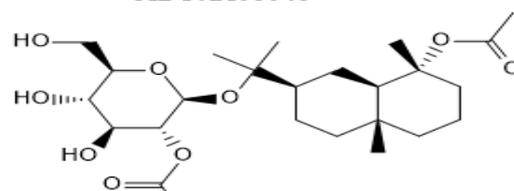
CID102149491



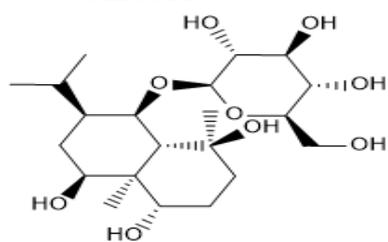
CID102153503



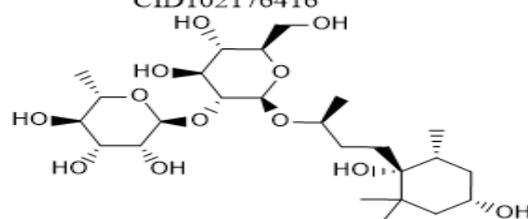
CID102153504



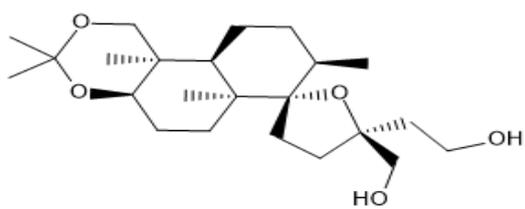
CID102176416



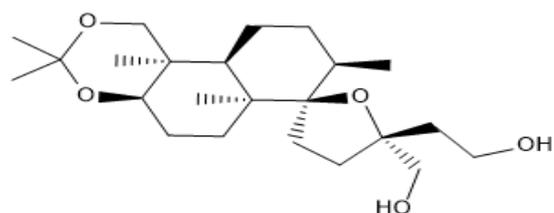
CID102236883



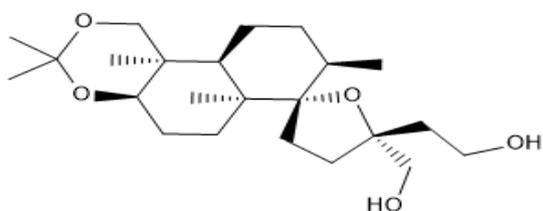
CID102307744



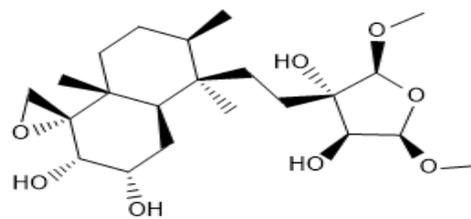
CID124827835



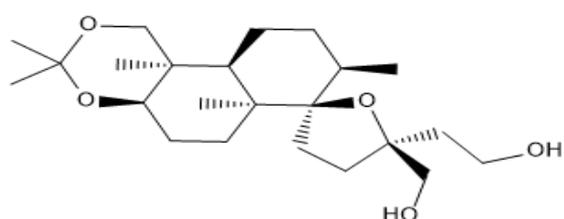
CID124827838



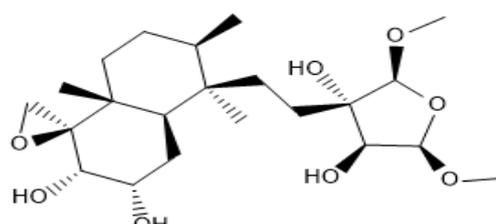
CID124827836



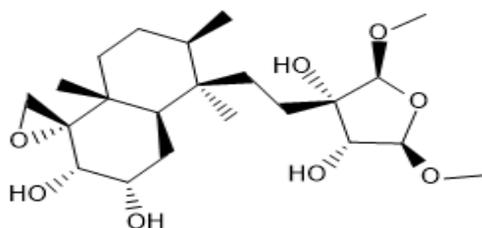
CID124870907



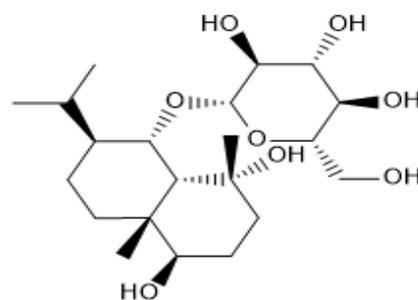
CID124827837



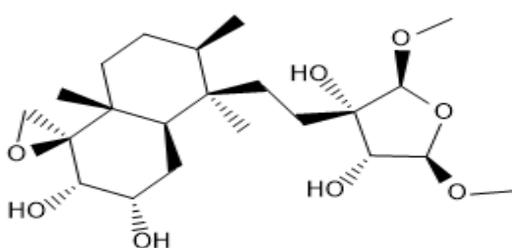
CID124870908



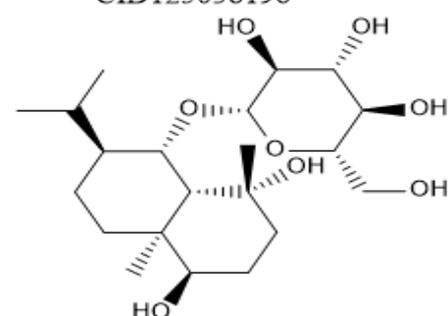
CID124870909



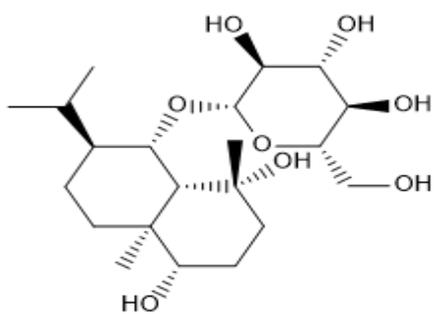
CID125038196



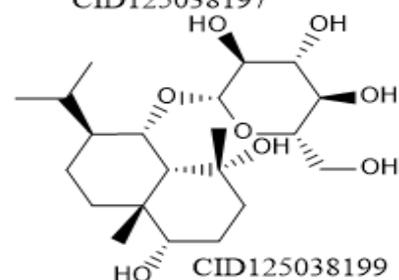
CID124870910



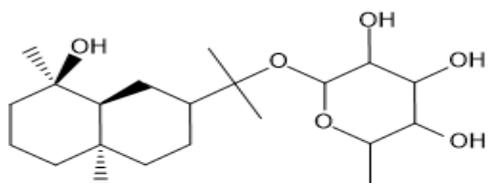
CID125038197



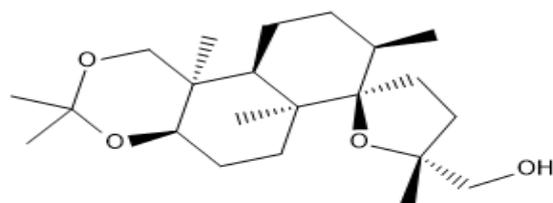
CID125038198



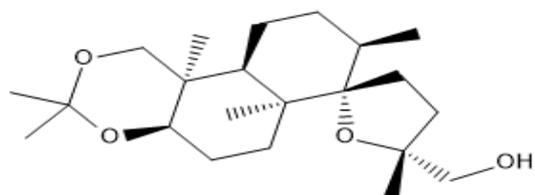
CID125038199



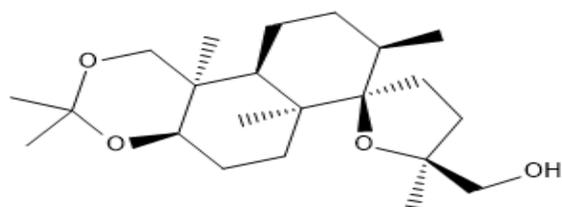
CID129317204



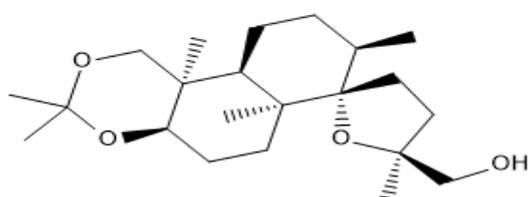
CID129419723



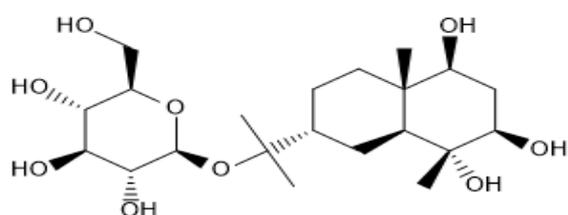
CID129419721



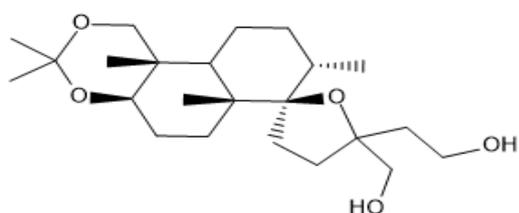
CID129419724



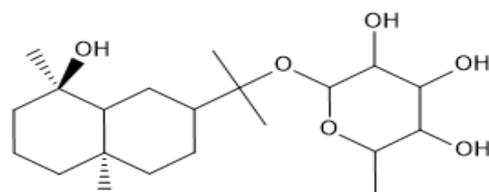
CID129419722



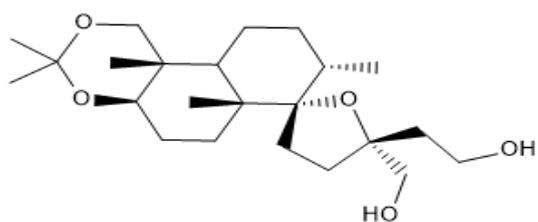
CID132556629



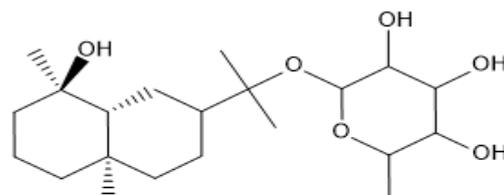
CID133121283



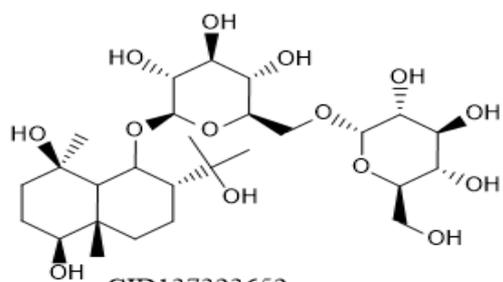
CID146158681



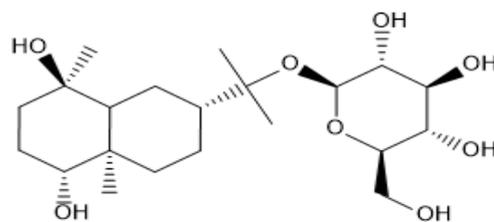
CID133269700



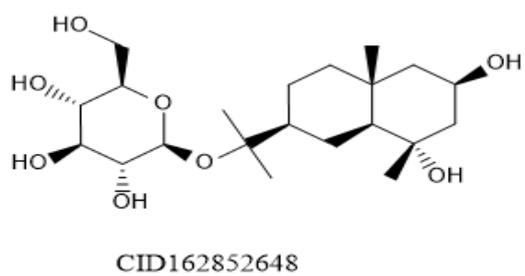
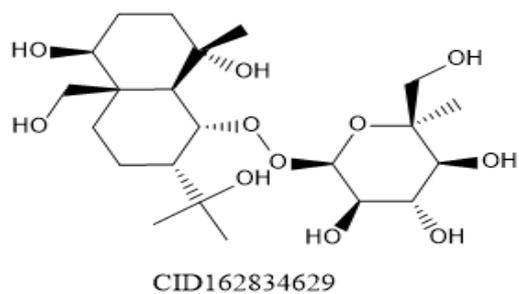
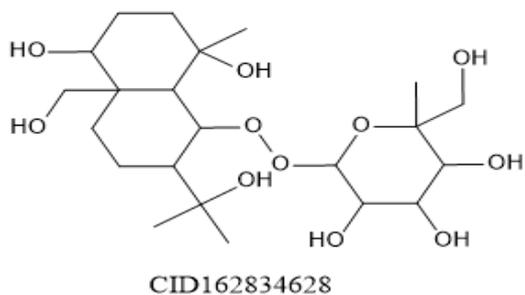
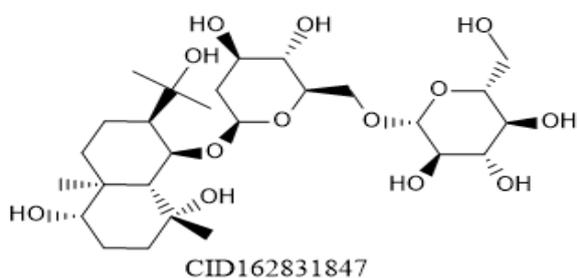
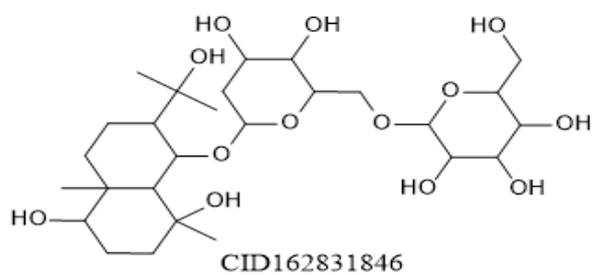
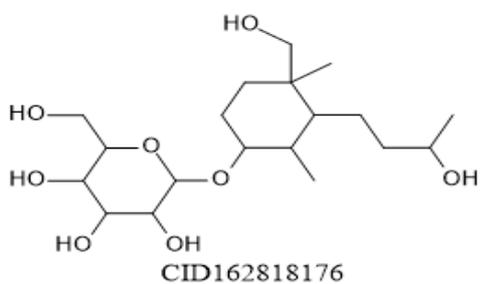
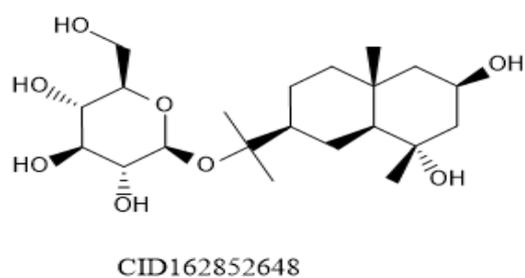
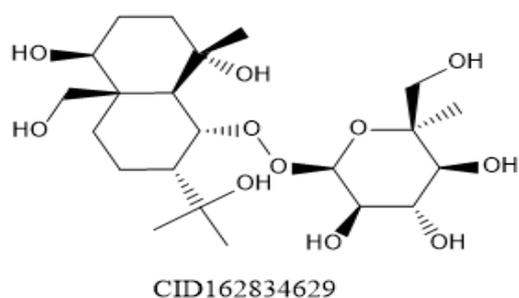
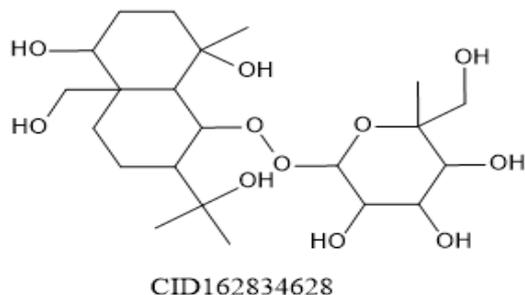
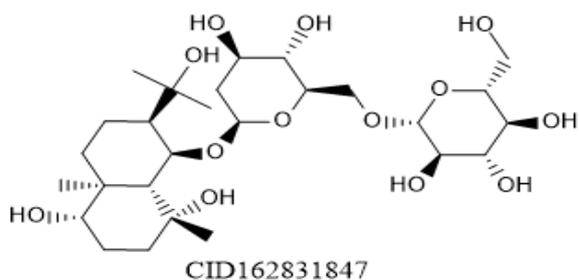
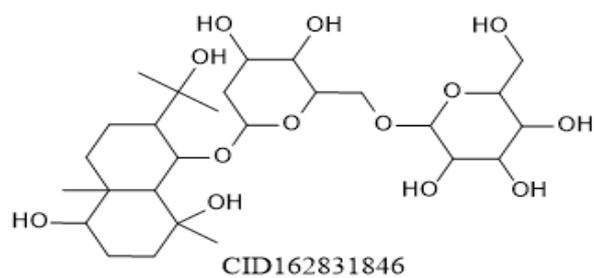
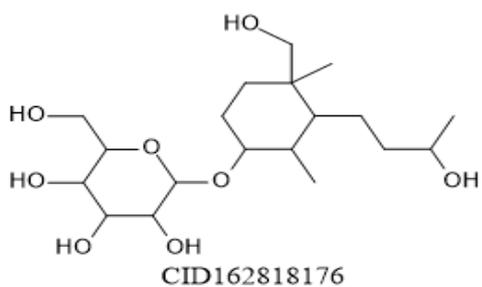
CID154790538

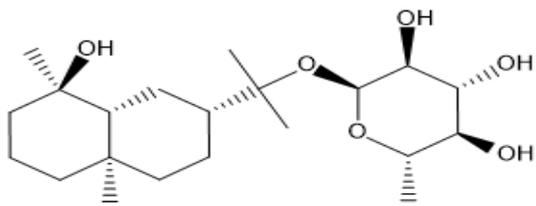


CID137323652

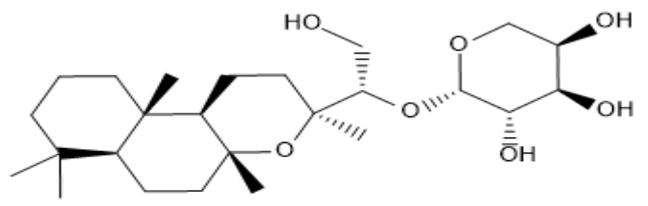


CID155978849

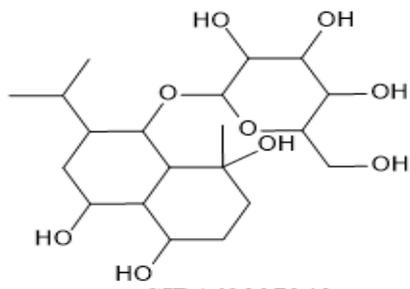




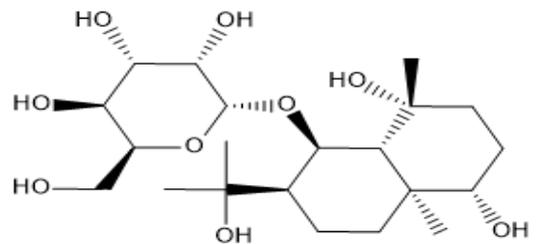
CID162894204



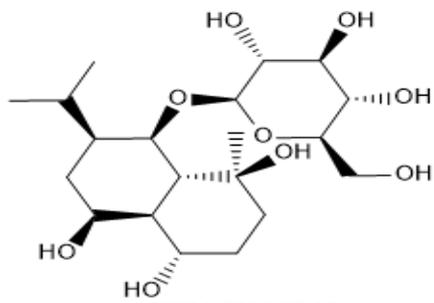
CID162905584



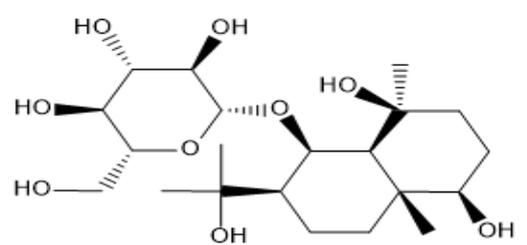
CID162897348



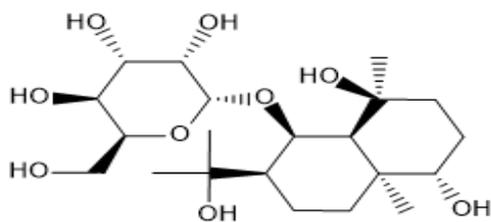
CID162910454



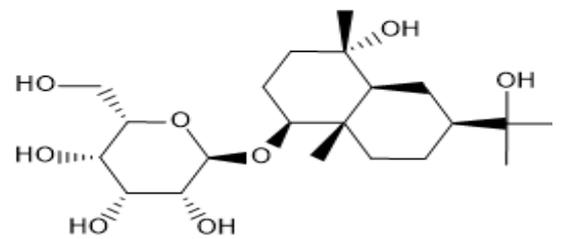
CID162897349



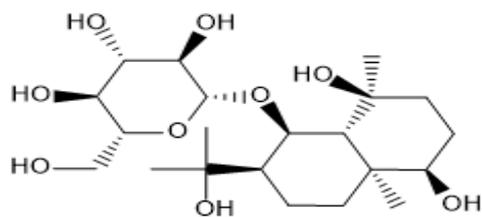
CID162910455



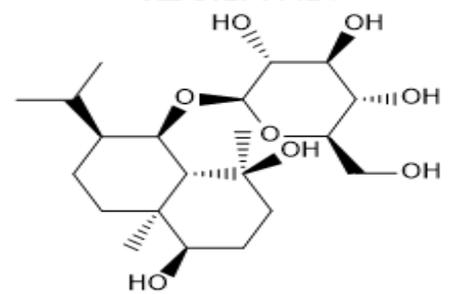
CID162910456



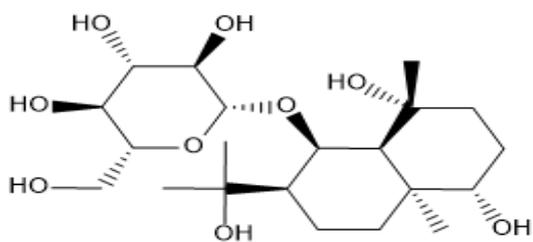
CID162966424



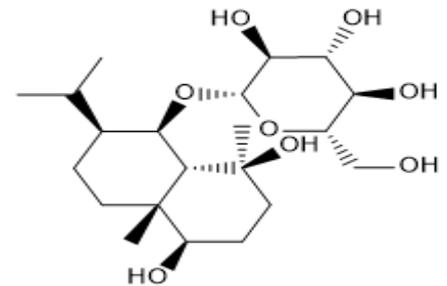
CID162910457



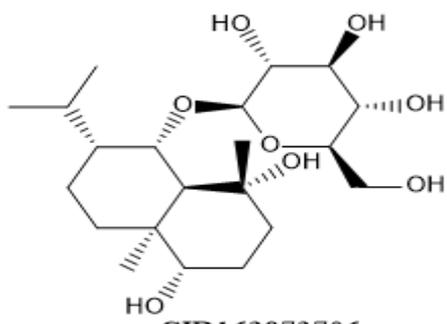
CID162973704



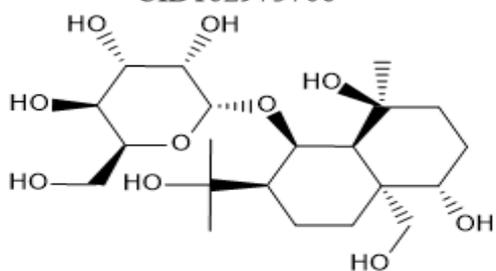
CID162910458



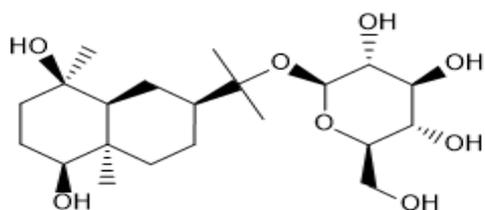
CID162973705



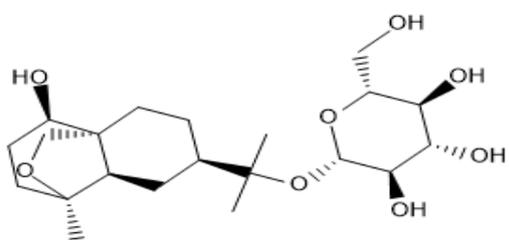
CID162973706



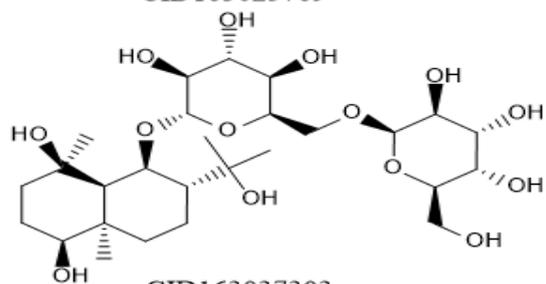
CID163004539



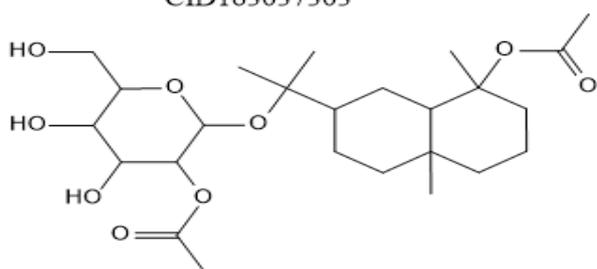
CID163013407



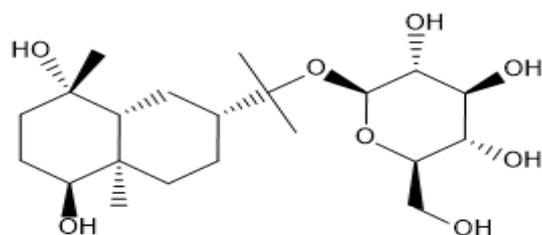
CID163025769



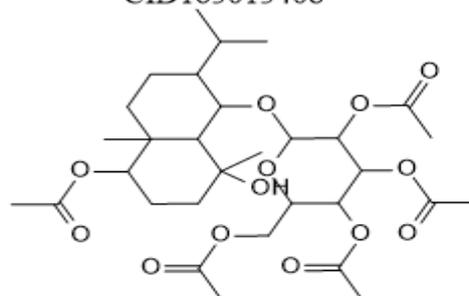
CID163037303



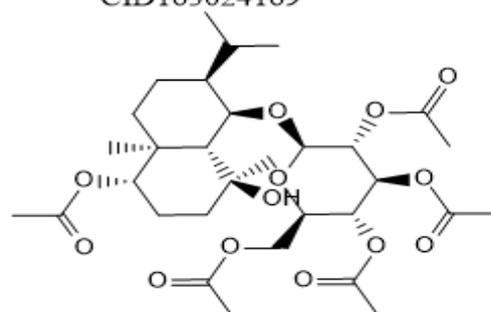
CID163042272



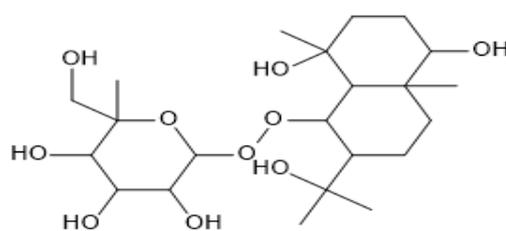
CID163013408



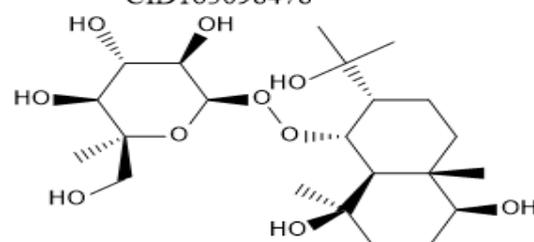
CID163024169



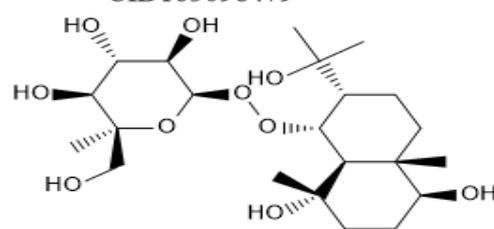
CID163024170



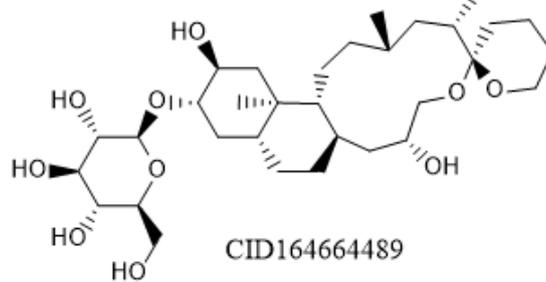
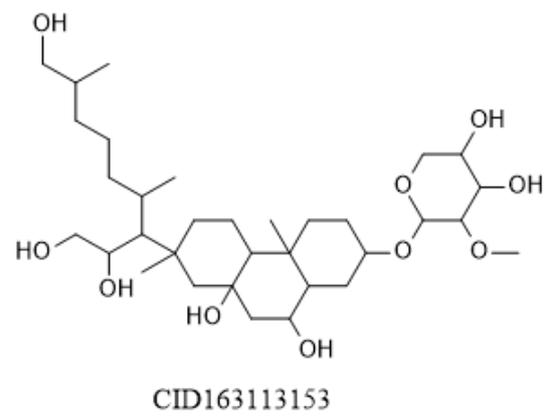
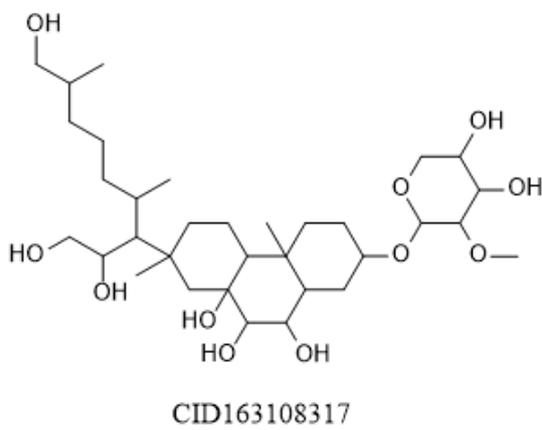
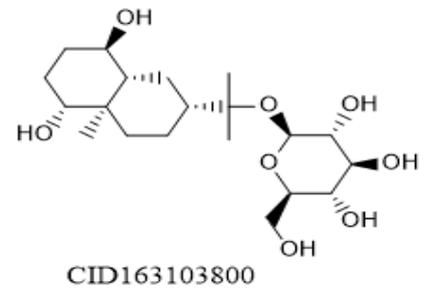
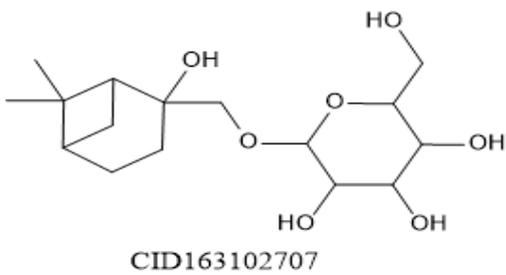
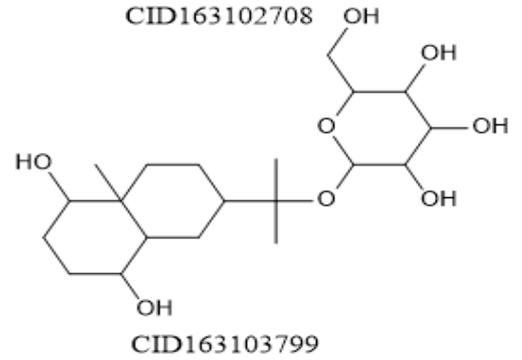
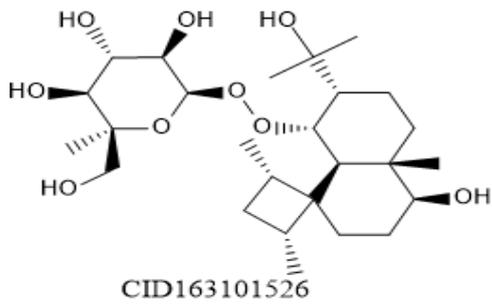
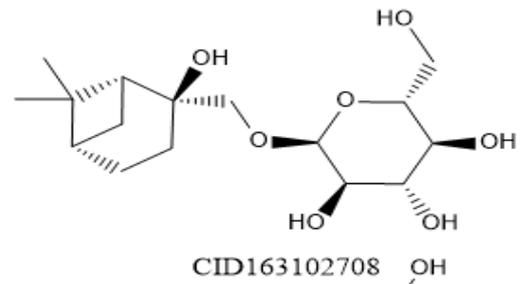
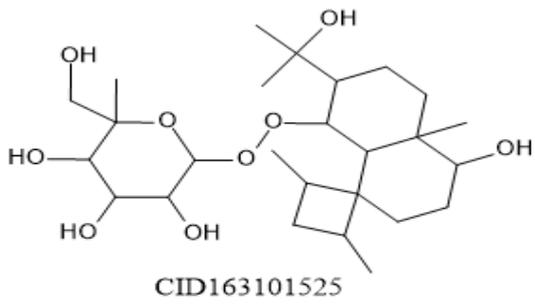
CID163098478



CID163098479



CID163098480



Annexe N° 02: Conformations de chaque ligand obtenues à l'aide du l'étape de Docking XP.

CID	Docking score	Glide gscore	Glide emodel
163102707	-9.660	-9.660	-30.869
163102707	-9.181	-9.181	-28.183
163102707	-9.117	-9.117	-29.998
162994788	-8.645	-8.645	-46.607
76047846	-8.400	-8.400	-35.440
162966423	-8.374	-8.374	-27.940
163858558	-8.134	-8.134	-42.437
163102707	-8.071	-8.071	-49.808
162994788	-8.021	-8.021	-54.315
75069707	-7.973	-7.973	-30.612
162994788	-7.797	-7.797	-51.332
162994788	-7.628	-7.628	-49.492
163102707	-7.565	-7.565	-45.719
162934567	-7.525	-7.525	-55.459
163858558	-7.327	-7.327	-40.899
163108317	-7.137	-7.137	-68.125
75110805	-7.105	-7.105	-32.759
22298413	-6.996	-6.996	-48.130
162818176	-6.971	-6.971	-36.650
162897348	-6.874	-6.874	-29.765
162818176	-6.866	-6.866	-33.340
73657143	-6.855	-6,855	-33.815
155130667	-6,855	-6,855	-54,905
163102707	-6,783	-6,783	-43,847
163108317	-6,667	-6,667	-41,739
162934567	-6,633	-6,633	-51,365
162818176	-6,554	-6,554	-31,718
155130667	-6,541	-6,541	-57,955

162818176	-6,541	-6,541	-39,542
155130667	-6,516	-6,516	-57,404
162818176	-6.510	-6.510	-36,654
155130667	-6,504	-6,504	-62,649
162818176	-6,446	-6,446	-40,446
162818176	-6.418	-6.418	-42,094
162818176	-6.412	-6.412	-39.394
85225929	-6.410	-6.410	-38.877
102126897	-6.390	-6.390	-36.070
163108317	-6.371	-6.371	-51.183
73815018	-6.357	-6.357	-32.806
163108317	-6.347	-6.347	-63.152
163108317	-6.347	-6.347	-58.831
162818176	-6.333	-6.333	-34.568
162818176	-6.329	-6.329	-40.235
162818176	-6.240	-6.240	-41.863
155130667	-6.224	-6.224	-53.268
155130667	-6.219	-6.219	-55.977
162818176	-6.195	-6.195	-38.888
162818176	-6.186	-6.186	-34.553
85259863	-6.053	-6.053	-36.715
162818176	-6.035	-6.035	-34.575
102149491	-6.033	-6.033	-48.057
162818176	-5.805	-5.805	-39.727
162818176	-5.785	-5.785	-37.780
162966423	-5.775	-5.775	-23.313
162994788	-5.727	-5.727	-56.825
155130667	-5.708	-5.708	-62.247
70834435	-5.671	-5.671	-33.653
162818176	-5.660	-5.660	-42.801