



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 : **Sciences de la Matière**

Filière : **Chimie**

Spécialité : **Chimie pharmaceutique**

Réf. : .....

---

Présenté et soutenu par :

**Amani SEDRATI et Wissam BAKHTI**

le : 24/09/2020

# Conception par modélisation et criblage virtuel d'inhibiteurs de récepteur LSD1

---

**Jury :**

Pr. Salah BELAIDI, Professeur, Université de Biskra ..... Président  
Dr. Mebarka OUASSAF, MCB, Université de Biskra ..... Rapporteur  
Dr. Malika MELLAOUI, MCB, Université de Biskra ..... Examineur

Année universitaire : 2019/2020

# Dédicace

Je dédie ce modeste travail comme un témoignage d'affection et de respect. À mes très chers parents, pour tout l'amour dont vous m'avez entouré, pour tout ce que vous avez fait pour moi, je ferai de mon mieux pour rester un sujet de fierté à vos yeux avec l'espoir de ne jamais vous décevoir. Que ce modeste travail, soit l'exaucement de vos vœux tant formulés et de vos prières quotidiennes.

À ma belle-mère et mon beau père. Que ce modeste travail, soit l'exaucement de vos vœux tant formulés et de vos prières quotidiennes. Merci pour tout.

À mon mari Mohamed Lamine

A celui qui a su m'épauler, m'encourager et surtout être patient avec moi ; sans toi je ne pourrai pas accomplir ce travail. Que Dieu te protège et t'offre le bonheur. À mon fils Younes, à la lumière de ma vie ; mon amour ; ma joie et ma fierté ; Que Dieu le protège et l'offre le bonheur et la bonne santé.

À mes chers frères et chères sœurs qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

À mes chères belle-sœurs et mes chers beaux frères qui m'ont toujours soutenue. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

À toute la famille et à tous mes chers amis. Sans oublier ma binôme Wissam pour son soutien morale, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail

**Amani SEDRATI**

# Dédicace

De profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chère,

À l'âme pure de **mon père**, que Dieu ait pitié de lui. Je ne t'oublierai jamais, et je n'oublierai pas les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien-être. Aucune dédicace ne saurait exprimer ma gratitude envers vous, tu étais toujours le meilleur père. Dieu ait pitié de toi.

À **ma chère mère**, pour son amour, son sacrifice et son soutien tout au long de mes études et qui a toujours été ma meilleure compagne. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À ma petite sœur Nisrine et mes frères Mourad, Radhouane et Anoir et à tous les membres de ma famille qu'ils m'encourager pendant toute les moments.

À mes meilleurs amies Soussen, Sana, Rania, Nassima et bien sûr ma binôme Amani de leurs ententes et leurs sympathies et pour aider et supportés dans les moments difficiles.

**Wissam BAKHTI**

# Remerciement

Avant tout, nous tenons à remercier notre grand **Dieu** tout puissant de nous avoir guider durant toutes nos années d'études et nous avoir donner la force, la volonté et le courage pour terminer ce projet.

Nos remerciements les plus chaleureux s'adressent à notre encadreur **Dr Mebarka Ouassaf** pour ses conseils précieux et son suivi qu'il nous a prodigué tout au long de ce travail. Elle n'a pas hésité à tout instant de nous fournir tout ce qu'elle a acquit comme science et informations.

Nos vifs remerciements vont aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

À nos enseignants du département, pour les efforts consacrés et la formation qui nous ont donné durant notre cycle d'étude.

Enfin, nous pourrons pas terminer sans remercier infiniment toute personne qui a participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

# Abstract

Lysine specific demethylase (LSD1) is a proposed therapeutic target for the treatment of cancer disease by inhibiting its activity. In this work, in order to develop new drug candidates in regard to treating cancer disease, molecular docking by MOE software has been devoted, this method has made it possible to perform the virtual screening of 60 compounds (derivatives of Triazole-Dithiocarbamate ) to the active site of lysine-specific demethylase (LSD1). Only 9 compounds exhibited an affinity greater than the reference compound (FAD), the score of which is equal to -10.45 kcal / mol. Online software such as SwissADME, Molinspiration and pkCSM have been used to predict and analyze drug likeness properties, and pharmacokinetic properties, the in silico results allow us to conclude that compounds 45 and 59 could be a future drug candidate potential inhibitor of LSD1.

**Keywords** : Molecular Docking, lysine specific demethylase (LSD1), drug likeness, pharmacokinetic properties.

# Résumé

La déméthylase spécifique à la lysine (LSD1) est une cible thérapeutique proposée pour le traitement de la maladie de cancer en inhibant son activité. Dans ce travail, afin de développer des nouveaux médicaments candidats dans l'égard de traiter la maladie de cancer, le docking moléculaire par le logiciel MOE a été consacré, cette méthode a permis de réaliser le criblage virtuel de 60 composés (dérivés de Triazole-Dithiocarbamate) envers le site actif de la déméthylase spécifique à la lysine (LSD1). Seuls 9 composés ont présentés une affinité supérieure au composé de référence (FAD) dont le score est égal à -10.45 kcal/mol. Des logiciels en ligne tels que SwissADME, Molinspiration et pkCSM ont été utilisés pour prédire et analyser les propriétés drug likeness, et propriétés pharmacocinétiques, les résultats *in silico* nous ont permis de conclure que les composés 45 et 59 pourraient être un futur candidat médicament inhibiteur potentiel de la LSD1.

**Mots clés :** Docking Moléculaire, Déméthylase spécifique à la lysine (LSD1), Drug Likeness, Propriétés Pharmacocinétiques.

# Table des matières

<b>Remerciement</b>	<b>3</b>
<b>Abstract</b>	<b>4</b>
<b>Résumé</b>	<b>5</b>
<b>Table des matières</b>	<b>8</b>
<b>Table des figures</b>	<b>10</b>
<b>Liste des Tableaux</b>	<b>11</b>
<b>Liste des Abréviations</b>	<b>13</b>
<b>Introduction Générale</b>	<b>14</b>
<b>1 Généralités sur le Cancer et Caractéristiques du Déméthylase 1 Spécifique à la Lysine</b>	<b>17</b>
1.1 Introduction . . . . .	17
1.2 Survol sur la maladie de cancer . . . . .	18
1.2.1 Statistiques sur le cancer . . . . .	18
1.2.2 Définition du Cancer . . . . .	19
1.2.3 Types et classifications du cancer . . . . .	19
1.2.4 Traitements contre le cancer . . . . .	20
1.3 Déméthylase spécifique à la lysine(LSD1) . . . . .	23

1.3.1	Structure de la chromatine . . . . .	23
1.3.2	Définition de l'Enzyme LSD1 . . . . .	25
1.3.3	Structure de LSD1 . . . . .	26
1.3.4	Fonction Biologique . . . . .	29
1.3.5	Mécanisme chimique et régulation de l'activité . . . . .	29
1.3.6	LSD1 et le cancer . . . . .	30
1.3.7	Inhibiteurs de LSD1 . . . . .	31
1.3.7.1	Inhibiteurs irréversibles . . . . .	31
1.3.7.2	Inhibiteurs réversibles . . . . .	32
<b>2</b>	<b>Méthodes de Criblage Virtuel in Silico</b>	<b>35</b>
2.1	Introduction . . . . .	35
2.2	Classification de Méthodes de criblage virtuel in Silico . . . . .	36
2.2.1	Méthodes basées sur les ligands ("Ligand-based") . . . . .	36
2.2.2	Méthodes basées sur la structure ("Structure-based") . . . . .	37
2.3	Docking Moléculaire . . . . .	38
2.3.1	Récepteur . . . . .	38
2.3.2	Ligand . . . . .	38
2.3.3	Interactions Protéine-Ligand . . . . .	39
2.3.4	Principe théorique du Docking . . . . .	42
2.3.5	Différents types de docking moléculaire . . . . .	43
2.3.6	Processus de scoring . . . . .	43
2.3.7	Familles de fonction de score . . . . .	44
2.3.8	Protocole général de docking . . . . .	44
2.4	Paramètres "Drug-Like" . . . . .	46
2.4.1	Règle de Lipinski . . . . .	46
2.4.2	Règle de Veber . . . . .	47
2.4.3	Règle de Ghose . . . . .	47
2.5	Propriétés ADME –TOX . . . . .	48
2.5.1	Absorption . . . . .	48
2.5.2	Distribution . . . . .	48

2.5.3	Métabolisme . . . . .	49
2.5.4	Élimination . . . . .	49
2.5.5	Toxicité . . . . .	49
<b>3</b>	<b>Applications, Résultats et Discussions</b>	<b>51</b>
3.1	Introduction . . . . .	51
3.2	Matériel et outils utilisés . . . . .	52
3.2.1	Micro-ordinateur . . . . .	52
3.2.2	Banques (bases) de données et outils logiciels . . . . .	52
3.3	Méthodologie du travail . . . . .	55
3.3.1	Préparation de l'Enzyme . . . . .	57
3.3.2	Détection des cavités . . . . .	58
3.3.3	Préparation des ligands . . . . .	59
3.3.4	Simulation du Docking moléculaire . . . . .	63
3.3.5	Prédiction des propriétés moléculaires des ligands . . . . .	63
3.3.6	Prédiction de Score de biodisponibilité, Solubilité dans l'eau et des propriétés Chimie Médicinale . . . . .	63
3.3.7	Prédiction des propriétés ADME-tox . . . . .	65
3.4	Résultats et Discussion . . . . .	68
3.4.1	Résultats du Docking moléculaire . . . . .	68
3.4.2	Résultats des propriétés moléculaires (drug likeness) . . . . .	82
3.4.3	Résultats de solubilité dans l'eau et des propriétés chimie mé- dicinale . . . . .	86
3.4.4	Résultats des propriétés ADME-tox . . . . .	88
	<b>Conclusion Générale</b>	<b>91</b>

# Table des figures

1.1	Evolution des causes de décès au cours des prochaines décennies [34]	18
1.2	Schéma de compositions de la chromatine . . . . .	24
1.3	(A) Structure cristallographique d'un nucléosome (B) Représentation schématique d'un octamère d'histone . . . . .	25
1.4	représentation Schématique des domaines des histones . . . . .	26
1.5	Structure de la déméthylase (LSD1) en association avec CoREST [14]	27
1.6	Centre catalytique du LSD1. Diagramme en ruban stéréo du centre catalytique du LSD1 [19] . . . . .	28
1.7	Mécanisme catalytique de la déméthylation de H3K4 par LSD1 [77]	30
1.8	Structures chimiques des inhibiteurs irréversibles du LSD1 [99] . . . .	32
1.9	Inhibiteurs naturels de l'histone déméthylase 1 spécifique de la lysine	33
1.10	Structures de quelques inhibiteurs réversibles de la déméthylase spécifique lysine . . . . .	34
2.1	Criblage virtuel in Silico [36] . . . . .	36
2.2	Classification de méthodes de criblage virtuel . . . . .	37
2.3	Modèle clé-serrure pour modéliser la formation d'un complexe RL à partir d'un ligand L et d'un récepteur R . . . . .	39
2.4	Interactions de Van Der Walls . . . . .	40
2.5	Interaction Hydrogène . . . . .	41
2.6	Interactions Electrostatiques . . . . .	41
2.7	Interaction Hydrophobe . . . . .	42
2.8	Principe général d'un programme de Docking . . . . .	43

2.9	Protocole Général de Docking . . . . .	45
3.1	Interface du site <b>Protein Data Bank</b> (PDB) . . . . .	53
3.2	Interface Web du logiciel Swiss ADME . . . . .	54
3.3	Interface Web du logiciel Molinspiration . . . . .	54
3.4	Interface du logiciel MOE . . . . .	55
3.5	Méthodologie du travail . . . . .	56
3.6	Structure 3D de l'enzyme 2V1D simplifié . . . . .	57
3.7	Cavité 1 (Pocket) de l'enzyme 2V1D . . . . .	58
3.8	Structure chimique de FAD . . . . .	59
3.9	Interaction entre $L_{ref}$ et les résidus du site actif de 2V1D . . . . .	71
3.10	Interactions entre le ligand 24 et les résidus de site actif de 2V1D . . . . .	73
3.11	Interactions entre le ligand 26 et les résidus de site actif de 2V1D . . . . .	74
3.12	Interactions entre le ligand 16 et les résidus de site actif de 2V1D . . . . .	75
3.13	Interactions entre le ligand 19 et les résidus de site actif de 2V1D . . . . .	76
3.14	Interactions entre le ligand 25 et les résidus de site actif de 2V1D . . . . .	77
3.15	Interactions entre le ligand 45 et les résidus de site actif de 2V1D . . . . .	78
3.16	Interactions entre le ligand 27 et les résidus de site actif de 2V1D . . . . .	79
3.17	Interactions entre le ligand 59 et les résidus de site actif de 2V1D . . . . .	80
3.18	Interactions entre le ligand 17 et les résidus de site actif de 2V1D . . . . .	82

# Liste des tableaux

3.1	Caractéristiques des ordinateurs utilisés . . . . .	52
3.2	Composition atomique de protéine 2V1D . . . . .	57
3.3	Propriétés de la première cavité (site actif ) de l'enzyme 2V1D . . . . .	59
3.4	Structures chimiques des composés ( dérivés de Triazole-Dithiocarbamate)	60
3.5	Résultats de RMSD et SCORE de l'enzyme 2VD1 avec les ligands étudiés . . . . .	69
3.6	Valeurs de RMSD données par le logiciel MOE. . . . .	70
3.7	Rapport d'interactions entre les résidus de site actif avec le FAD . . . . .	71
3.8	Résultats des interactions entre les meilleures ligands et les résidus de site actif de 2V1D . . . . .	72
3.9	Résultats d'application de la Règle de Lipinski pour les meilleurs in- hibiteurs de LSD1 . . . . .	83
3.10	Résultats de l'application de la Règle Veber pour les meilleurs inhibi- teurs de LSD1 . . . . .	84
3.11	Résultats d'application de la Règle de Ghose et du score de biodispo- nibilité . . . . .	85
3.12	Résultats de solubilité . . . . .	86
3.13	Résultats des PAINS pour les meilleurs inhibiteurs de LSD1 . . . . .	87
3.14	Résultats de l'accessibilité synthétique . . . . .	88
3.15	Résultats d'absorption et distribution . . . . .	88
3.16	Résultats du métabolisme . . . . .	89
3.17	Résultats de l'évaluation de la Toxicité . . . . .	90

# Abréviations

**ADMET** : Absorption Distribution Métabolisme Elimination Toxicité  
**ADN** : Acide DéoxyriboNucléique  
**AMBER** : Assisted Model Building with Energy Refinement  
**AS** : Accessibilité Synthétique  
**BHE** : Barrière Hémato-Encéphalique  
**CADD** : Computer Aided Drug Development  
**CoREST** : Co-répresseur pour l'Elément répresseur 1, facteur de Transcription Silencieux  
**CYP 450** : CYtochromes P 450  
**DL50** : Dose Létale Médiane  
**FAD** : Flavine Adénine Dinucléotide  
**GI Absorption** : Absorption Gastro-Intestinale  
**HERG** : Human Ether-à-Go-Go - Related Gene  
**H3K4me1** : méthyle 1 de lysine 4 histone 3  
**H3K4me2** : méthyle 2 de lysine 4 histones 3  
**IC50** : Concentration Inhibitrice Médiane  
**KDM1** : lysine (K) déméthylase spécifique de 1A  
**Kp** : coefficient de perméabilité cutanée  
**LSD1** : Déméthylase Spécifique de la Lysine 1  
**MAO-A** : MonoAmine Oxydase A  
**MAO-B** : MonoAmine Oxydase B  
**MOE** : Molecular Operating Environment  
**OHNH** : liaisons hydrogène donneurs

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé  
**ON** : liaisons hydrogène accepteurs  
**PAINS** : Pan Assay INterference compoundS  
**PDB** :Banque de Donnée Protéique(Protein Data Bank)  
**P-gp** : glycoprotéine P  
**QSAR** :Relation Structure- Activité Quantitative  
**RL** : Récepteur-Ligand  
**RMN** :Résonance Magnétique Nucléaire  
**RMSD** : Root Mean Square Dérivation  
**RX** : Rayons X  
**SMILE** :Simplified Molecular-Input Line-Entry  
**TCP** :TranylCyPromine  
**TPSA** :Topological Polar Surface Area

# Introduction Générale

Le cancer est une maladie chronique multifactorielle. De nombreux facteurs génétiques, hormonaux, environnementaux (l'alimentation, le tabac, le rayonnement solaire et l'exposition professionnelle) peuvent concourir au développement du cancer et agir à différentes phases de la cancérogenèse [68]. Par ailleurs, un rôle supplémentaire en expansion du LSD1 dans le cancer provient de la découverte de la capacité du LSD1 à réguler l'activité des protéines non histoniques en raison des mécanismes de déméthylation dépendants du LSD1. Ainsi, LSD1 affecte la dynamique de méthylation / déméthylation sur des résidus de lysine spécifiques de plusieurs protéines non histoniques. Il est concevable que les fonctions multiformes du LSD1 pourraient expliquer son rôle dans plusieurs processus cellulaires différents dans les cellules normales et cancéreuses [64].

La Chemoinformatique est un nouveau domaine apparu il y a quelques années. Il concerne le développement, la création, l'organisation, le stockage, la diffusion, l'analyse, la visualisation et l'utilisation de l'information chimique, elle représente un domaine en évolution rapide. Actuellement, les méthodes spécifiques de la chemoinformatique indispensables pour le développement de nouveaux composés, matériaux et processus, C'est dans ce but que des techniques de modélisations moléculaires, regroupées sous le nom "Amarrage" ou "Docking" moléculaire ont été développées. Tel que, le Docking moléculaire permet de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand. Le programme de Docking est utilisé pour placer des représentations générées par ordinateur d'une petite molécule appelé "Ligand" dans une structure cible

représentée le plus souvent par une protéine [58]. Les chimiothèques étant utilisées dans les processus de la recherche et le développement de nouveaux médicaments, il semble raisonnable de ne tester que les molécules possédant des caractères susceptibles de faire d'elles des médicaments (autrement dénommé "Drug-likeness"). Cependant, l'évaluation de ces caractéristiques n'est pas aisée, et ainsi au fil des ans, différents critères de sélection, la plupart du temps basés sur des propriétés physico-chimiques, ont été proposés (les règles : Lipinski, Veber et Ghose)

Dans les années 1990, l'échec des candidats médicaments lors des phases cliniques était principalement imputable à de mauvaises performances pharmacocinétiques et de biodisponibilité. Il est alors apparu nécessaire de prendre en compte ces critères dès les phases précoces de RD pour tenter de diminuer le taux d'échec des candidats-médicaments. La mise en place de filtres ADME (Absorption Distribution Métabolisme et Elimination)-Tox (Toxicité) des chimiothèques dans tout processus de criblage a donné d'excellents résultats.

Notre recherche consiste à étudier l'inhibition de l'enzyme impliquée dans la maladie de cancer (LSD1) avec les divers ligands. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'application de cette alternative prometteuse utilisant la technique "Docking moléculaire" pour la prédiction des modes d'interactions possibles et l'étude des interactions moléculaires entre l'enzyme déméthylase-1- (2V1D) et les inhibiteurs des dérivés de TriazoleDithiocarbamate. L'évaluation des propriétés drug likeness et ADMET a été effectuée, pour les meilleurs ligands après analyse d'amarrage afin de filtrer les composés ayant des propriétés indésirables.

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

- Le Chapitre 1 présente un survol sur la maladie du cancer, l'enzyme LSD1 et ses inhibiteurs.
- Le Chapitre 2 expose quelques notions fondamentales sur le Criblage Virtuel et le Docking moléculaire.
- Le Chapitre 3, présente les résultats de notre étude pratique. On montre plus particulièrement les interactions entre les différents inhibiteurs avec l'enzyme

(2V1D) par la méthode du docking moléculaire en utilisant le logiciel MOE. Après, on montre comment nous avons sélectionné les deux meilleurs inhibiteurs.

- Enfin, nous présentons une conclusion générale dont laquelle nous synthétisons le travail réalisé ainsi que nos perspectives.

# Chapitre 1

## Généralités sur le Cancer et Caractéristiques du Déméthylase 1 Spécifique à la Lysine

### 1.1 Introduction

Des efforts considérables ont été déployés pour comprendre comment les changements dans l'épigénome contribuent à la progression du cancer [67], la maladie qui est aujourd'hui largement répandue dans le monde sous divers types, et qui représente un réel problème de santé publique et c'est pourquoi la recherche sur cette thématique s'intensifie pour mieux comprendre les causes du cancer et trouver des traitements plus efficaces et plus adaptés à chaque patient [10]. En conséquence, les enzymes qui contrôlent les marques épigénétiques ont été étudiées comme cibles potentielles pour le traitement du cancer [67].

Récemment, plusieurs histones déméthylase ont été identifiées, catalysant l'élimination des groupes méthyle des résidus d'histone H3 lysine et influençant ainsi l'expression des gènes. D'autre part Il est largement admis que les modificateurs de la chromatine jouent un rôle important dans la tumorigenèse [62][67]. Pour cela la déméthylase spécifique à la lysine a été proposée comme cible thérapeutique pour le

traitement de cancer ; bloquer la croissance et/ou la propagation des cellules tumorales en bloquant spécifiquement le processus de cette cible.

Ce chapitre se compose de deux parties : premièrement nous présentons des généralités sur la maladie de cancer, deuxièmement nous présentons la description et la structure de la cible de LSD1 et ses inhibiteurs.

## 1.2 Survol sur la maladie de cancer

### 1.2.1 Statistiques sur le cancer

Le cancer est un véritable fléau mondial qui présente des chiffres qui font peur ; il est devenu un phénomène mondial lié à la mortalité, malgré la disponibilité des moyens pour un diagnostic précoce et aussi pour le traitement. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 25 millions de personnes vivent avec le cancer. En 2012, l'OMS a dénombré 14.1 millions de nouveaux cas avec 8.2 millions de décès déclarés dans la même année, 70% de ses cas sont signalés dans les pays en développement [49]. La menace est telle, selon le rapport de l'OMS, que le nombre de cas de cancers devrait doubler entre 2000 et 2020 et tripler d'ici 2030 par rapport au début de ce siècle [34]. La Figure 1.1 montre le développement des cas de cancer au cours des dernières années jusqu'au 2030.

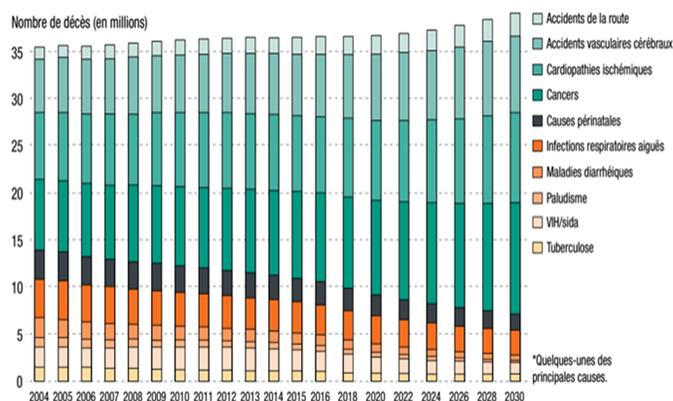


FIGURE 1.1 – Evolution des causes de décès au cours des prochaines décennies [34]

### 1.2.2 Définition du Cancer

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) : "Cancer" est un terme générique appliqué à un grand groupe de maladies pouvant toucher une partie quelconque de l'organisme. Les autres termes employés sont ceux de tumeurs malignes et de néoplasmes.

L'une des caractéristiques définissant le cancer est l'apparition rapide de cellules anormales dont la croissance s'étend au-delà de leurs limites habituelles et qui peuvent alors envahir des zones voisines de l'organisme et se propager à d'autres organes. Il est fait référence à ce processus sous le terme de dissémination métastatique. Les métastases sont la principale cause de décès par cancer [34].

En d'autres termes, le cancer est une maladie qui est caractérisée par une prolifération cellulaire anormale au sein d'un tissu normal de l'organisme. Ces cellules dérivent toutes d'un même clone, la cellule initiatrice du cancer qui a acquis certaines caractéristiques lui permettant de se diviser indéfiniment et de pouvoir former des métastases [74].

### 1.2.3 Types et classifications du cancer

Les pathologies cancéreuses sont d'abord classées selon la localisation du début de leur prolifération. La classification se fait selon le type de tissu attaqué ou selon l'organe affecté. Nous pouvons distinguer dans la première catégorie les types de cancers nommés comme suit [5] :

- **Cancers hématopoïétiques** : cancer des cellules du sanguin et immunitaire, ainsi appelé lympho-hématopoïétiques (leucémies, lymphomes non hodgkiens...).
- **Sarcomes** : cancer des tissus de soutien (tissu conjonctif, os, cartilage, graisse, muscle). En général, la nomenclature de ces cancers utilise le suffixe "sarcome" ajouté au nom du tissu d'où la tumeur prend son origine (fibrosarcome).
- **Carcinomes** : cancer des cellules épithéliales par exemple, un cancer d'un tissu glandulaire prendra le nom d'adénocarcinomes [43].

La classification des cancers selon l'organe touché est la plus connue [5] :

- Cancer du poumon
- Cancer du foie
- Cancer du sein
- Cancer du pancréas
- Cancer du côlon
- Cancer du sang ou leucémie
- Cancer de la moelle osseuse ou myélome multiple
- Cancer des vaisseaux sanguins ou sarcome de Kaposi.

#### 1.2.4 Traitements contre le cancer

Les principaux traitements contre le cancer sont la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie, l'hormonothérapie, les traitements ciblés et l'immunothérapie. Ils sont utilisés soit en monothérapie, soit en combinaison pour éliminer les cellules cancéreuses plus efficacement. Le type de traitement choisi dépend de chaque individu, du type de cancer, de son évolution et de l'état général de l'individu [73].

##### a) **Chirurgie**

L'opération chirurgicale est la forme la plus ancienne de traitement des cancers. C'est encore aujourd'hui bien souvent le premier traitement qui est proposé aux personnes chez qui un cancer a été diagnostiqué. Il est très simple. Une fois la tumeur localisée, on vous opère pour la retirer. Cette opération a pour but d'éliminer la tumeur et les éventuelles cellules cancéreuses présentes à proximité de celle-ci. Plus la tumeur est petite, plus les chances de succès sont importantes. En pratique : l'intervention est pratiquée par un chirurgien polyvalent ou spécialiste de l'organe touché. Elle peut être réalisée sous anesthésie générale (vous êtes complètement endormi) ou sous anesthésie locale (seule la zone d'intervention est insensibilisée) ; tout dépend de la localisation de la tumeur [1].

**b) Radiothérapie**

La radiothérapie, ou radiothérapie, est l'une des principales thérapies contre le cancer. Il s'agit d'une modalité de traitement complexe mais captivante qui utilise des rayonnements ionisants à haute énergie pour endommager et tuer les cellules cancéreuses malignes. Le but de la radiothérapie est de délivrer des doses mortelles aux cellules tumorales, tout en épargnant autant que possible les tissus sains. Dans la radiothérapie à faisceau externe standard (EBRT), qui est la technique de radiothérapie mise en évidence dans cette thèse, les photons méga-tension (MV) sont générés par un accélérateur linéaire, ou linac. Ces photons interagissent avec la matière dans le corps humain, générant des électrons secondaires qui endommagent l'ADN. Dans le cas où ces dommages sont irréparables, ces cellules sont éliminées. Étant donné qu'une dose plus élevée dans la tumeur entraîne une probabilité de contrôle de la tumeur (TCP) plus élevée, des doses idéalement élevées sont délivrées à la tumeur. Une caractéristique favorable est la diminution de la capacité de réparation des cellules tumorales, les rendant plus sensibles aux radiations. Bien que les tissus normaux soient également endommagés par la dose de rayonnement, l'EBRT est généralement administrée en plusieurs fractions (fractionnement) pour permettre aux tissus normaux de récupérer. À titre d'exemple, le glioblastome multiforme, un type agressif de cancer du cerveau, est traité avec 30 fractions de 2 Gy réparties sur 6 semaines consécutives dans notre établissement. Inévitablement, la radiothérapie doit trouver un équilibre entre l'administration de doses suffisamment élevées à la tumeur et la limitation de la dose de rayonnement aux tissus sains environnants pour réduire autant que possible les effets indésirables [87].

**c) Chimiothérapie**

Également appelée "**chimio**", c'est un traitement avec des médicaments qui bloquent ou ralentissent la croissance cellulaire, le plus souvent pour le cancer. Il existe de nombreux médicaments de chimiothérapie, et souvent plusieurs sont administrés ensemble. Selon le type de cancer, sa taille et sa propagation, la chimiothérapie peut guérir le cancer, ralentir ou empêcher sa propagation ou améliorer ses symptômes. La chimiothérapie est souvent utilisée avec d'autres traitements contre le cancer, tels que la radiothérapie ou la chirurgie. Par exemple, un patient peut recevoir une

chimiothérapie pour réduire une tumeur avant une intervention chirurgicale ou une radiothérapie ou pour aider à tuer les cellules cancéreuses qui pourraient subsister par la suite. La chimiothérapie est parfois administrée avec d'autres agents non chimiothérapeutiques tels que des anticorps qui bloquent ou ralentissent également la croissance tumorale.

La chimiothérapie est administrée [88] :

- Le plus souvent, par perfusion dans une veine ou une artère
- Directement dans une zone du corps, comme la colonne vertébrale ou l'abdomen
- En injection dans le bras, la jambe ou une autre zone
- Par voie orale sous forme de pilule ou de liquide
- Dans la peau comme une crème.

d) **Hormonothérapie**

L'objectif de l'hormonothérapie est d'inhiber l'activité hormonale qui entretient la survie et la prolifération des cellules tumorales se développant au sein de ces tissus. Dans ce type de traitement, il existe trois stratégies qui consistent aux :

- Apporter une hormone qui va inhiber la libération d'une autre hormone impliquée en stimulant le rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire (hormonothérapie additive).
- Inhiber la synthèse de l'hormone (hormonothérapie suppressive).
- Empêcher l'hormone de se fixer sur son récepteur.

L'hormonothérapie peut être indiquée en complément d'autres techniques comme la chirurgie ou la radiothérapie [37].

e) **Immunothérapie**

L'immunothérapie agit principalement sur le système immunitaire du patient pour le rendre apte à attaquer les cellules cancéreuses [25]. Elle regroupe plusieurs stratégies complémentaires : le transfert de cellules immunitaires, les vaccins thérapeutiques, les cytokines, les adjuvants de vaccins et les anticorps monoclonaux.

Les succès cliniques récents des anticorps interférant avec des points de contrôles immunitaires dans les cancers avancés démontrent que l'immunothérapie est un paradigme viable pour le traitement des cancers. En outre, les traitements combinant immunothérapie et traitements conventionnels devraient encore améliorer cette approche tant dans son efficacité que dans ses indications cliniques [25].

f) **Traitements ciblés**

Les traitements ciblés sont de nouveaux traitements possibles pour lutter contre le cancer ; ils se sont développés suite à une meilleure connaissance des mécanismes de fonctionnement des cellules cancéreuses. Ce type de traitement est plus efficace que la chimiothérapie classique en provoquant moins d'effets secondaires car il cible des molécules exprimées uniquement par les cellules tumorales ou hyperactives dans le cancer, sans trop affecter les cellules saines [73]. Dans ce contexte, nous mentionnons l'enzyme de LSD1 ; une expression excessive de LSD1 a été trouvée dans de nombreux types de cancer et s'est avérée expérimentalement être un acteur majeur dans le développement du cancer [47]. D'un autre côté, Des études impliquant la suppression du LSD1 ont suggéré que la perte d'expression du LSD1 réduit la croissance des cellules cancéreuses ainsi que leur potentiel de migration et d'invasion [71], ce qu'on va discuter dans la deuxième partie de ce chapitre.

## 1.3 Déméthylase spécifique à la lysine(LSD1)

### 1.3.1 Structure de la chromatine

Chez l'homme, toutes les cellules d'un même organisme possèdent la même information génétique codée par des molécules d'acide désoxyribonucléique (ADN) [11]; l'ADN est intégré au sein d'un complexe nucléo-protéique appelé "chromatine" permettant ainsi de contenir l'ensemble du génome (environ 2 mètres pour le génome humain) dans le noyau d'une cellule d'environ 5  $\mu\text{m}$  [22]. Elle permet de structurer, d'organiser et de compacter l'information génétique dans le volume nucléaire. Au-delà de cette fonction structurelle, elle est impliquée dans un grand nombre de régulation et dans le métabolisme de l'ADN d'une façon générale [59].

### A) Nucléosome

Le nucléosome est l'unité répétitive de la chromatine (Figure 1.2) et se forme de 146 paires de bases d'ADN enroulées autour d'un octamère d'histone (composé d'un dimère de chacune des histones H2A, H2B, H3 et H4). Avec l'aide d'autres protéines de la chromatine, comme l'histone de liaison H1 [85].

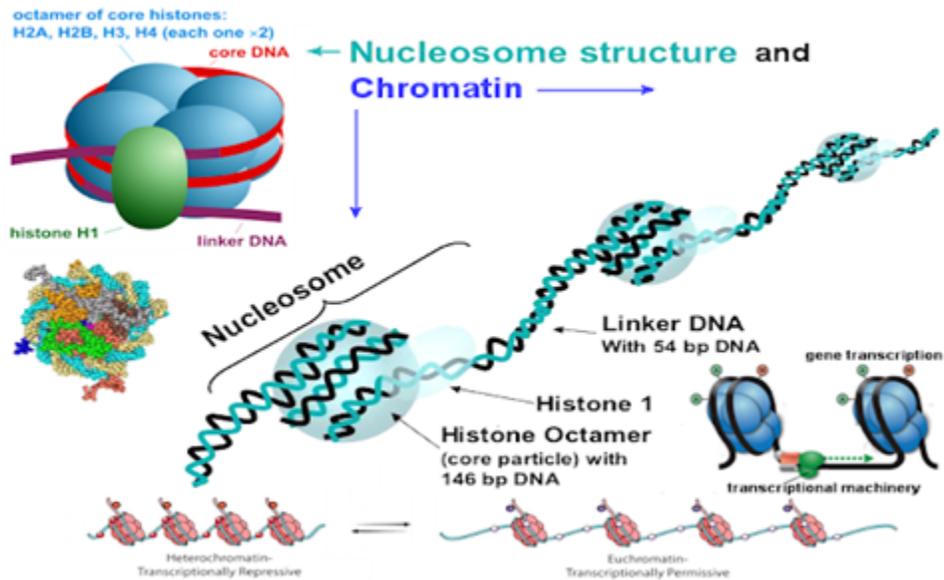


FIGURE 1.2 – Schéma de compositions de la chromatine

### B) Histones

Les histones sont de petites protéines nucléaires dont la masse moléculaire des formes non modifiées s'échelonne entre 11 et 17 kilo daltons (kDa) pour les histones de cœur (H2A, H2B, H3 et H4) (Figure 1.3- B), et atteint 22 kDa pour l'histone de liaison H1. Tous les sous-types d'histones partagent la particularité d'être riches en résidus arginine (R) et lysine (K) ce qui leur confère un caractère hautement basique. Leur forte interaction avec la molécule d'ADN (Figure 1.3- A) au sein du nucléosome est assurée par de nombreuses interactions non covalentes, en particulier les liaisons hydrogène établies entre les acides aminés des histones et les atomes d'oxygène des groupements phosphates de l'ADN, et les interactions élec-

trostatiques entre leurs résidus chargés positivement et les groupements phosphates de l'ADN chargés négativement [11].

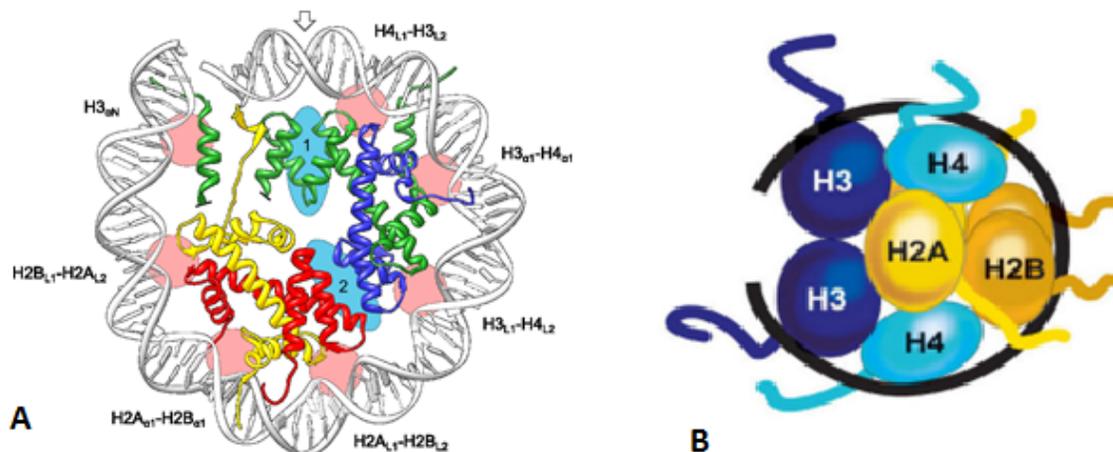


FIGURE 1.3 – (A) Structure cristallographique d'un nucléosome (B) Représentation schématique d'un octamère d'histone

Les histones contiennent deux domaines distincts : une région représentant un repliement globulaire et une extrémité N-terminale contenant majoritairement des résidus basiques. Le domaine globulaire, appelé "histone fold", présente un repliement caractéristique que l'on retrouve également dans d'autres protéines et certains facteurs de transcription (voir Figure 1.4). Ce domaine globulaire, impliqué dans les interactions histone-histone et histone-ADN, garantit la stabilité de la particule nucléosomale [2].

### 1.3.2 Définition de l'Enzyme LSD1

La déméthylase 1 spécifique à la lysine (LSD1), également appelée KDM1 [102], est la première déméthylase d'histone découverte et rapportée par le groupe du Dr Shi Yang en 2004. Elle est classée comme membre de la superfamille des amines oxydases, dont la caractéristique commune est l'utilisation du dinucléotide flavine adénine (FAD) comme cofacteur. Puisqu'il est situé dans le noyau cellulaire et agit comme une gomme de méthylation des histones, LSD1 supprime un ou deux groupements

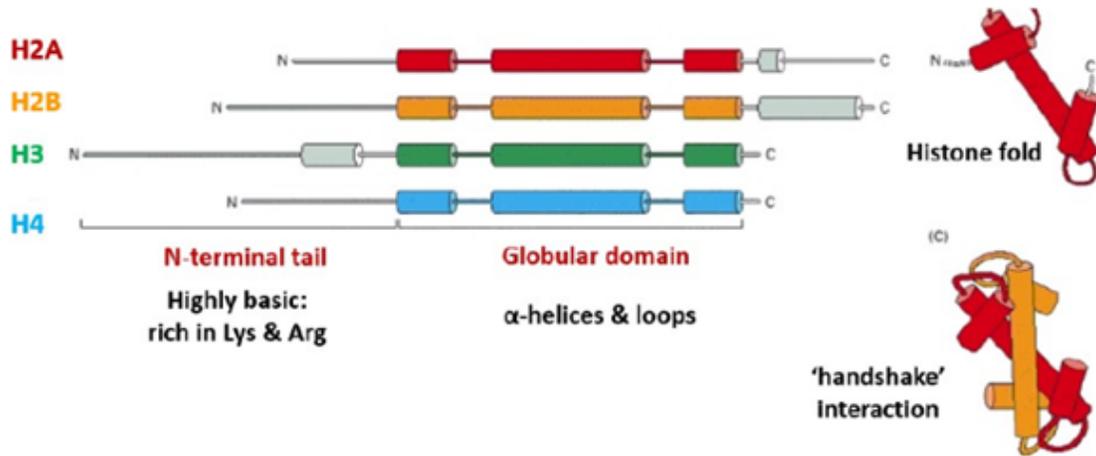


FIGURE 1.4 – représentation Schématique des domaines des histones

méthyle situés sur la lysine 4 ou 9 de l’histone 3 (H3K4me1/2 et H3K9me1/2) [104]. Cette enzyme est hautement conservée dans des organismes allant de *Schizosaccharomyces pombe* pour l’homme [3].

### 1.3.3 Structure de LSD1

La structure protéique de LSD1 est hautement conservée et comprend trois domaines principaux (voir Figure 1.5- B) :

- **Le domaine hélicoïdal  $\alpha$  N-terminal Swi3p / Rsc8p / Moira (SWIRM)** : est différent des autres domaines SWIRM en ce qu’il ne peut pas se lier à l’ADN, mais il participe à des interactions protéine-protéine importantes pour sa fonction.
- **Le domaine de type amine oxydase C-terminale (AO)** : est impliqué dans son activité enzymatique et se compose de deux lobes, qui forment une cavité, où la déméthylation a lieu. Le premier lobe contient le motif de liaison au FAD, qui est hautement conservé parmi toutes les monoamines oxydases. L’oxydation dépendante du FAD utilisée par l’enzyme pour l’élimination des groupes méthyle dépend de la seule paire d’électrons de l’atome de lysine -

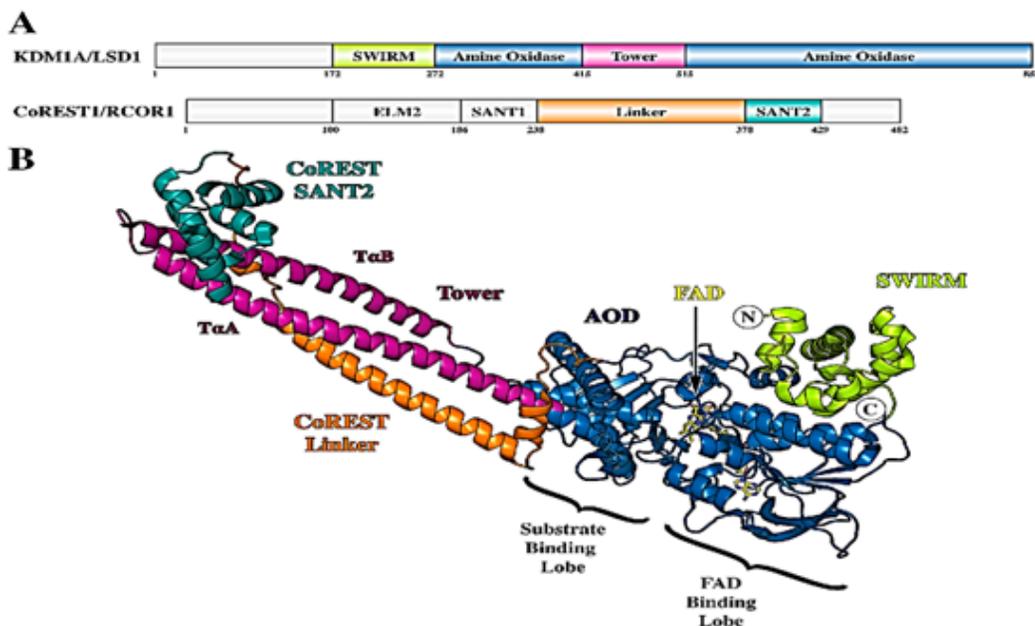


FIGURE 1.5 – Structure de la déméthylase (LSD1) en association avec CoREST [14]

azote empêchant LSD1 de déméthyliser les résidus de lysine triméthylée. Le deuxième lobe forme le sous-domaine de liaison au substrat, qui est plus grand dans LSD1 que dans d'autres amines oxydases, permettant la reconnaissance et l'hébergement de la lysine méthylée cible ainsi que de ses résidus voisins. Dans l'espace, ce second lobe est placé à côté du domaine SWIRM formant une poche de liaison hydrophobe qui permet d'autres interactions avec les substrats et offre une base structurelle pour la conception des inhibiteurs de LSD1 [55].

- **Le domaine central de la tour** : la tour se composait d'une paire de longues hélices qui adopte une conformation de bobine enroulée antiparallèle typique [18].

Le **LSD1a** généralement été trouvé en association avec le complexe répresseur de transcription (CoREST) et les histones désacétylases 1 et 2. Ces protéines forment un module hautement conservé qui s'est avéré faire partie de plusieurs complexes co-répresseurs de mégadalton, qui sont proposés pour fonctionner dans le contexte

d'une forme de répression stable et étendue par inhibition de domaines de chromatine entiers [38]. LSD1 interagit avec CoREST via une région hélicoïdale étendue appelée domaine "Tower", et que le domaine SANT C-terminal (Figure 1.5- A) au sein de CoREST facilite l'association avec la chromatine en interagissant directement avec l'ADN. L'interaction avec CoREST empêche la dégradation du LSD1 et est nécessaire pour la reconnaissance et la déméthylation des substrats nucléosomiques [39].

Le **centre actif de LSD1** :est caractérisé par une remarquable cavité de liaison au substrat de 1245-Å<sup>3</sup> avec un potentiel électrostatique très négatif,qui occupe le centre du domaine AOL à l'interface entre les sous-domaines de liaison au substrat et FAD. La cavité est encadrée par de nombreux éléments structuraux qui entourent le centre catalytique; une feuille  $\beta$  à six brins ( $S\beta 1$  et  $S\beta 6 - S\beta 9$ ) et une longue hélice ( $S\alpha 3$ ) forment respectivement le côté gauche et les surfaces inférieures, tandis qu'une hélice courte à un tour ( $S\alpha 4$ ), une feuille  $\beta$  à deux brins ( $F\beta 5 - F\beta 7$ ), et plusieurs boucles de longueurs variables recouvrent le reste de la cavité. Il existe un contraste marqué dans la nature chimique des différentes zones sur la surface interne de la cavité catalytique (voir Figure 1.6) [19].

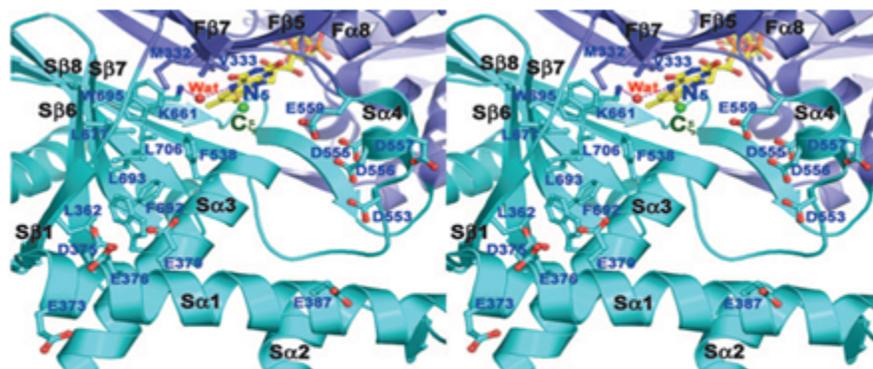


FIGURE 1.6 – Centre catalytique du LSD1. Diagramme en ruban stéréo du centre catalytique du LSD1 [19]

### 1.3.4 Fonction Biologique

**LSD1** est un gène essentiel en biologie des mammifères et de nombreux rôles spécifiques différents ont été signalés. Dans les cultures de cellules souches embryonnaires, il a été signalé qu'il était un acteur clé dans le maintien de la pluripotence grâce au contrôle des niveaux de méthylation H3K4 au niveau des gènes présentant des domaines de chromatine bivalents (c'est à dire, marqués à la fois par H3K4me2 / 3 et H3K27me3) [66].

**LSD1** exerce une fonction de corégulation dépendante du contexte dans la transcription (activation ou répression) en fonction de son association avec des partenaires distincts ou des complexes multiprotéiques. Lorsqu'il est recruté par certains facteurs de transcription, tels que TLX, SNAIL1, CtBP et BRAF35 ou des complexes répressifs (CoREST, RCOR2 ou HOTAIR / PRC2), il déméthyle les marques "actives" H3K4me1 / 2, conduisant à la répression des expressions des gènes [38].

**LSD1** est également impliqué lors de la première émergence de l'hématopoïèse chez les vertébrés, où il contrôle la formation d'hémangioblastes (la cellule progénitrice capable de donner naissance à des progéniteurs hématopoïétiques et endothéliaux) et la génération de cellules souches hématopoïétiques [66].

### 1.3.5 Mécanisme chimique et régulation de l'activité

Le LSD1, catalyse la déméthylation des résidus d'histone lysine H3K4 par clivage de la liaison  $\alpha$ -carboné du substrat pour générer un intermédiaire imine. L'intermédiaire est ensuite hydrolysé via un processus non enzymatique pour produire un carbinolamine, qui est instable et se dégrade, libérant du formaldéhyde et de l'amine. Cette réaction se traduit par un transfert d'hydrure avec réduction du FAD en FADH2 qui est réoxydé par l'oxygène moléculaire, produisant du peroxyde d'hydrogène (Figure 1.7- A). La réaction d'oxydation globale catalysée par LSD1 dépend du cofacteur FAD et conduit à la génération de lysine non modifiée. La formation de l'intermédiaire imine nécessite une lysine protonée, et par conséquent, LSD1 ne peut déméthyle que les résidus de lysine mono- ou diméthylés parce que les résidus de triméthyllysine ne sont pas protonés (Figure 1.7- B).

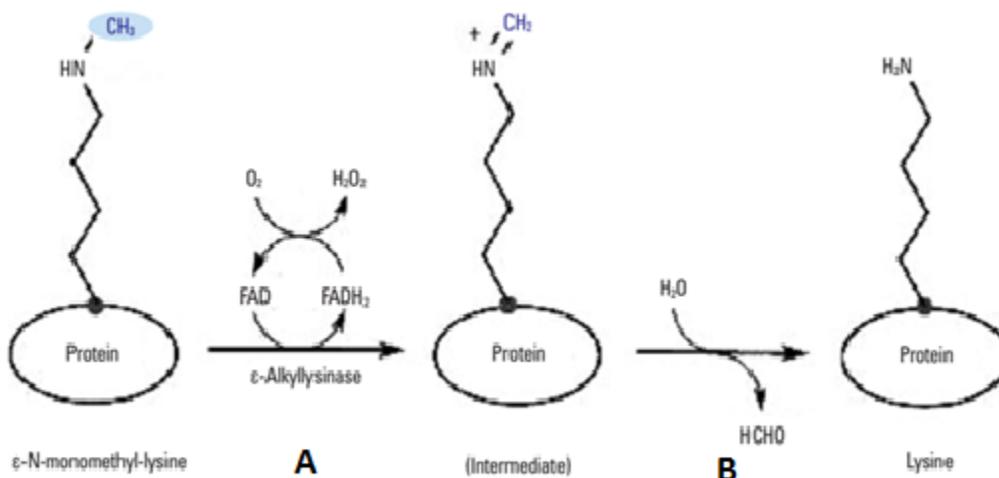


FIGURE 1.7 – Mécanisme catalytique de la déméthylation de H3K4 par LSD1 [77]

Le LSD1 recombinant déméthyle spécifiquement H3K4me1 et H3K4me2 mais agit mal sur les histones nucléosomiques [3].

### 1.3.6 LSD1 et le cancer

LSD1 fait partie de plusieurs complexes de chromatine, dont certains pourraient potentiellement jouer un rôle dans le remodelage des nucléosomes, ce qui pourrait réguler les gènes critique pour la différenciation des cellules souches et le développement du cancer [46, 47]. L'inactivation du LSD1 inhibe spécifiquement la progression tumorale et les métastases [15]. Pour ce la , le LSD1 a été proposé comme cible médicamenteuse dans le cancer pour un grand nombre d'observations faisant état de niveaux d'expression élevés dans le mauvais pronostic du cancer de la prostate, du poumon, du cerveau et du sein, ainsi que dans certaines tumeurs malignes hématologiques. En conséquence, différents inhibiteurs de LSD1 font actuellement l'objet d'études cliniques Il est plausible que le LSD1, par interaction avec différents facteurs, puisse exercer des mécanismes moléculaires distincts dans divers types de tumeurs [67].

### 1.3.7 Inhibiteurs de LSD1

Les composés qui inhibent l'activité catalytique du LSD1 sont importants comme outils chimiques pour étudier les fonctions du LSD1 et comme agents thérapeutiques potentiels ciblant le LSD1 [52]. Ces composés peuvent être divisés en deux sections, comme suit :

#### 1.3.7.1 Inhibiteurs irréversibles

Les premiers inhibiteurs testés contre LSD1 étaient des IMAO irréversibles, sélectionnés en fonction de l'homologie du domaine catalytique de LSD1 avec celui des monoamines oxydases (MAO, dont il existe deux, MAO-A et MAO-B) [54] sont la tranylcypromine, la pargyline et la phénelzine, se sont d'abord révélés capables d'inactiver faiblement le LSD1 [42]

- **La tranylcypromine (abrégée en TCP ou 2-PCPA)** est l'un des inhibiteurs de LSD1 les mieux étudiés et a énormément contribué à la compréhension de la biologie du LSD1. Le PCPA inhibe le LSD1 de manière irréversible en formant un adduit PCPA-FAD par une réaction enzymatique avec le LSD1. Cependant, le PCPA présente certains inconvénients, notamment une puissance inhibitrice insuffisante et une sélectivité inadéquate pour le LSD1, car il a été initialement trouvé comme inhibiteur des monoamines oxydases (MAO), qui sont également des enzymes dépendantes du FAD. À cette fin, de nombreux dérivés de la PCPA ont été développés pour surmonter ces inconvénients [52]. Sur la base des caractéristiques structurales des structures de cristaux cristallins LSD1, un grand nombre d'inhibiteurs irréversibles à base de TCP LSD1 ont été découverts. Parmi ces inhibiteurs, trois inhibiteurs irréversibles de LSD1 : RG6016 (également connus sous les noms ORY-1001 et RO7051790), GSK-2879552, IMG-7289, CC-90011 et INCB059872 [15].
- **Pargyline** qui forme un adduit covalent avec le FAD, était efficace dans les modèles de culture cellulaire et de xénogreffes tumorales, seul ou lorsqu'il était utilisé dans des thérapies combinées. Cependant, la pargyline a montré une faible puissance pour inhiber le LSD1 in vitro et in vivo, ce qui suggère que certains

événements de régulation de la transcription ou de la chromatine pourraient être sensibles à une inhibition incomplète du LSD1, ou les effets cellulaires de la pargyline peuvent résulter d'interactions hors cible [54].

- **Phénelzine** : un nouvel analogue de la phénelzine (bizine) contenant un appendice phényl-butyrylamide s'est révélé être un inhibiteur puissant du LSD1 in vitro et était sélectif par rapport aux monoamines oxydases A / B et à l'homologue du LSD1, LSD2 [83].

Les inhibiteurs cités précédemment sont présentés dans la Figure 1.8.

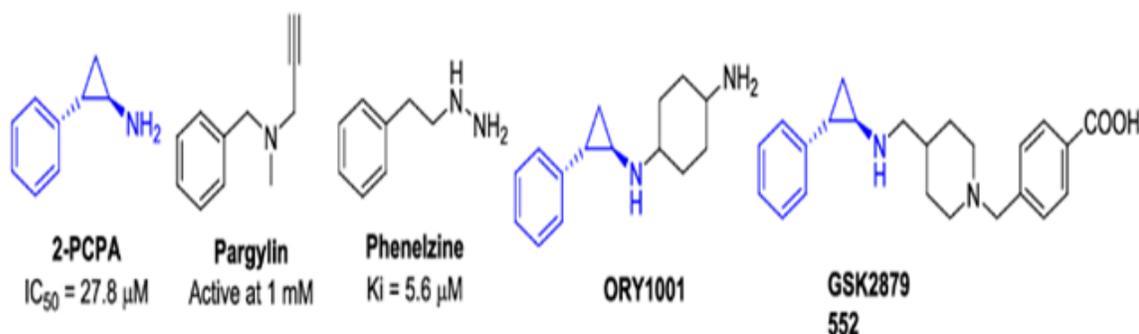


FIGURE 1.8 – Structures chimiques des inhibiteurs irréversibles du LSD1 [99]

### 1.3.7.2 Inhibiteurs réversibles

Il y a deux types d'inhibiteurs réversibles naturels et non naturels.

#### □ Inhibiteurs naturels :

Les produits naturels (NP) sont depuis longtemps reconnus comme de riches sources d'identification de nouveaux agents thérapeutiques. Il a été rapporté que certains NPs étaient capables d'inhiber le LSD1 tel que (voir Figure 1.9) :

- **Namoline** : est le premier inhibiteur naturel de LSD1 identifié par Willman et al. Il inhibe le LSD1 de manière réversible ( $IC_{50} = 51 \mu\text{M}$ ), H3K4me1

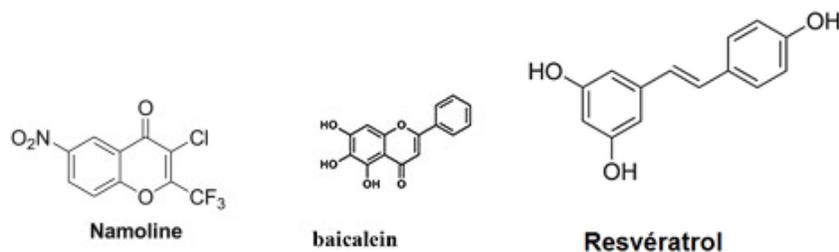


FIGURE 1.9 – Inhibiteurs naturels de l’histone déméthylase 1 spécifique de la lysine

/ 2, fortement déméthylé, a altéré la prolifération induite par les récepteurs aux androgènes (AR) et la croissance tumorale portant des cellules d’adénocarcinome de la prostate humaine sensibles aux androgènes (cellules LNCaP). Cependant, il convient de noter que la Namoline a causé certains effets secondaires tels que la perte de poids et la toxicité hépatique, et les analogues de la Namoline n’ont pas montré de relations structure-activité (SAR) claires, probablement en raison de sa faible plage de puissance [42].

- **Resvératrol** : En 2013, Abdulla et al. rapporté que le resvératrol inhibait de manière dose-dépendante l’activité enzymatique du LSD1 ( $IC_{50} = 15 \mu\text{mol} / \text{L}$ ) et inhibait également le processus de déméthylation de H3K4me2. L’activité inhibitrice du resvératrol contre le LSD1 était indépendante de ses propriétés antioxydantes et était spécifique [35].
- **Baicaline** : été caractérisée comme un inhibiteur du LSD1 avec une  $IC_{50}$  de  $3,01 \mu\text{M}$  et a montré un fort effet inhibiteur du LSD1 dans les cellules. La baicaline peut servir de modèle pour la conception d’inhibiteurs de LSD1 à base de flavones [105].

□ **Inhibiteurs non naturels :**

Avec le développement du dépistage assisté par ordinateur, plusieurs inhibiteurs sélectifs et nouveaux du LSD1 été signalés [102]. Parmi ces composés le 1, 2,3-triazole-dithiocarbamate (Figure 1.10- Composé 3) en combinant les fragments de triazole et de dithiocarbamate biologiquement importants, qui présentaient

une inhibition réversible et compétitive du FAD LSD1. Ce composé est le plus

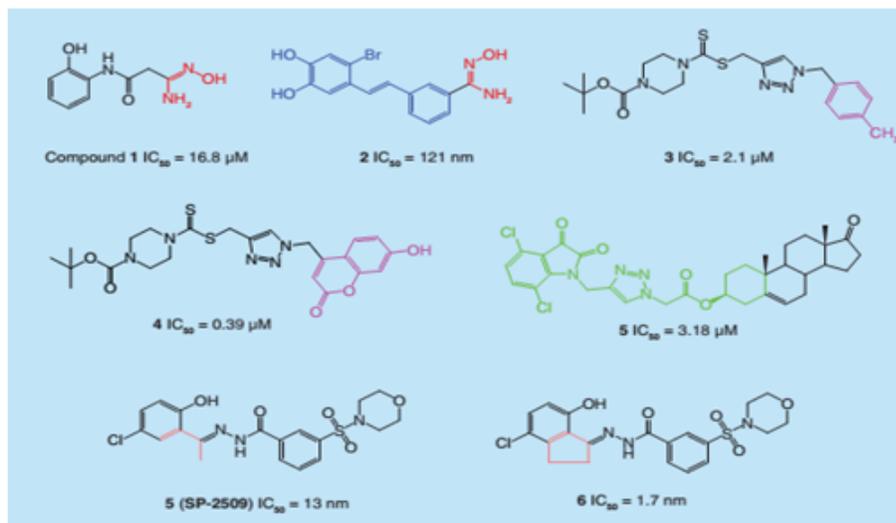


FIGURE 1.10 – Structures de quelques inhibiteurs réversibles de la déméthylase spécifique lysine

puissant inhibe le LSD1 avec une valeur  $IC_{50}$  de  $2,1 \mu\text{M}$  ( $K_d = 0,35 \mu\text{M}$ ) et présente une sélectivité élevée en LSD1 par rapport aux MAO ( $MAO IC_{50} > 1250 \mu\text{M}$ , indice de sélectivité  $> 600$ ). Sur la base de l'échafaudage 1, 2, 3-triazole-dithiocarbamate, nous avons ensuite introduit la portion de coumarine bioactive (précédemment identifiée comme des parties très fortes par rapport aux MAO) au lieu du cycle vinyle du composé 3, générant une série de nouveaux hybrides, qui ont montré une capacité considérablement améliorée par rapport au LSD1 et haute sélectivité. Ainsi que d'autres composés (exemples présentés dans la Figure 1.10) [42].

## Chapitre 2

# Méthodes de Criblage Virtuel in Silico

### 2.1 Introduction

Le développement d'un nouveau médicament est un processus long et coûteux, allant de l'identification d'une cible biologique d'intérêt thérapeutique jusqu'au patient, dans lequel les essais cliniques succèdent au développement préclinique [40]. Avant la commercialisation de tout médicament, des tests *in vitro* sont réalisés sur une catégorie de cibles particulières pour évaluer sa toxicité et ses éventuels effets biologiques. Le coût des tests *in vitro* reste cependant très élevé en particulier lors du criblage à haut débit où l'on test expérimentalement plusieurs milliers de molécules. C'est à cette étape qu'il faut intervenir afin de diminuer les coûts en écartant au préalable les molécules inactives sur la cible en question. En effet, les outils chimio-informatiques interviennent dans la phase préclinique et permettent l'élimination de molécules susceptibles d'être rejetées en phase clinique à cause de leur toxicité ou de leur non sélectivité [70]. Le criblage virtuel, peut schématiquement être assimilé à un entonnoir (voir Figure 2.1) 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

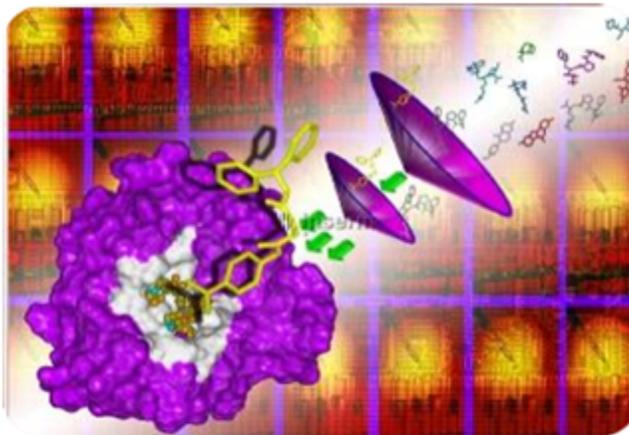


FIGURE 2.1 – Criblage virtuel in Silico [36]

dizaines à quelques milliers) de composés qui seront ensuite testés expérimentalement. Le rôle des méthodes de criblage est donc d'éliminer les composés supposés inactifs ou les molécules indésirables tout en mettant en priorité les composés les plus susceptibles d'être actifs [40].

## 2.2 Classification de Méthodes de criblage virtuel in Silico

Deux grandes familles de méthodes de criblages sont distinguées (voir la Figure 2.2) et le choix de leur utilisation est basé sur la disponibilité des données au démarrage du projet [80].

### 2.2.1 Méthodes basées sur les ligands (“Ligand-based”)

Les méthodes de criblage “ligand-based” reposent sur la connaissance préalable de ligands ayant une activité sur la cible thérapeutique. Il sera ainsi possible d'utiliser ces ligands comme une première base de “hits” afin d'identifier d'autres composés similaires, présentant des caractéristiques d'activité communs aux ligands connus de



FIGURE 2.2 – Classification de méthodes de criblage virtuel

la cible. Différents types de descripteurs moléculaires pourront être calculés pour quantifier la similitude entre composés. Suivant le nombre de ligands connus de la cible thérapeutique, plusieurs méthodes peuvent être employées : la recherche de similarité, le criblage de pharmacophores, ou les approches QSAR [33].

### 2.2.2 Méthodes basées sur la structure (“Structure-based”)

Ce criblage dépend essentiellement de la disponibilité de la structure 3D de la cible biologique qui est obtenue, soit par méthodes expérimentales (RX et RMN) dans des bases de données (tel que PDB : Protein Database), soit par des méthodes de prédiction de la structure 3D par homologie de séquence [23]. Ce criblage évalue la capacité des ligands à établir des interactions avec le site de liaison étudié pour sélectionner les molécules capables de se lier à la cible.

Différentes approches peuvent être employées pour réaliser ce criblage [27] : la construction de modèles pharmacophoriques 3D, l’établissement de modèles 3D-QSAR), la conception de novo “de novo design” et les méthodes de docking moléculaire qui sont les plus populaires.

Dans ce travail, nous sommes intéressés uniquement aux techniques de criblage virtuel “structure-based”.

## 2.3 Docking Moléculaire

Les interactions protéine-protéine et protéine-ligand jouent un rôle clé dans l'organisation des systèmes biologiques. Elles permettent la régulation de certains processus biologiques, la transmission des signaux ou encore la catalyse de diverses réactions biochimiques [90]. Les détails de ces interactions au niveau moléculaire, sont donc d'un très grand intérêt et peuvent être étudiés par cristallographie aux rayons X ou résonance magnétique nucléaire (RMN). Malheureusement, ces techniques ne permettent pas de détailler la totalité de ces interactions étant donné le nombre incalculable de molécules différentes au sein d'une seule cellule. Le Docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées (Figure 2.3), ce qui est considérablement plus facile à mettre en oeuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales. Donc il permet soit de découvrir de nouvelles molécules (par assemblage de deux ou plusieurs molécules), soit de comprendre la nature d'un complexe de molécules obtenu par cristallographie [7].

### 2.3.1 Récepteur

Le récepteur est une macromolécule dont la structure tridimensionnelle présente un domaine particulier, complémentaire de la structure du médicament (serrure et clé). Dans l'organisme, le médicament interagit préférentiellement avec un récepteur, et de cette interaction découlent ses effets pharmacologiques. Deux aspects essentiels dans l'interaction médicament-récepteur [92] :

- Le récepteur “lie” le médicament plus ou moins sélectivement.
- La liaison récepteur-médicament est l'évènement initial qui conduit à la réponse pharmacologique.

### 2.3.2 Ligand

Un ligand est une molécule chimique, qui pourrait être composée d'un ou de plusieurs fragments (groupements). Ils peuvent être [84, 96] :

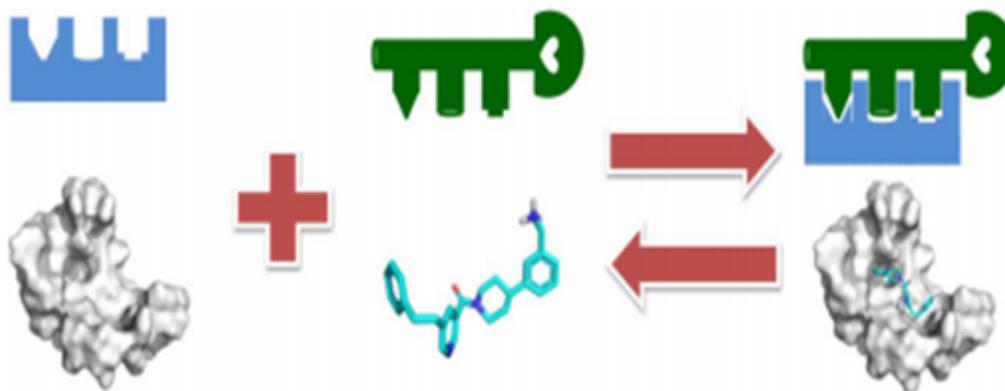


FIGURE 2.3 – Modèle clé-serrure pour modéliser la formation d'un complexe RL à partir d'un ligand L et d'un récepteur R

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

### 2.3.3 Interactions Protéine-Ligand

Au niveau du site actif, le processus d'interaction se fait par liaison complémentaire du ligand avec l'architecture protéique. Les forces intervenant dans la formation du complexe peuvent être de nature stérique, électronique ou les deux avec des contributions différentes. Les états conformationnels choisis lors de l'interaction ne sont pas nécessairement ceux de plus basse énergie en solution, mais des états transitoires stabilisés par celle-ci. Les complexes formés sont alors plus stables que les formes

dissociées. Cette association intermoléculaire est stabilisée par plusieurs effets et des liaisons non covalentes. Au niveau du processus biochimique, elles s'expriment par différentes interactions : de Van Der Waals, des ponts hydrogène, électrostatiques, et hydrophobiques [9] :

- **Interactions de Van Der Waals** : Elles résultent de l'attraction entre des dipôles transitoires générés par le mouvement rapide des électrons au niveau de toutes les atomes neutres (voir la Figure 2.4). Elles sont significativement plus faible que les liaisons hydrogène mais potentiellement extrêmement nombreuses. Elles décroissent comme la puissance six de la distance entre les atomes. Elles agissent donc à très faible distance, en général de l'ordre de 2 à 4Å [12].

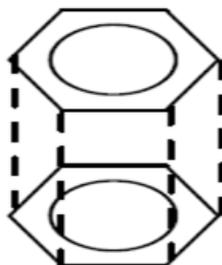


FIGURE 2.4 – Interactions de Van Der Walls

Elles sont nombreuses et contribuent essentiellement dans la recherche de la concordance stérique entre le ligand et la protéine réceptrice [89].

- **Liaison Hydrogène** : Les liaisons hydrogène sont le résultat des interactions électrostatiques (70%) et de van der Waals (30%) [65]. Cette liaison, intervient lorsqu'un atome d'hydrogène lié par covalence à un atome électronégatif (le donneur D) est attiré par un autre atome électronégatif (l'accepteur A) (voir Figure 2.5). Le nuage électronique de l'hydrogène est attiré par l'atome donneur qui est relativement plus électronégatif que l'atome d'hydrogène créant ainsi une charge partielle positive sur l'hydrogène. Cette charge positive est attirée par la charge partielle négative portée par l'atome accepteur donnant ainsi naissance à une interaction désignée par pont hydrogène, sa force est de l'ordre



FIGURE 2.5 – Interaction Hydrogène

de 2 à 4 kcal/mol [91]. Elle agit, à très courte distance (0,8 à 2,8 Å). Les liaisons hydrogène sont peu nombreuses et s'adaptent très bien à la flexibilité (l'angle peut varier de 120 à 180).

- **Interactions Electrostatiques** : Les interactions électrostatiques agissent à plus grande distance entre dipôles chargés (Figure 2.6). La distance pour une liaison saline, par exemple, est de 3,7 à 4,5 Å, et sa force est de l'ordre de 8 Kcal/mol. En présence de solvant, ces interactions sont favorisées du fait de la polarité et de la petite taille de la molécule d'eau [56].

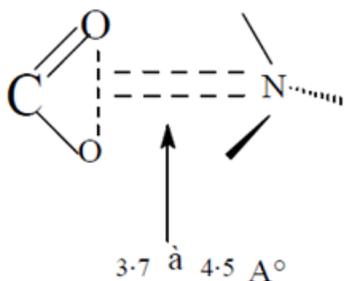


FIGURE 2.6 – Interactions Electrostatiques

- **Interactions Hydrophobes** :

Les molécules qui n'ont pas de groupes chargés ou d'atomes capables de former des liaisons hydrogène (Figure 2.7) sont nommées "Molécules Hydrophobes". L'effet hydrophobe représente la tendance de ses groupes de se rassembler par coalescence, de tel sorte ont minimise les contacts avec l'eau [56].

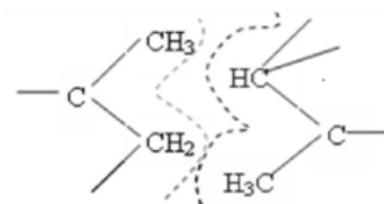


FIGURE 2.7 – Interaction Hydrophobe

### 2.3.4 Principe théorique du Docking

Docking (amarrage moléculaire) est un nom donné aux simulations moléculaires dans les quelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de docking) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand). Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme docking seul est couramment employé pour désigner un "docking protéine-ligand" [100]. Le docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur [30].

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires qui sont respectivement le Docking et le Scoring [50] (voir Figure 2.8) :

1. Le Docking : est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
2. Le Scoring : est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le Ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées.

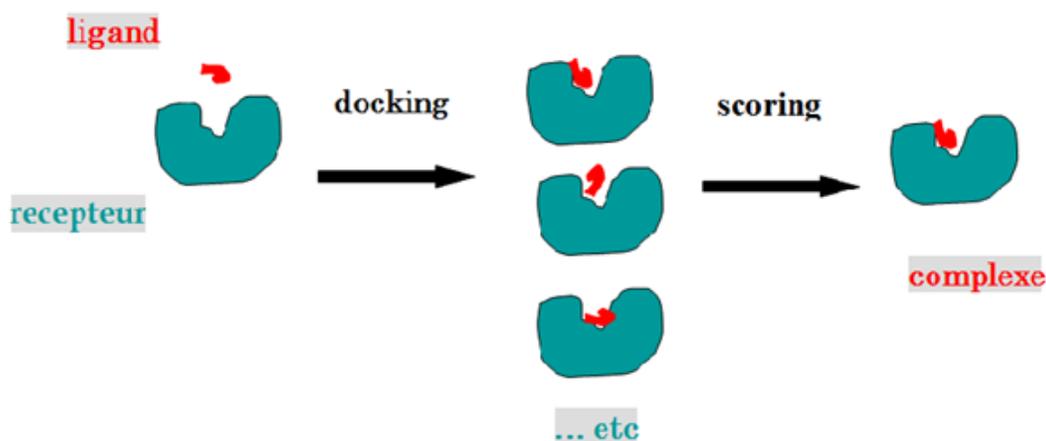


FIGURE 2.8 – Principe général d'un programme de Docking

### 2.3.5 Différents types de docking moléculaire

Il existe deux grands types de docking moléculaire. Le docking rigide consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéine-ligand en considérant que chacune des deux molécules conserve une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité, en interaction dans le complexe, n'est pas prise en compte. Cependant, il est tout à fait concevable que les structures de la protéine et du ligand soient modifiées durant le processus de docking moléculaire afin d'optimiser au mieux l'interaction entre les deux entités. On parle, dans ce cas, de docking flexible [91].

### 2.3.6 Processus de scoring

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. L'équation suivante illustre le principe thermodynamique [4] :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{proteine}}$$

Concrètement, le score est une estimation de l'affinité entre la macromolécule et la petite molécule organique. Un score ne prédit donc en rien une activité mais bien une affinité.

### 2.3.7 Familles de fonction de score

Dans les programmes de docking, on trouve différents type de fonction de score : Celles utilisant un champ de force de mécanique moléculaire, celles reposant sur les connaissances statistiques et les méthodes empiriques.

- Les fonctions basées sur un champ de force : Le score est calculé en faisant la somme de l'énergie d'interaction protéine-ligand et de l'énergie interne du ligand.
- Les fonctions basées sur des connaissances statistiques : Ces fonctions sont construites à partir de règles fondées sur l'analyse des structures tridimensionnelles de complexes ligand-protéine déterminés de manière expérimentale [53].
- Les fonctions empiriques : Ces fonctions de score se basent sur un décompte du nombre d'interactions dans le système protéine-ligand comme par exemple le nombre de liaison hydrogène, les contacts hydrophobes, les contacts hydrophiles, les contraintes de torsion dues à la formation du complexe protéine-ligand, etc [20]. La plupart des programmes de docking implémentent ce type de fonction de score témoignant de leur efficacité en termes de rapport précision/rapidité [53].

### 2.3.8 Protocole général de docking

Les approches utilisées actuellement sont exclusivement calculatoires et évaluées par des outils de visualisation. Ces approches peuvent être décomposées en quatre à cinq phases successives (Figure 2.9) :

- Choix du mode de représentation des protéines (tout atome, pseudo-atome, grille, etc.),

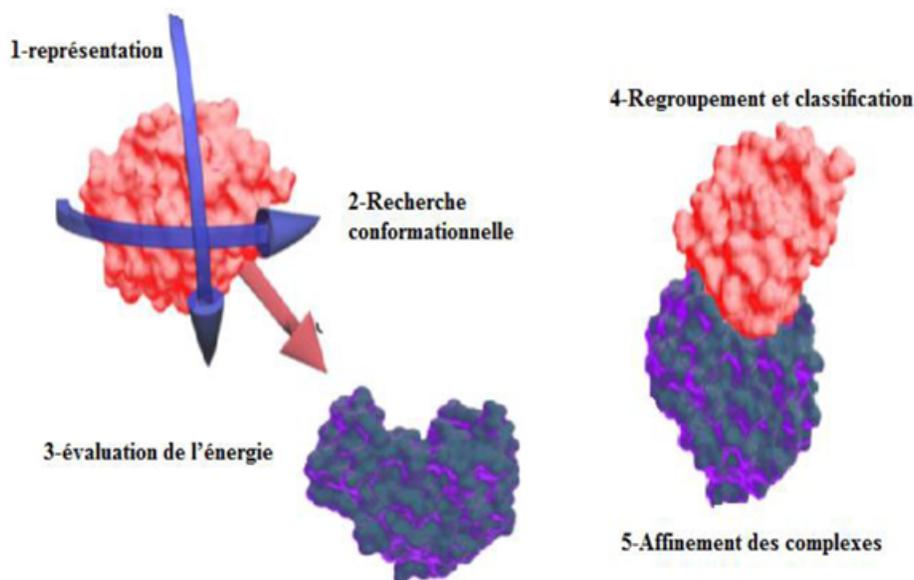


FIGURE 2.9 – Protocole Général de Docking

- Exploration conformationnelle (corps-rigide position/orientation du ligand et/ou flexible position/orientation/forme du ligand),
- Minimisation de la fonction d'évaluation de l'énergie d'interaction (ou fonction de score) des conformations issues de l'exploration,
- Regroupement par ressemblances et classification par évaluation plus fine du score, accompagnée d'une étape non automatique d'évaluation visuelle des résultats lorsque le score ne permet pas de discriminer la conformation native des différentes conformations générées.
- Une étape optionnelle d'affinement des complexes sélectionnés par minimisation ou dynamique moléculaire. Un algorithme de recherche pour explorer les possibilités de modes de liaison, un mécanisme pour placer le ligand dans le site de liaison et une fonction de score pour classer les différents modes de liaison [101].

## 2.4 Paramètres “Drug-Like”

Les applications du concept de druglikennes, est largement utilisée pour filtrer les composés peu susceptibles d’être des médicaments

Les composés de type médicamenteux sont définis comme ceux qui ont des propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques appropriées pour devenir un médicament.

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, Ghose.

Pour prédire le meilleur équilibre des propriétés moléculaires, nous appliquons des règles de base. Les plus couramment utilisés sont les règles de Lipinski et Veber et ghose [63, 13].

### 2.4.1 Règle de Lipinski

Les conditions empiriques pour satisfaire la règle de Lipinski et manifester une bonne biodisponibilité orale impliquent un équilibre entre la solubilité aqueuse d’un composé et sa capacité à diffuser passivement à travers les différentes barrières biologiques [95]. Cette règle est la plus utilisée pour l’identification des composés “drug-like”. D’après cette règle, les composés ne validant pas au moins deux des critères suivants ont de très fortes chances d’avoir des problèmes d’absorption ou de perméabilité par voie orale [72] :

- masse moléculaire  $\leq 500$  Da
- $\log P \leq 5$
- accepteurs de liaisons H  $\leq 10$
- donneurs de liaisons H  $\leq 5$

### 2.4.2 Règle de Veber

Il est bien connu qu’une biodisponibilité orale élevée est un facteur important pour le développement de molécules bioactives en tant que agents thérapeutiques. La réduction de la flexibilité moléculaire (mesurée par le nombre de liaisons rotatives) et la faible surface polaire sont des prédicateurs importants de la bonne biodisponibilité orale [93].

Pour une biodisponibilité orale idéale, il existe deux autres descripteurs identifiés par Veber et al. [13] :

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

### 2.4.3 Règle de Ghose

Le filtre Ghose est un filtre semblable à un médicament décrit dans Ghose, AK; Viswanadhan, VN. Juges Wendoloski : Une approche basée sur les connaissances dans la conception de bibliothèques de chimie combinatoire ou médicinale pour la découverte de médicaments [44] : Ghose a suggéré une plage de qualification et quantification qui pourrait être utilisée dans le développement de bibliothèques chimiques de Drug Like et a recommandé les contraintes suivantes [44] :

- Une caractérisation quantitative basée sur des profils de propriétés physico-chimiques calculés tels que :
  - Poids moléculaire entre 160 et 480
  - Log P calculé entre -0,4 et 5,6
  - Réfractivité molaire entre 40 et 130
  - Nombre total d’atomes entre 20 et 70
- Ainsi qu’une caractérisation qualitative basée sur l’occurrence de groupes fonctionnels et de sous-structures importantes.

## 2.5 Propriétés ADME –TOX

La pharmacocinétique est traditionnellement définie comme l'étude du sort des médicaments dans l'organisme, depuis leur absorption jusqu'à leur élimination. Cette discipline permet ainsi de relier les doses de médicaments administrées aux concentrations sanguines observées, et de décrire leur évolution en fonction du temps. (1) L'abréviation ADMET représente les concepts pharmacocinétiques suivants : l'absorption, la distribution, la métabolisation et l'excrétion. Ce sont des critères qui décrivent la disposition d'une molécule bioactive dans un organisme

Les filtres de type ADME-Tox (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination et Toxicité) sont rapidement devenus populaires. Ils reposent sur plusieurs critères déterminant les propriétés pharmacocinétiques potentielles des molécules et sont désormais largement utilisés pour réduire le nombre de composés d'une chimiothèque en sélectionnant les plus adaptés à devenir des candidats médicaments, avant tout processus de criblage. L'utilisation de ces filtres a donné de très bons résultats [31].

### 2.5.1 Absorption

L'absorption correspond au passage à travers les membranes biologiques du médicament de son site d'administration jusqu'à la circulation systémique. Elle dépend des caractères physicochimiques du médicament : hydrophilie, lipophilie et taille de la molécule de principe actif. Avant toute absorption, il est souvent nécessaire que le principe actif soit libéré de la forme galénique : dissolution du comprimé ou de la paroi de la gélule. Plusieurs phénomènes interviennent ensuite dans l'absorption des médicaments. D'une manière schématique, on peut distinguer des phénomènes d'absorption actifs et des phénomènes d'absorption passifs.

### 2.5.2 Distribution

Elle correspond à la diffusion du médicament dans les différents tissus de l'organisme.

### 2.5.3 Métabolisme

Une fois la circulation sanguine atteinte, les médicaments vont se distribuer dans l'organisme. La distribution correspond à la diffusion du médicament dans les différents tissus de l'organisme. Elle est influencée par le degré de lipophilie de principe actif et par son affinité pour les différents tissus (os, tissu adipeux, etc ) Le métabolisme correspond à la transformation du médicament par l'organisme. Les réactions métaboliques s'effectuent principalement avec des enzymes. Pour les médicaments, deux groupes de réactions sont impliqués dans le métabolisme : Les réactions de phase 1 et de phase 2. Les réactions de phase 1 précèdent habituellement celles de phase 2 dans la chronologie du métabolisme d'un médicament.

### 2.5.4 Élimination

L'élimination d'un médicament de l'organisme peut se faire par différentes voies :

- rénale par l'urine ;
- hépatique par la bile ;
- respiratoire dans l'air expiré ;
- cutanée par la sueur ;
- salivaire ;
- dans le lait maternel.

Les principales voies d'élimination sont rénales et hépatiques. Le phénomène de réabsorption du médicament rencontré pour certaines voies d'élimination contribue à diminuer ou à ralentir l'élimination du médicament. Les mécanismes décrits pour l'absorption sont également présents lors de l'élimination (diffusion passive, transport actif et pinocytose).

### 2.5.5 Toxicité

Comme son nom l'indique, ce filtre sert à mesurer la toxicité d'un composé et de ses métabolites. Désormais, la toxicité et le manque d'efficacité des candidats mé-

dicaments sont les deux plus grandes causes d'échecs dans le développement d'un médicament [97]. Différents types de toxicité sont évalués, entre autre : la Toxicité AMES, Inhibiteur hERG I, Toxicité aiguë par voie orale chez le rat (DL50) Hypatoxycité, Sensibilisation cutanée.

# Chapitre 3

## Applications, Résultats et Discussions

### 3.1 Introduction

Les interactions entre molécules sont à la base des mécanismes biologiques. Les détails de ces interactions, au niveau moléculaire sont donc d'un très grand intérêt. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligands) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [29]. Ce chapitre présente les résultats de notre étude pratique des interactions entre les différents inhibiteurs avec L'enzyme (2V1D) par la méthode du docking moléculaire en utilisant le logiciel MOE. Cette étude est basée sur les principaux paramètres suivantes :les score et les distances entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme et ceux d'inhibiteurs et aussi les différents types d'interactions présentes entre certains acides aminés de la protéine étudiée et celle de l'inhibiteur. Nous allons étudier et présenté également dans ce chapitre quelques propriétés des ligands à savoir, propriétés moléculaires des ligands, propriétés Chimie Médicinale, et les propriétés ADME. A la fin, nous allons identifier les deux meilleurs inhibiteurs après une analyse de ces propriétés.

## 3.2 Matériel et outils utilisés

Avant de présenter les détails de notre méthodologie que nous avons suivi afin d'accomplir ce travail, nous présentons dans cette section le matériel et outils sur lesquels nous sommes appuyés pour réaliser ce travail.

### 3.2.1 Micro-ordinateur

Notre travail a été effectué en utilisant deux micro-ordinateurs dont les caractéristiques sont présentées dans le Tableau 3.1

Tableau 3.1 – Caractéristiques des ordinateurs utilisés

Caractéristiques	Ordinateur 1	Ordinateur 2
Mémoire (RAM)	<b>4 GO</b>	<b>2 GO</b>
Processeur	<b>Intel(R) Core(TM) i5-2520 CPU @ 2,50GHz 2,50 GHz</b>	<b>Intel(R) Pentium(R) CPU 2020M @ 2,40GHz 2,40 GHz</b>
Système d'exploitation	<b>Windows 7 Professionnel</b>	<b>Windows 7 Professionnel</b>
Type de système	<b>64 Bits</b>	<b>64 Bits</b>

### 3.2.2 Banques (bases) de données et outils logiciels

- **Protein Data Bank (PDB)** : est la seule archive mondiale de données structurales sur les macromolécules biologiques. Il comprend des données obtenues par cristallographie aux rayons X et résonance magnétique nucléaire (RMN) spectrométrie soumise par des biologistes et biochimistes du monde entier [28]. Figure 3.4 montre l'enzyme utilisé sur le site Web Protein Data Bank.



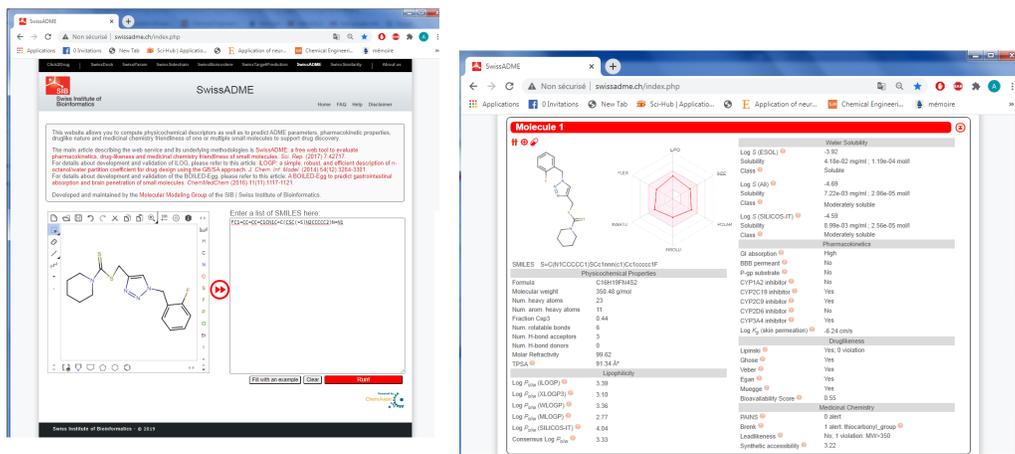


FIGURE 3.2 – Interface Web du logiciel Swiss ADME

- **Molinspiration** : Ce logiciel permet de calculer les propriétés physicochimiques des molécules pour la conception des médicaments et de connaître la relation quantitative structure à activité (QSAR), y compris le  $\log P$ , la superficie topologique de la surface polaire (TPSA), et la règle des 5 descripteurs [17].

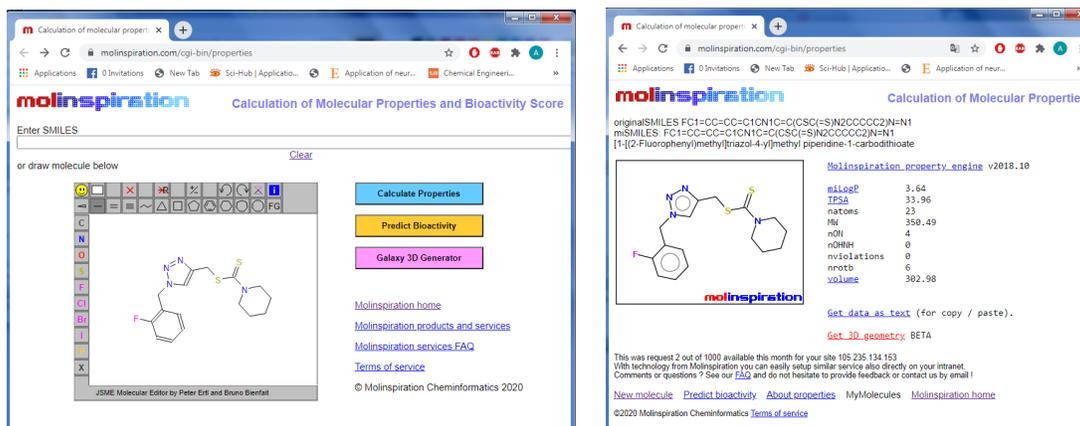


FIGURE 3.3 – Interface Web du logiciel Molinspiration

- **MOE (Molecular Operating Environment)** : Est une plateforme logicielle de découverte de médicaments qui intègre la visualisation, la modélisation,

et les simulations. Le MOE est capable de suivre les idées de conception et les modifications des ligands avec des modèles de propriété, de produire des graphiques de corrélation pour visualiser la structure, la propriété, les relations d'activité et de visualiser la surface des protéines hydrophobes et chargées pour étudier les régions sujettes à l'agrégation [94]. La Figure 3.4 montre l'interface graphique du logiciel MOE.

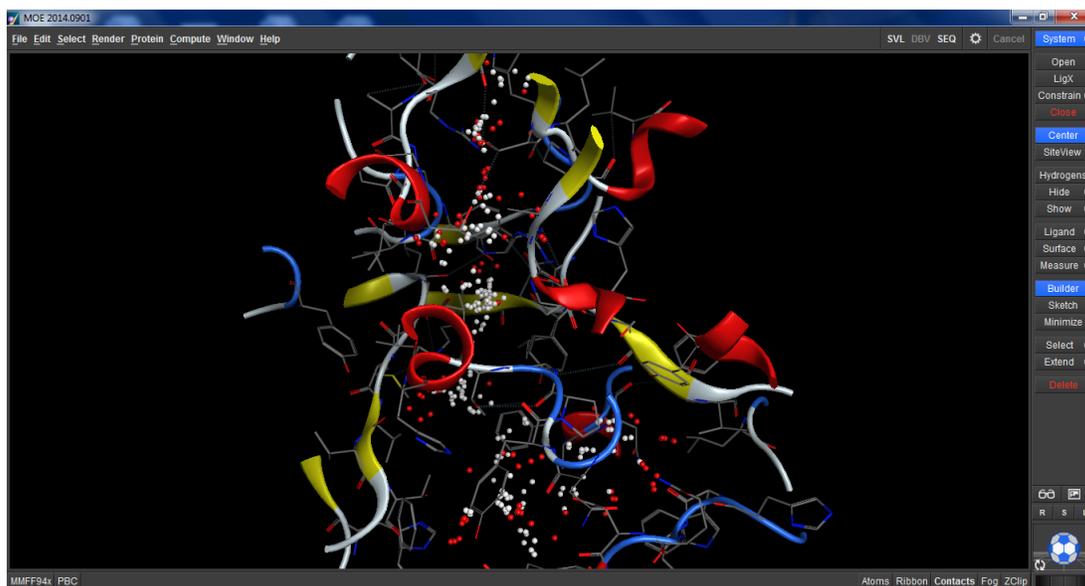


FIGURE 3.4 – Interface du logiciel MOE

### 3.3 Méthodologie du travail

Les étapes qu'on a suivi au cour de notre étude sont schématisées dans la Figure 3.5.

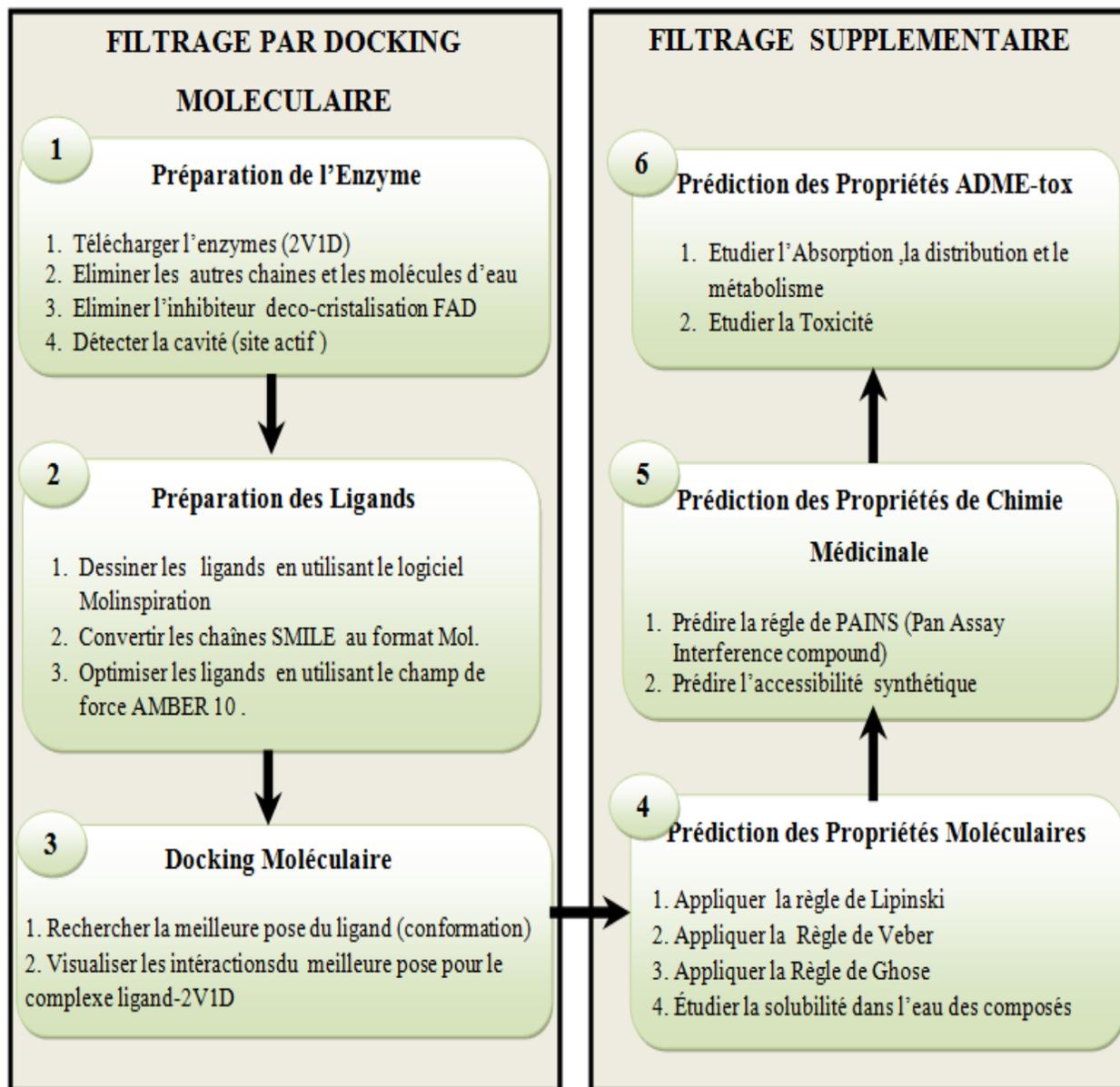


FIGURE 3.5 – Méthodologie du travail

### 3.3.1 Préparation de l'Enzyme

La structure 3D de LSD1, protéine de notre étude (Figure 3.6), a été téléchargée sous le code 2V1D sous format PDB. La structure de 2V1D est correctement définie par diffraction aux rayons X avec une résolution égale à 3.1 Å.

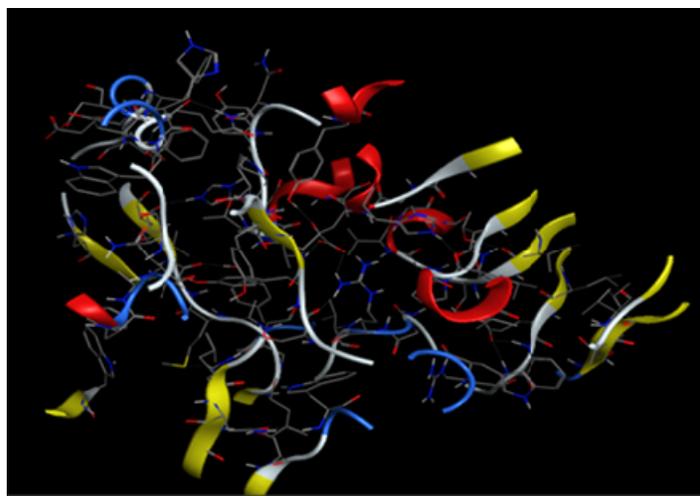


FIGURE 3.6 – Structure 3D de l'enzyme 2V1D simplifié

Lors de la préparation de l'enzyme simplifier, on a éliminé les deux chaînes B et C (L'enzyme étant formée d'une seule chaîne A) ainsi que les molécules d'eau et les cofacteurs, en utilisant la fonction " SEQ " qui fournie par MOE.

Le Tableau 3.2 montre quelques propriétés de la chaîne A de l'enzyme simplifié tel que : le nombre de résidus et le nombres d'atomes.

Tableau 3.2 – Composition atomique de protéine 2V1D

Molécules	Chaines	Résidus	Atomes				
			Total	C	N	O	S
Protéine LSD1	<b>A</b>	<b>666</b>	<b>5217</b>	<b>3324</b>	<b>906</b>	<b>967</b>	<b>20</b>

Dans notre étude, la structure de l'enzyme (2V1D) a été optimisée par la méthode du calcul de mécanique moléculaire avec le champ de force Amber. La valeur de l'énergie optimisée est **E = -58.0575 Kcal/mol**.

### 3.3.2 Détection des cavités

La fonction des enzymes est liée à la présence dans leur structure d'un site particulier appelé le site actif qui a la forme d'une cavité. Les molécules sur lesquelles agit une enzyme sont définies comme les substrats de la réaction enzymatique. Chaque enzyme reconnaît spécifiquement une ou plusieurs molécules de substrat selon un principe de complémentarité, grâce à des sites de reconnaissance et de fixation situés à sa surface. Le site actif est constitué de deux parties [8] :

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

Dans notre étude 22 cavités ont été détectées dans l'enzyme 2VD1 par le logiciel MOE. Nous avons choisi la cavité 1 qui a un volume important  $316 \text{ \AA}^3$  a été prédite ; aussi nous avons trouvé que le ligand de la Co-cristallisation FAD de l'enzyme 2V1D est fixé dans la cavité 1. La cavité sélectionnée (N° 1) pour notre étude est illustrée dans la Figure 3.7. La Figure 3.8 présente la structure chimique de FAD. Le Tableau 3.3 présente les différentes propriétés de la cavité N° 1 qui sont détectés en utilisant la fonction "site finder" qui est fournie par MOE.

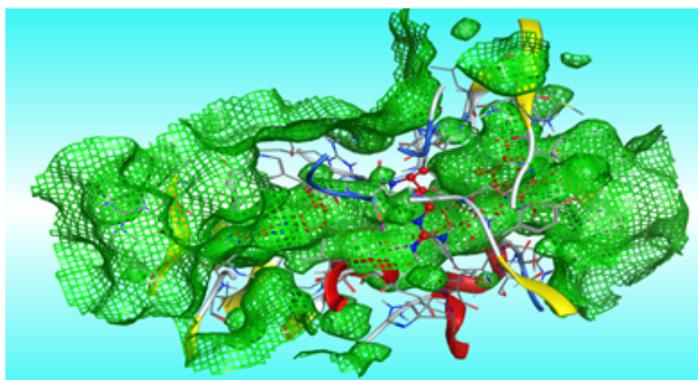


FIGURE 3.7 – Cavité 1 (Pocket) de l'enzyme 2V1D

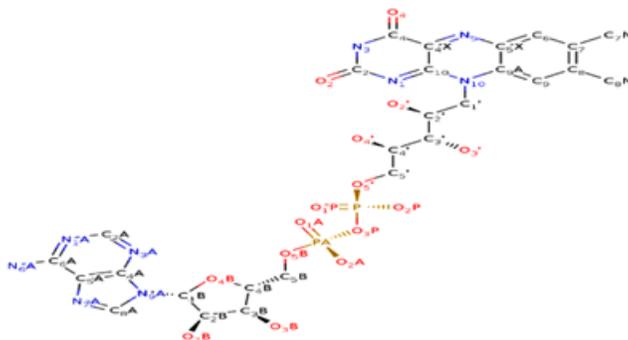


FIGURE 3.8 – Structure chimique de FAD

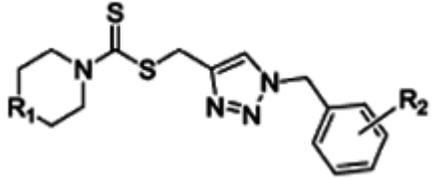
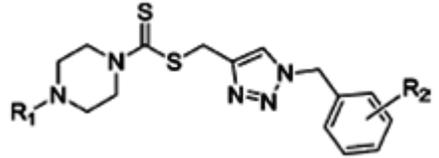
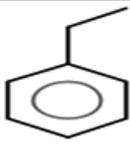
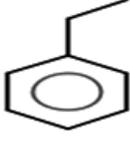
Tableau 3.3 – Propriétés de la première cavité (site actif ) de l'enzyme 2V1D

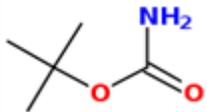
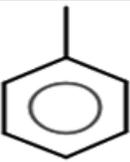
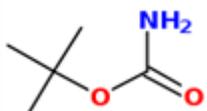
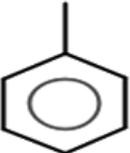
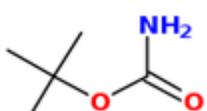
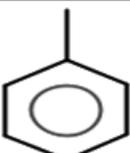
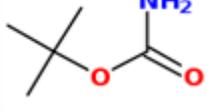
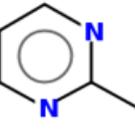
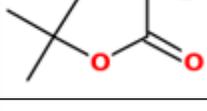
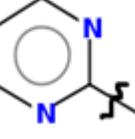
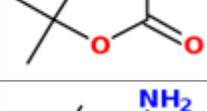
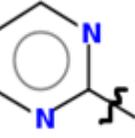
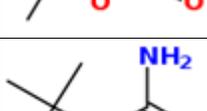
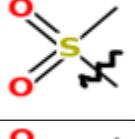
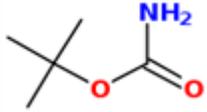
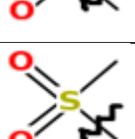
Cavité	Volume	Hyd	Résidus
1	316	93	Ile284 Gly285 Ser286 Gly287 Val 288 Ser 289 Gly290 Leu307 Glu308 Ala309 Arg310 Gly314 Gly315 Arg316 Val317 Leu329 Gly330 Ala331 Met332 Val333 Val334 Thr335 Phe538 Ala539 Asn540 Leu547 His551 Trp552 Asp553 Gln554 Asp555 Asp556 Phe558 Glu559 Phe560 His 564 Tyr571 Thr588 Ala589 Val590 Thr624 Leu625 Pro626 Val629 Val637 Leu659 Asn660 Lys661 Trp695 Ser749 Trp751 Trp756 Ser760 Tyr761 Ser762 Tyr763 Val764 Tyr773

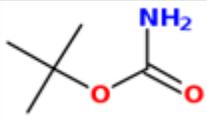
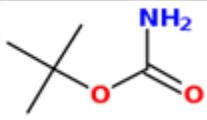
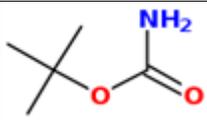
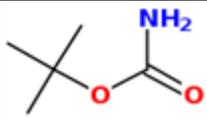
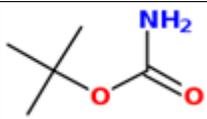
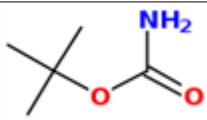
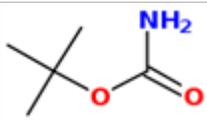
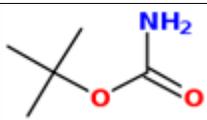
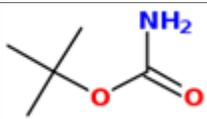
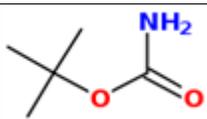
### 3.3.3 Préparation des ligands

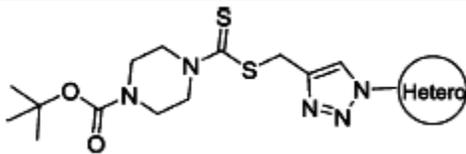
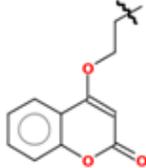
Les ligands qu'on a étudiés sont des dérivés de Triazole-Dithiocarbamate, qui sont considérés comme nouveaux inhibiteurs du LSD1, ces inhibiteurs sont dessinés en utilisant le site Molinspiration. Ensuite, ils sont entraînés dans la fenêtre d'application (logiciel MOE) à partir de leurs chaînes SMILE. L'optimisation de la géométrie des ligands par le logiciel MOE en utilisant le champ de force Amber 10. Elles sont représentées dans le Tableau 3.4.

Tableau 3.4: Structures chimiques des composés ( dérivés de Triazole-Dithiocarbamate)

Structure de base 1			Structure de base 2		
					
Composé	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Composé	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
1	CH <sub>2</sub>	<i>o</i> -F	31	CH <sub>3</sub>	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>
2	CH <sub>2</sub>	<i>p</i> -F	32	CH <sub>3</sub>	<i>p</i> -F
3	CH <sub>2</sub>	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	33	CH <sub>3</sub>	<i>o</i> -Cl
4	CH <sub>2</sub>	H	34		<i>p</i> -CH <sub>3</sub>
5	CH <sub>2</sub>	<i>p</i> -Cl	35		<i>o</i> -F
6	O	H	36		<i>p</i> -CH <sub>3</sub>
7	O	<i>o</i> -F	37		<i>o</i> -F
8	O	<i>p</i> -F	38		<i>p</i> -CH <sub>3</sub>
9	O	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	39		<i>o</i> -F
10	O	<i>p</i> -Cl	40		<i>p</i> -F

11		<i>o</i> -F	41		<i>p</i> - CH <sub>3</sub>
12		<i>p</i> -F	42		<i>o</i> -F
13		<i>o</i> -Cl	43		<i>p</i> -F
14		<i>p</i> -Cl	44		<i>p</i> - CH <sub>3</sub>
15		<i>p</i> - CH <sub>3</sub>	45		<i>o</i> -F
16		<i>p</i> - OCH <sub>3</sub>	46		<i>p</i> -F
17		<i>m</i> - CH <sub>3</sub>	47		<i>p</i> - CH <sub>3</sub>
18		<i>o</i> - CH <sub>3</sub>	48		<i>o</i> -F
19		<i>p</i> - CF <sub>3</sub>	49		<i>p</i> -F

20		<i>o</i> - CF <sub>3</sub>	50	H	<i>o</i> -F
21		<i>o</i> - Br	51	H	<i>p</i> -F
22		<i>p</i> - OH	52	H	<i>o</i> -Cl
23		<i>o</i> - OH	53	H	<i>p</i> -Cl
24		<i>p</i> - NO <sub>2</sub>	54	H	<i>p</i> - CH <sub>3</sub>
25		<i>m</i> - OH	55	H	<i>p</i> - OCH <sub>3</sub>
26		<i>o,p</i> - diOH	56	H	<i>p</i> - CF <sub>3</sub>
27		<i>m,p</i> - diCl	57	H	<i>o,o</i> - diF
28		<i>o,o</i> - diF	58	H	<i>m,p</i> - diCl
29		<i>m,p,m</i> - triOCH <sub>3</sub>	59	H	<i>m,p,m</i> - triOCH <sub>3</sub>
30	CH <sub>3</sub>	<i>o</i> -F			

Structure de base 3	
	
Composé	Hétérocycle
60	

### 3.3.4 Simulation du Docking moléculaire

L'étude de l'interaction entre le site actif de la protéine 2V1D et les ligands pour former un complexe stable est réalisée à l'aide du logiciel MOE, une fois que le complexe ligand-récepteur est formé, celui-ci va adapter la conformation la plus stable, c'est à dire le niveau énergétique le plus faible. Le processus de docking comprend deux étapes fondamentales : la prévision de la conformation du ligand ainsi que sa position et son orientation au sein de ces sites (généralement appelés pose) et l'évaluation de l'affinité de liaison [69].

### 3.3.5 Prédiction des propriétés moléculaires des ligands

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

### 3.3.6 Prédiction de Score de biodisponibilité, Solubilité dans l'eau et des propriétés Chimie Médicinale

Parmi les propriétés proposées pour cette étude : **Score de biodisponibilité, La solubilité, propriétés de PAINS et Accessibilité synthétique**, les résultats ont été obtenus par l'utilisation de site web SwissADME : (<http://www.swissadme.ch>).

- **Biodisponibilité (paramètre F)** : est le paramètre pharmacocinétique qui permet de quantifier la phase d'absorption et représente la fraction de la dose qui parvient à la circulation générale et la vitesse à laquelle elle l'atteint.
- **Solubilité dans l'eau** : La solubilité est la propriété d'une substance chimique solide, liquide ou gazeuse appelée soluté et se dissout dans un solvant. La solubilité est l'un des paramètres importants pour atteindre la concentration souhaitée de médicament dans la circulation systémique pour obtenir la réponse pharmacologique requise, la mauvaise solubilité et la faible vitesse de dissolution des médicaments peu solubles dans l'eau dans les liquides gastro-intestinaux aqueux entraînent souvent une biodisponibilité insuffisante [86]. Une estimation qualitative de la classe de solubilité est donnée dans Swiss-ADME. Selon l'échelle log S suivante : insoluble <- 10 <médiocrement <- 6 <modérément <- 4 <soluble <- 2 <très <0 <fortement.
- **PAINS (Pan Assay INterference compound)** : L'utilisation d'alertes d'infrastructure pour sélectionner le composé Pan-Assay Interference (PAINS) est devenue une composante populaire du processus de dépistage dans les campagnes de dépistage biologique [16]. De nombreux composés d'interférence de dosage pan (PAINS) ont été proposés pour provoquer des lectures de dosage faussement positives. Ils sont utilisés comme filtres de calcul pour détecter les composés présentant des risques chimiques potentiels (Baell et Holloway Identifié ces composés de criblage problématiques) [45]. Ces composés ont une tendance de réagir de manière non spécifique avec de nombreuses cibles biologiques plutôt que d'affecter spécifiquement une cible souhaitée. Un certain nombre de groupes fonctionnels perturbateurs sont partagés par de nombreuses PAINS.
- **Accessibilité synthétique** : La prochaine étape de la découverte de médicaments après la découverte et le développement de médicaments assistés par ordinateur (CADD) est le test clinique. Pour de nouveaux essais cliniques, les ligands les mieux conçus de l'approche in silico doivent d'abord être synthétisés pour déterminer leur bioactivité in vitro et in vivo. Pour cette raison, Une prédiction synthétique de l'accessibilité est nécessaire pour évaluer si les pistes

de médicaments les mieux conçues sont faciles à synthétiser dans l'expérience de laboratoire ou non. Les bases de cette méthode de prédiction sont le dépistage et l'analyse informationnelle de la contribution de fragments particuliers et de la complexité des structures dérivées d'une base de données contenant des millions de composés déjà synthétisés. Ainsi, à partir de cette méthode, l'accessibilité synthétique des composés pourrait être estimée à partir d'une approche de synthèse de novo [32].

### 3.3.7 Prédiction des propriétés ADME-tox

La structure chimique du composé a été soumise sous la forme d'un système d'entrée de ligne d'entrée moléculaire simplifié canonique (SMILE), pour estimer plusieurs paramètres pharmacocinétiques *in silico* à l'aide de l'outil Swiss ADME, le profil pharmacocinétique du composé a été évalué. Absorption gastro-intestinale, pénétration de la barrière hémato-encéphalique, perméation cutanée, associabilité synthétique et prédiction de ressemblance aux médicaments comme Lipinski et règles Veber interaction des molécules avec les cytochromes P450 (CYP) et score de biodisponibilité [6].

#### A) Absorption et distribution

Pour évaluer l'absorption et la distribution des composés étudiés, nous avons utilisé les deux paramètres suivants :

- **Coefficient de perméabilité cutanée (Kp)** : est adapté de Potts et Guy [82], qui ont trouvé que Kp était en corrélation linéaire avec la taille moléculaire et la lipophilicité. Plus le log Kp est négatif (avec Kp en cm / s), moins la peau est perméante à la molécule.
- **Barrière Hémato-Encéphalique (BHE)** : est une barrière encore plus sélective que la barrière intestinale. Elle est constituée essentiellement de cellules endothéliales, de péricytes et de cellules gliales. Elle se caractérise par la présence de jonctions serrées et de jonctions adhérentes et constitue une barrière physique contre le passage des xénobiotiques. La BHE empêche efficacement

la pénétration cérébrale des xénobiotiques. Il a été estimé que la BHE empêche l'entrée de plus de 98% des candidats médicaments neurologiques, elle constitue donc une barrière moins perméable que la barrière intestinale.

#### B) Métabolisme

La connaissance de l'interaction des molécules avec les cytochromes P450 (CYP) est également essentielle car cette superfamille d'isoenzymes est l'un des éléments clés dans l'élimination des médicaments par biotransformation métabolique. Il est à souligner qu'entre 50 à 90% des molécules thérapeutiques sont le substrat de cinq isoformes majeures (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4) [26]. L'inhibition de ces isoenzymes est certainement l'une des causes majeures des interactions pharmacocinétiques liées aux médicaments conduisant à des effets toxiques ou à d'autres effets indésirables [21]. **P-glycoprotéine** (P-gp) : Glycoprotéine P fonctionne comme une pompe à efflux transmembranaire, pompant ses substrats de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule. Les médicaments qui induisent ou inhibent la glycoprotéine P peuvent interagir avec d'autres médicaments manipulés par la pompe [48]

#### C) Toxicité

Pendant le développement du médicament, la sécurité est toujours le problème le plus important, y compris une variété de toxicités et d'effets indésirables des médicaments, qui doivent être évalués dans les phases des essais précliniques et cliniques [103]. Pour cela on a été fait recours au serveur web PKCSM afin de prédire la toxicité potentielle de nos meilleurs inhibiteurs. Sachant que le serveur web PKCSM est un serveur Web librement accessible sur (<http://structure.bioc.cam.ac.uk/pkcsm>), et qui fournit une plate-forme intégrée pour une évaluation rapide des propriétés pharmacocinétiques et de toxicité [81].

- **Toxicité AMES** : Le test d'Ames permet de déterminer le pouvoir mutagène d'une substance en étudiant sa capacité à induire des mutations reverses sur des souches hyper sensibilisées de *Salmonella typhimurium* [79]. Un test positif indique que le composé est mutagène et peut agir donc comme cancérigène [81].
- **Inhibiteur hERG I** : HERG (Human Ether-à-go-go - Related Gene) : Le gène

humain lié à l'éther-a-go-go (hERG) code la sous-unité de formation de pores du canal K + redresseur retardé à activation rapide ( $I_{Kr}$ ), qui joue un rôle important dans la repolarisation des potentiels d'action cardiaque. L'activité coordonnée des canaux ioniques contrôle le rythme cardiaque et le dysfonctionnement des canaux ioniques provoque des arythmies cardiaques et une mort subite [60]. L'inhibition des canaux potassiques est une principale cause du développement du QT long acquis conduisant à une arythmie ventriculaire fatale [81].

- **Toxicité aiguë par voie orale chez le rat ( $DL_{50}$ )** : le terme toxicité orale aiguë est plus souvent utilisé en liaison avec les déterminations de la létalité et de la  $DL_{50}$  "dose létale". La  $DL_{50}$  est définie comme la dose déterminée statistiquement qui, lorsqu'elle est administrée dans un test de toxicité aiguë, est susceptible de causer la mort de 50% des animaux traités sur une période donnée [76]. En général, plus la  $DL_{50}$  est petite, plus le produit chimique est toxique. Le contraire est également vrai : plus la  $DL_{50}$  est élevée, plus la toxicité est faible [78].
- **Hépatotoxicité** : les lésions hépatiques d'origine médicamenteuse sont une préoccupation majeure en matière de sécurité pour le développement de médicaments et une cause importante d'attrition des médicaments. Ce prédicteur a été construit en utilisant les effets secondaires associés au foie de 531 composés observés chez l'homme. Un composé a été classé comme hépatotoxique s'il avait au moins un événement hépatique pathologique ou physiologique qui est fortement associé à une perturbation du fonctionnement normal de la fois.
- **Sensibilisation cutanée** : La sensibilité cutanée est un effet néfaste potentiel pour les produits appliqués par voie cutanée. L'évolution de la question de savoir si un composé susceptible de rencontrer la peau peut induire une dermatite de contact allergique est une préoccupation de sécurité importante. Ce prédicteur a été construit en utilisant 254 composés qui ont été évalués pour leur capacité à induire une sensibilisation cutanée [81].

## 3.4 Résultats et Discussion

### 3.4.1 Résultats du Docking moléculaire

Avant de détailler les résultats de l'étude des interactions enzyme-ligand, nous allons tout d'abord présenter les résultats de scores (Kcal/mol) et du RMSD de meilleur pose pour chaque ligand (Tableau 3.5). Sachant que :

**Le scores** : représente les interactions liées à l'électrostatique (comme les liaisons hydrogène et les interactions de VdW), les effets de solvation et de désolvatation et l'énergie nécessaire pour déformer le ligand [98]. Le score devrait correspondre directement à l'affinité de liaison en du ligand pour la protéine, de sorte que les ligands présentant le meilleur score soient les meilleurs liants [41].

En général, une pose de ligand est finalement sélectionnée en fonction d'un score d'amarrage [61]. C'est-à-dire, le choix de la pose est correspond à la structure qui a l'énergie la plus basse.

**RMSD (Root Mean Square Deviation)** : Correspond à la moyenne de la déviation de chacun des atomes du ligand (le ligand de référence). Les performances d'un programme de docking sont évaluées en termes de capacité à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux. Le mieux possible signifie que la valeur du RMSD entre la pose du ligand calculée par le logiciel et la conformation dans le complexe expérimental est la plus petite possible. Le positionnement, C'est-à-dire l'identification correcte du site de liaison sur la protéine, l'orientation et la conformation du ligand influent sur la valeur du RMSD [57]. Tableau 3.6 explique les différents intervalles de valeurs RMSD données par le logiciel MOE.

D'après le Tableau 3.5 : On note que les complexes formés par les ligands L24, L26, L16, L19, L25, L45, L27 L59, L17,  $L_{ref}$  et le site actif du 2V1D possèdent les plus petites énergies du Score par rapport aux autres ligands, et aussi par rapport au complexe de ligand co-cristalliser ( $L_{ref}$ ), ceci montre que ces ligands peuvent former des complexes stables. qui sont classés par l'ordre suivant :  $L24 < L26 < L16 < L19 < L25 < L45 < L27 < L59 < L17 < L_{ref}$ . D'autre part, pour les valeurs de RMSD obtenus, on peut les considérer comme suites :

Tableau 3.5 – Résultats de RMSD et SCORE de l'enzyme 2VD1 avec les ligands étudiés

Composé N°	S-score (kcal/mol)	RMSD	Composé N°	S-score (kcal/mol)	RMSD
01	-8.71	1.91	31	-8.56	1.66
02	-9.18	1.31	32	-8.20	2.13
03	-9.20	1.51	33	-8.46	1.34
04	-9.91	1.64	34	-8.91	1.29
05	-8.29	2.12	35	-8.95	2.10
06	-8.64	2.06	36	-9.85	2.02
07	-9.22	1.46	37	-9.86	2.03
08	-9.15	2.05	38	-9.36	1.34
09	-8.56	1.65	39	-9.19	1.79
10	-8.58	2.19	40	-8.41	2.34
11	-8.92	2.07	41	-8.57	1.11
12	-8.83	2.65	42	-8.48	2.30
13	-8.34	3.83	43	-9.23	2.86
14	-8.66	2.52	44	-8.49	2.03
15	-9.81	1.35	<b>45</b>	<b>-10.70</b>	<b>2.95</b>
<b>16</b>	<b>-10.90</b>	<b>2.51</b>	46	-9.34	1.58
<b>17</b>	<b>-10.56</b>	<b>2.69</b>	47	-9.53	1.62
18	-9.05	3.55	48	-8.97	2.36
<b>19</b>	<b>-10.83</b>	<b>2.10</b>	49	-8.64	1.53
20	-8.92	2.55	50	-8.71	1.74
21	-8.96	3.11	51	-9.51	1.43
22	-9.62	1.79	52	-8.23	1.60
23	-9.99	1.64	53	-8.58	2.57
<b>24</b>	<b>-11.03</b>	<b>2.10</b>	54	-8.68	1.22
<b>25</b>	<b>-10.80</b>	<b>1.33</b>	55	-9.05	2.13
26	-10.92	1.65	56	-9.07	1.92
<b>27</b>	<b>-10.61</b>	<b>1.51</b>	57	-8.76	3.29
28	-9.79	3.08	58	-9.74	2.78
29	-9.77	2.49	<b>59</b>	<b>-10.60</b>	<b>1.62</b>
30	-8.68	2.55	60	-7.00	3.42
$L_{ref}$ (FAD)	-10.45				

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

Tableau 3.6 – Valeurs de RMSD données par le logiciel MOE.

RMSD	RMSD <1.5	1.5 <RMSD <3.5	3.5 <RMSD <6	RMSD <6
Structure	<b>Parfait</b>	<b>Acceptable</b>	<b>Inadéquat</b>	<b>Inacceptable</b>

1. **Des structures parfaites (RMSD < 1.5)** pour les ligands : 1, 7, 15, 25, 33, 34, 38, 41, 51, et 54.
2. **Les structures acceptables (1.5 < RMSD < 3.5)** pour les ligands : 02, 03, 04, 5, 06, 08, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 35, 36, 37, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 59, 60.
3. **Des structures Inadéquats (3.5 < RMSD < 6)** pour les ligands 13, 18.

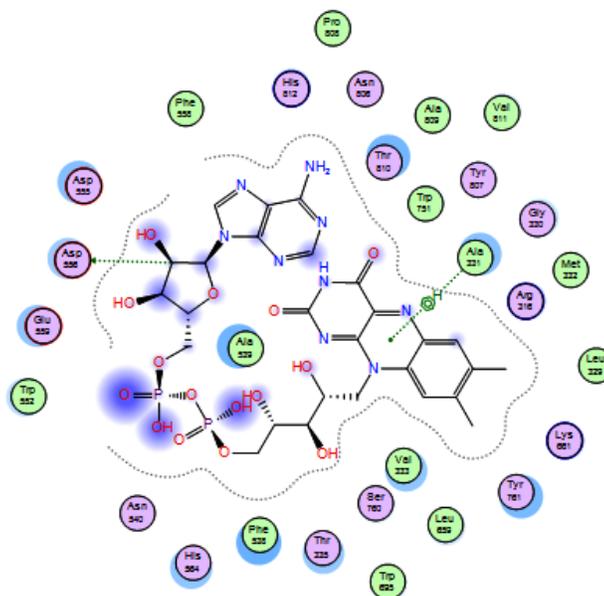
#### A) Étude des interactions enzyme-ligand de référence (FAD)

Dans l'objectif de proposer de nouveaux inhibiteurs de la 2V1D, il nous a semblé judicieux d'étudier, en premier lieu, le mécanisme d'inhibition mis en place par le meilleur composé réellement actif sorti du criblage total. Il s'agit du ligand de référence FAD (**C27 H33 N9 O15 P2**) issue de la chimiothèque d'évaluation utilisée dont le score s'évalue à "-11.38 kcal/mol". La visualisation des interactions de ce composé au sein du site actif de la 2V1D a été réalisée à l'aide du logiciel MOE.

D'après Anne Imbertet col [51], les interactions ayant des distances comprises entre 2.5 Å et 3.1 Å sont considérées fortes et celles comprises entre 3.1 Å et 3.55 Å sont supposées moyennes et quand leurs distances sont supérieures à 3.55 Å elles sont considérées faibles. D'après les résultats du Tableau 3.7 et de la Figure 3.9) on observe que : ***Le FAD établit deux liaisons avec l'enzyme 2V1D*** : La première liaison d'interaction moyenne (d=3.33 Å) de type H-donneur est établie entre le carbone n° 58 du ligand et le résidu d'acide aminé Asp 556 de l'enzyme, et la deuxième liaison d'interaction moyenne de type pi-H est formée entre le noyau benzoïque (6-ring) de ligand et celui du résidu Ala 331 de l'enzyme. Des interactions hydrophobiques aussi interviennent pour stabiliser le complexe (2V1D-FAD) avec le résidu : Ala 331.

Tableau 3.7 – Rapport d'interactions entre les résidus de site actif avec le FAD

Ligand FAD	Récepteur	Type d'interaction	Distance (Å)
C 58	<b>OD1 Asp 556</b>	<b>H-donneur</b>	<b>3.33</b>
6-ring	<b>CA Ala 331</b>	<b>pi-H</b>	<b>3.52</b>

FIGURE 3.9 – Interaction entre  $L_{ref}$  et les résidus du site actif de 2V1D

### B) Étude des interactions enzyme- dérivés de Triazole-Dithiocarbamate

Cette étude est effectuée sur les neuf meilleurs ligands (**L24, L26, L16, L19, L25, L45, L27 L59, L17**) (voir les valeurs en gras dans le Tableau 3.5). Les résultats de distances et des interactions entre ces ligands et l'enzyme 2V1D sont présentés dans le Tableau 3.8.

À la lumière de résultats obtenus on remarque que les distances mesurées varient entre 2.52 Å et 4.47 Å pour tous les complexes étudiés. D'après Anne Imbert et col [51], les interactions entre (2,5 Å et 3,1 Å) sont considérés comme fortes et celles entre 3,1 Å et 3,55 Å sont supposées moyennes et les interactions supérieures à 3,55 Å sont faibles ou absentes. Le suivant explique toute les interactions.

Tableau 3.8 – Résultats des interactions entre les meilleures ligands et les résidus de site actif de 2VID

Inhibiteur	Ligand	Récepteur	Type d'interaction	Distance stérique
24	C 35	O Trp 756	H-donneur	3.32
	S 26	NH2 Arg 316	H-accepteur	2.65
	S 26	N Glu 801	H-accepteur	3.41
	O 45	N Val 590	H-accepteur	2.81
	N 51	CA Gly 315	H-accepteur	2.90
26	S 27	OE1 Glu 801	H-donneur	3.12
	O 46	O Trp 756	H-donneur	2.60
	C 55	O Ala 809	H-donneur	3.26
	5-ring	NE Arg 316	pi-cation	3.44
16	S 22	OG1 Thr 624	H-donneur	2.87
	S 24	N Arg 316	H-accepteur	3.29
	S 24	NE Arg 316	H-accepteur	4.47
	S 24	NH2 Arg 316	H-accepteur	3.06
	O 35	N Ala 309	H-accepteur	3.00
	N 55	CA Gly 287	H-accepteur	3.15
19	S 27	O Gly 314	H-donneur	3.46
	S 26	N Glu 801	H-accepteur	3.55
	S 27	N Arg 316	H-accepteur	3.98
	N 53	CG Arg 316	H-accepteur	2.52
	5-ring	CA Gly 315	pi-H	3.93
25	S 26	CA Ala 331	H-accepteur	4.44
	S 26	N Met 332	H-accepteur	4.39
	S 26	NZ Lys 661	H-accepteur	4.22
	6-ring	CB Arg 316	pi-H	3.87
45	S 20	N Glu 801	H-accepteur	3.76
	S 22	N Val 288	H-accepteur	3.78
	5-ring	CD Arg 316	pi-H	4.14
	6-ring	CA Ala 331	pi-H	3.59
27	C 35	OE2 Glu 308	H-donneur	3.39
	O 49	OE1 Glu 308	H-donneur	2.99
	S 26	N Glu 801	H-accepteur	3.89
	S 27	N Arg 316	H-accepteur	3.91
59	C 7	O Ala 809	H-donneur	3.35
	S 22	N Val 288	H-accepteur	3.92
	5-ring	CA Thr 810	pi-H	4.41
17	C 27	OE1 Glu 801	<sup>72</sup> H-donneur	3.08
	S 25	N Val 288	H-accepteur	3.78
	N 57	CA Gly 285	H-accepteur	3.04
	5-ring	CA Leu 625	pi-H	3.96

## 1) Interactions 2V1D – L24 (Figure 3.10)

Avec le score le plus petit qui s'évalue à  $-11.03$  kcal/mol. L'analyse visuelle montre que le ligand 24 inhibe 2V1D en formant cinq liaisons. Une liaison de type H-donneur entre l'atome du carbone 35 du ligand et l'atome d'oxygène du résidu Trp 756 avec une distance  $3.32$  Å, et quatre liaisons de type H-accepteur entre le C 35, S 26, S26, O45, N51 du ligand et les résidus : O Trp 756, NH2Arg 316, N Glu 801, N Val 590, CA Gly 315 du site actif de 2V1D respectivement avec les distances  $3.32$  Å,  $2.65$  Å,  $3.41$  Å,  $2.81$  Å,  $2.90$  Å. Le ligand 24 est également stabilisé par l'interaction hydrophobique avec le résidu Trp de l'enzyme.

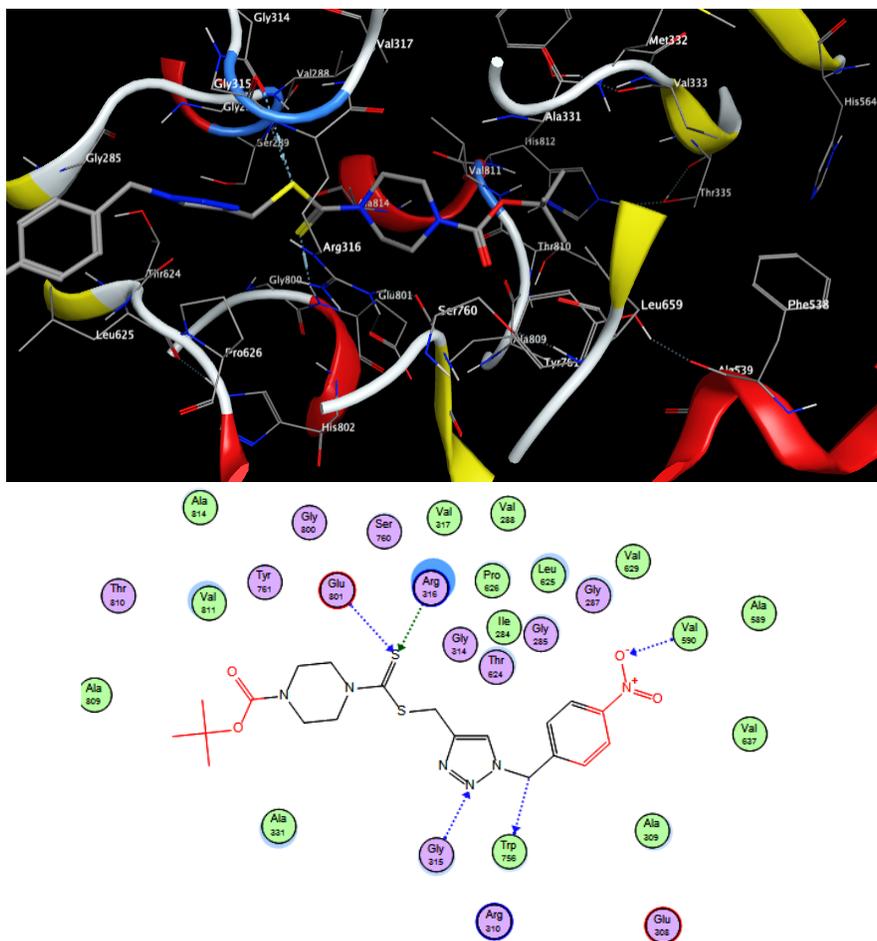


FIGURE 3.10 – Interactions entre le ligand 24 et les résidus de site actif de 2V1D



## 3) Interactions 2V1D – L16 (Figure 3.12)

Les résultats montrent que le ligand 16 se caractérise par un score -10.90 kcal/mol. Il établit six liaisons : la première est de type H-donneur qui est formée entre S 22 du ligand et le résidu Thr 624 avec la distance 3.53 Å. Les autres liaisons sont de type H-accepteur dont trois sont établies entre l'atome S 24 du ligand et les atomes N, NE, NH<sub>2</sub> du résidu Arg 316 avec les distances 3.35 Å, 3.41 Å, 4.21 Å. Le deux autres liaisons sont formés entre O 35, N 55 du ligand et les résidus Ala 309, Gly 287 avec les distances 3.00 Å, 3.15 Å. Des interactions hydrophobiques interviennent pour stabiliser le complexe (2V1D – L16) avec le résidu : Ala 309.

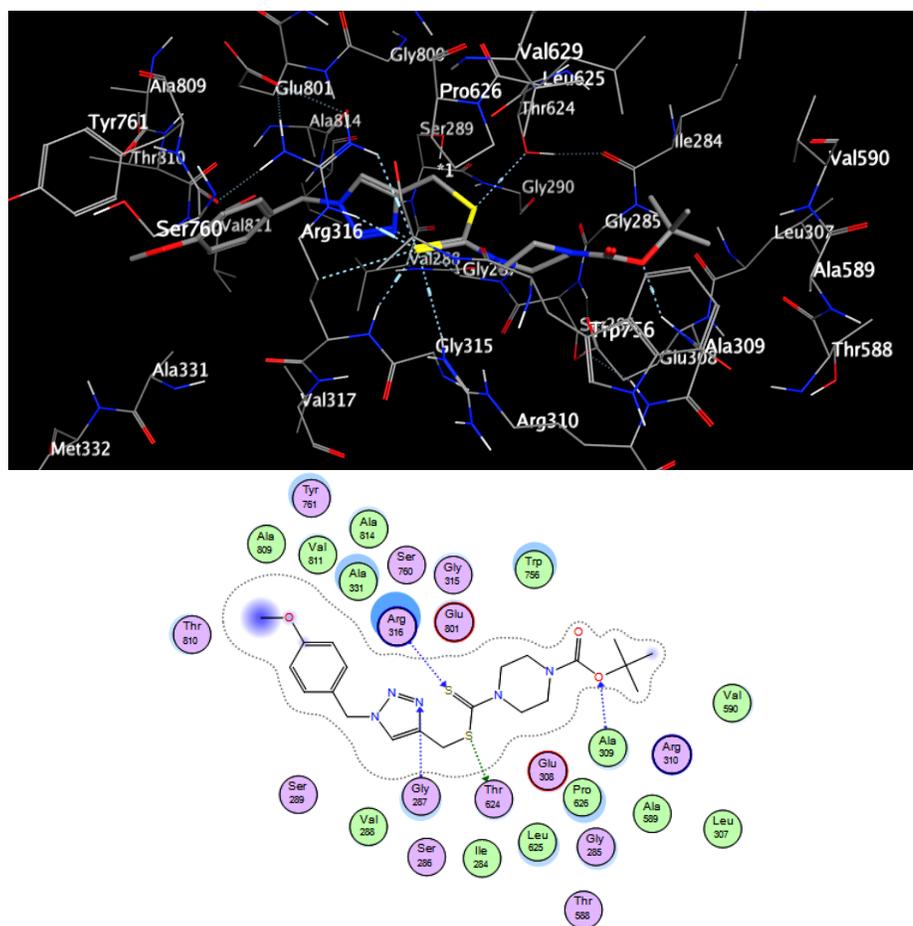


FIGURE 3.12 – Interactions entre le ligand 16 et les résidus de site actif de 2V1D

## 4) Interactions 2V1D – L19 (Figure 3.13)

L'analyse visuelle montre que le ligand 19 a un score -10.83 kcal/mol en établissant cinq liaisons. Sachant que la première est de type H-donneur qui est observée entre S 27 du ligand et le résidu Gly 314 séparé par la distance 3.46 Å. Trois liaisons sont de type H-accepteur entre S 26, S 27, N 53 du ligand et les résidus N Glu 801, N Arg 316 CG Arg 316 respectivement avec les distances 3.55 Å, 3.98 Å, 2.52 Å, 3.93 Å. La dernière liaison est de type Pi-H est observée entre le cycle triazole du ligand et le résidu Gly 315 avec la distance 3.93 Å.

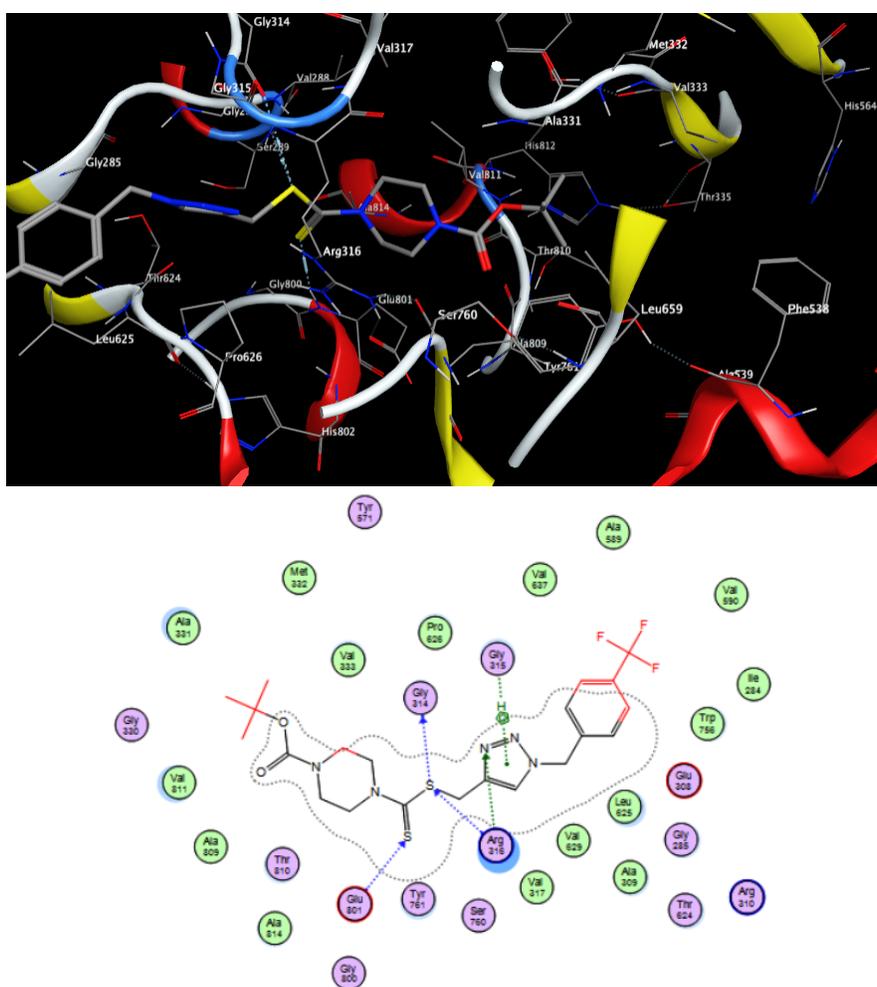


FIGURE 3.13 – Interactions entre le ligand 19 et les résidus de site actif de 2V1D



6) **Interactions 2V1D – L45** (Figure 3.15)

L'analyse visuelle du complexe L45 et 2V1D ( $S = -10.70 \text{ kcal/mol}$ ) nous révèle quatre liaisons, dont les deux premières sont de types H-accepteur et sont formées respectivement entre C 35, O 49 du ligand et les résidus N Glu 801, N Val 288 de l'enzyme avec des distances  $3.76 \text{ \AA}$ ,  $3.78 \text{ \AA}$ . Les deux autres liaisons sont de type pi-H et sont formées respectivement entre le cycle triazole et le noyau benzoïque du ligand et les résidus Arg 316, Ala 331 de l'enzyme avec des distances de  $4.14 \text{ \AA}$ ,  $3.59 \text{ \AA}$ . Le complexe ici est stabilisé avec les résidus : Val 288 et Ala 331 de l'enzyme par des interactions hydrophobiques.

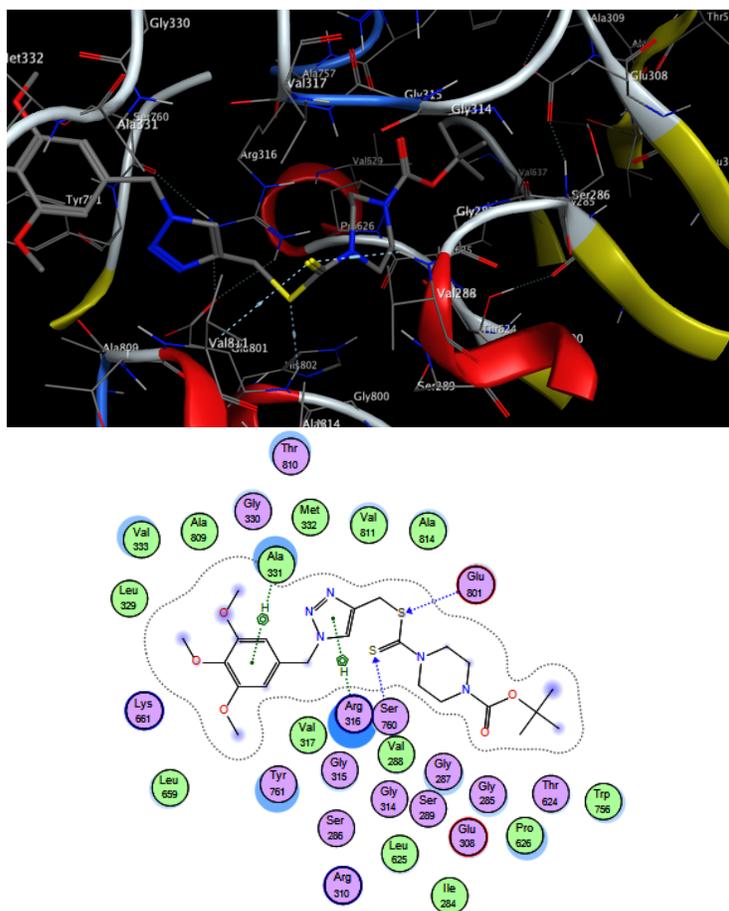


FIGURE 3.15 – Interactions entre le ligand 45 et les résidus de site actif de 2V1D

## 7) Interactions 2V1D – L27 (Figure 3.16)

Le ligand 27 se caractérise par un score -10.61 kcal/mol. L'analyse visuelle du complexe (2V1D – L27) montre la présence de quatre liaisons sachant que : deux liaisons sont de type H-donneur et sont formés entre C 35, O 49 du ligand et les résidus OE2 Glu 308, OE1 Glu 308 de l'enzyme respectivement, séparées par des distances 3.39 Å, 2.99 Å. Les deux autres liaisons sont de type H-accepteur et sont établies respectivement entre S 26, S 27 du ligand et les résidus Glu 801, Arg 316 de l'enzyme avec des distances de 3.89 Å, 3.91 Å.

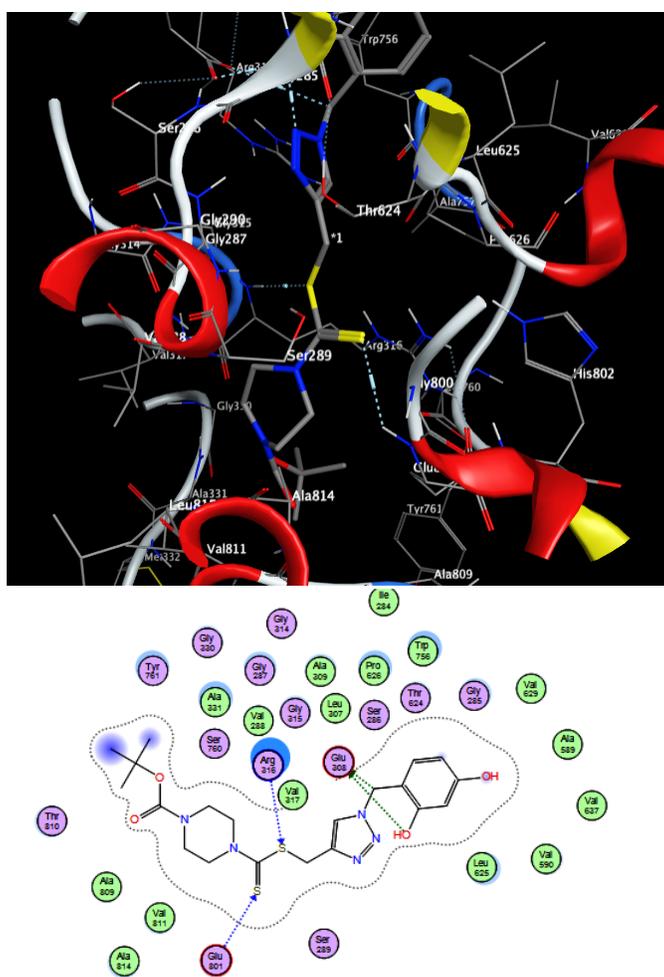


FIGURE 3.16 – Interactions entre le ligand 27 et les résidus de site actif de 2V1D

## 8) Interactions 2V1D – L59 (Figure 3.17)

Avec une valeur du score égale à  $-10.60$  kcal/mol, le ligand 59 forme trois liaisons, dont l'une est de type H-donneur entre C 7 du ligand et le résidu O Ala 809 de l'enzyme ( $d= 3.35$  Å). L'autre liaison est de type H-accepteur qui est entre S 22 du ligand et le résidu N Val 288 de l'enzyme ( $d= 3.92$  Å). La troisième liaison est de type pi-H, formés entre le cycle triazole du ligand et le résidu Thr 810 de l'enzyme ( $d= 4.41$  Å). Le complexe 2V1D – L59 est également stabilisé par des interactions hydrophobiques avec les résidus d'acides aminé : Ala 809 Val 288.

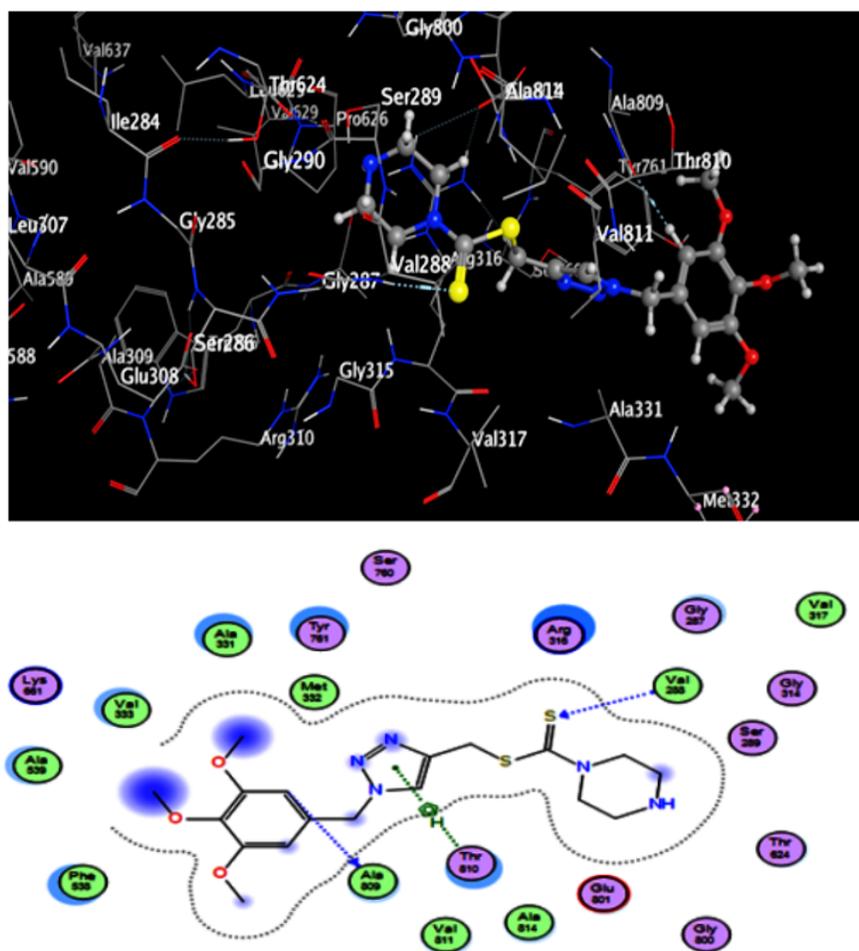
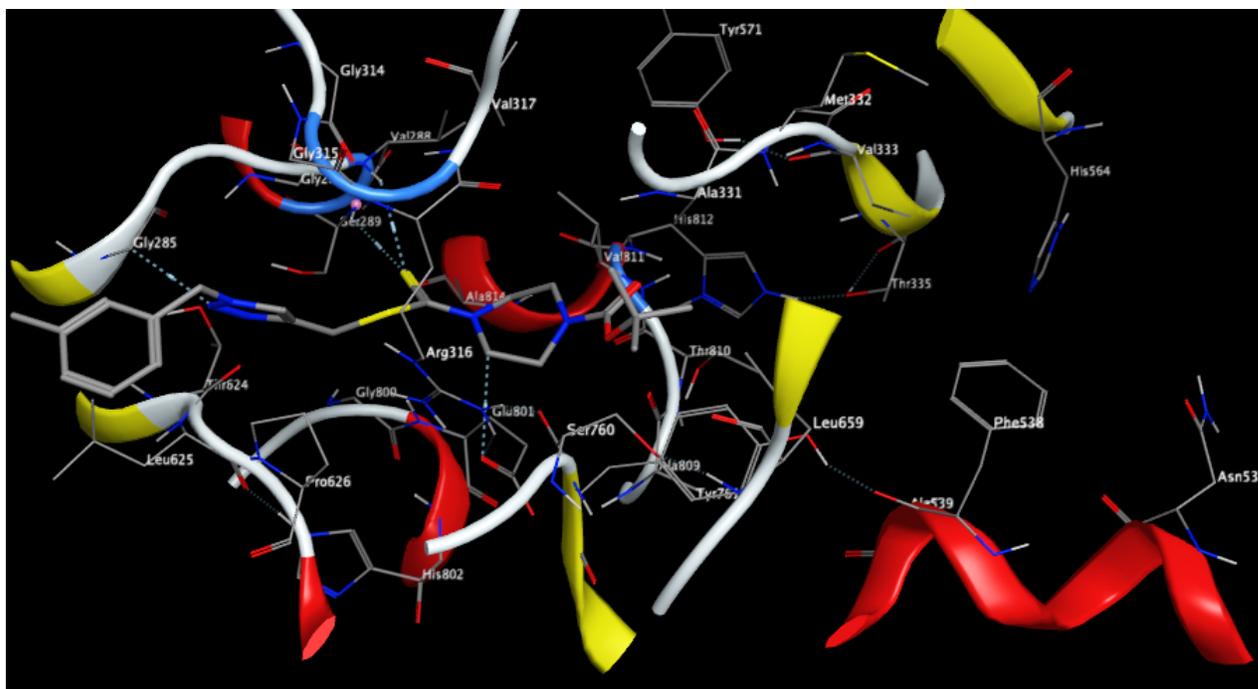


FIGURE 3.17 – Interactions entre le ligand 59 et les résidus de site actif de 2V1D

## 9) Interactions 2V1D – L17 (Figure 3.18)

Le ligand 17 possède la valeur la plus élevée des scores obtenus qui est égal -10.56 kcal/mol. L'analyse visuelle du complexe (2V1D – L17) indique la présence de quatre liaisons sachant que : la première est de type H-donneur entre C 27 du ligand et le résidu Glu 801 de l'enzyme ( $d=3.08 \text{ \AA}$ ). La deuxième et la troisième liaisons sont de types H-accepteur qui sont établies respectivement entre S 25, N 57 du ligand et les résidus Val 288, Gly 285 de l'enzyme séparées par les distances  $3.78 \text{ \AA}$ ,  $3.04 \text{ \AA}$ . Enfin la dernière liaison est de type pi-H qui est formée entre le cycle triazole du ligand et le résidu Leu 625 de l'enzyme ( $d= 3.96 \text{ \AA}$ ). On constate également des interactions hydrophobique entre l'inhibiteur et les résidus d'acide aminé Val 288 Leu 625 qui stabilisent le complexe (2V1D – L17).



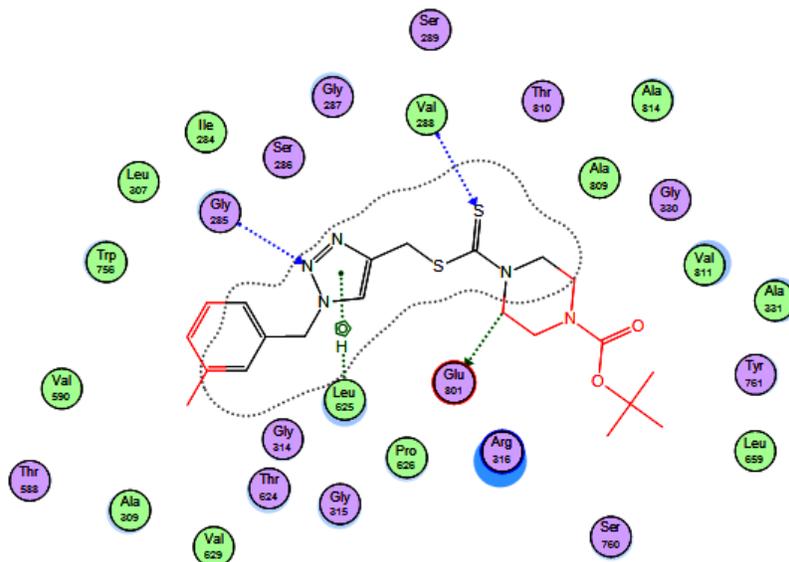


FIGURE 3.18 – Interactions entre le ligand 17 et les résidus de site actif de 2V1D

### 3.4.2 Résultats des propriétés moléculaires (drug likness)

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

#### A) Application de la règle de cinq (règle de Lipinski)

Tableau 3.9 présente les résultats de l'évaluation de la règle de Lipinski pour les meilleurs inhibiteurs. Ces résultats sont obtenus en utilisant le outil web Molinspiration.

Les résultats du Tableau 3.9 montrent que :

- **Les valeurs de log P** de nos composés ainsi que le  $L_{ref}$  sont inférieures à 5. Sachant que, une valeur positive pour log P indique que les composés sont trop lipophiles, donc ils ont : une bonne perméabilité à travers la membrane biologique, une meilleure liaison aux protéines plasmatiques, une bonne élimination par le métabolisme, mais une faible solubilité et une mauvaise tolérance gastrique, alors que le  $L_{ref}$  a une valeur négative de log P, donc il est hydro-

Tableau 3.9 – Résultats d’application de la Règle de Lipinski pour les meilleurs inhibiteurs de LSD1

Composé N °	N ° ON	N ° OHNH	Masse(UMA)	Log P	Nombre de la violation
16	<b>8</b>	<b>0</b>	<b>463.63</b>	<b>3.60</b>	<b>0</b>
17	<b>7</b>	<b>0</b>	<b>447.63</b>	<b>3.97</b>	<b>0</b>
19	<b>7</b>	<b>0</b>	<b>501.60</b>	<b>4.44</b>	<b>1</b>
24	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>478.60</b>	<b>3.50</b>	<b>0</b>
25	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>449.60</b>	<b>3.07</b>	<b>0</b>
26	<b>9</b>	<b>2</b>	<b>465.60</b>	<b>2.98</b>	<b>0</b>
27	<b>7</b>	<b>0</b>	<b>502.49</b>	<b>4.83</b>	<b>1</b>
45	<b>7</b>	<b>0</b>	<b>429.55</b>	<b>3.04</b>	<b>0</b>
59	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>423.56</b>	<b>1.54</b>	<b>0</b>
FAD	<b>24</b>	<b>10</b>	<b>785.56</b>	<b>-2.69</b>	<b>3</b>

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

- phile. Il a par conséquence, une mauvaise perméabilité à travers la membrane, par contre, il a une meilleure tolérance gastrique.
- Les ligands 16, 17, 24, 25, 26, 45 et 59 ont des valeurs du **pooids moléculaire** inférieure à 500 Da, donc sont facilement à traverser les membranes cellulaires. Alors que les ligands 19, 27 et le FAD ont une masse supérieure à 500 Da, ce qui les rend difficile à pénétrer la membrane cellulaire.
  - Tous les ligands ont un **nombre accepteur d’hydrogène** inférieur et égal à 10 et un **nombre donneur d’hydrogène** inférieur à 5 ce qui conduit à une meilleure perméabilité. Alors que, le  $L_{ref}$  possède un nombre accepteur d’hydrogène supérieure à 10 et un nombre donneur d’hydrogène supérieure à 5 ; un grand nombre d’accepteurs d’hydrogène conduit à une faible perméabilité à travers une membrane bicouche
  - **Le nombre de violation**, nous remarquons que nos composés ont une violation nulle à part les deux composés 19 et 27 ( $N_v=1$ , Cela est dû qu’ils ont une masse plus que le poids requis).d’autre part aussi le ligand de référence montre 3 violations, car il ne réalise pas 3 conditions de Lipinski.

De cela, nous pouvons conclure que : tous les composés répondent aux règles de

Lipinski, suggérant que ces ligands théoriquement n'auraient pas de problèmes avec la biodisponibilité orale. Par contre le  $L_{ref}$  ne répond pas à cette règle.

### B) Application de la Règle de Veber

Le Tableau 3.10 présente les résultats des propriétés concernant la règle de Veber. Ces résultats sont calculés et obtenus en utilisant le logiciel Molinspiration.

Tableau 3.10 – Résultats de l'application de la Règle Veber pour les meilleurs inhibiteurs de LSD1

Composé N °	PSA ( Å <sup>2</sup> )	N ° rotb
16	<b>72.73</b>	<b>9</b>
17	<b>63.50</b>	<b>8</b>
19	<b>63.50</b>	<b>9</b>
24	<b>109.32</b>	<b>9</b>
25	<b>83.73</b>	<b>8</b>
26	<b>103.95</b>	<b>8</b>
27	<b>63.50</b>	<b>8</b>
45	<b>62.98</b>	<b>7</b>
59	<b>73.69</b>	<b>9</b>
<b>FAD</b>	<b>362.96</b>	<b>13</b>

D'après les résultats du tableau on remarquant que :

- **Pour les NRB** : nos composés ont des valeurs de liaisons rotatives inférieures à 10 par rapport au ligand de référence (NRB=13). Un faible nombre des liaisons rotatives donc une flexibilité réduit pour tous les composés ce qui indique que ces ligands lors de la liaison à une protéine ne changent que légèrement leur conformation. Par contre, le ligand de référence a un NRB > 10 (une grande flexibilité) donc sera une mauvaise biodisponibilité.
- **Pour la surface (TPSA)** : tous les composés étudiés ont des valeurs inférieures à 140 Å<sup>2</sup> ce qui montre la bonne prédiction de la biodisponibilité orale et le transport à travers les membranes biologiques. Alors que le ligand de référence possède un TPSA supérieure à 140 (=362.96) donc mauvaise transport à travers les membranes.

De cela, nous pouvons conclure que tous les composés étudiés sont en accord avec la règle de Veber. Cependant le  $L_{ref}$  ne réalise pas cette règle.

### C) Application de la Règle de Ghose

En plus des deux règles précédentes, le logiciel SwissADME nous donne également la possibilité d'évaluer les paramètres de la règle de Ghose. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 3.11.

Tableau 3.11 – Résultats d'application de la Règle de Ghose et du score de biodisponibilité

Composé N	log P	MW (Da)	Réfractivité molaire $m^3/mol$	Nombre d'atome	Score de biodisponibilité
16	<b>3.60</b>	<b>463.63</b>	<b>133.90</b>	<b>30</b>	<b>0.55</b>
17	<b>3.97</b>	<b>447.63</b>	<b>132.38</b>	<b>30</b>	<b>0.55</b>
19	<b>4.44</b>	<b>501.60</b>	<b>132.41</b>	<b>33</b>	<b>0.55</b>
24	<b>3.50</b>	<b>478.60</b>	<b>136.23</b>	<b>32</b>	<b>0.55</b>
25	<b>3.04</b>	<b>449.60</b>	<b>129.43</b>	<b>30</b>	<b>0.55</b>
26	<b>2.98</b>	<b>465.60</b>	<b>131.45</b>	<b>31</b>	<b>0.55</b>
27	<b>4.83</b>	<b>502.49</b>	<b>137.43</b>	<b>31</b>	<b>0.55</b>
45	<b>3.04</b>	<b>429.55</b>	<b>122.26</b>	<b>29</b>	<b>0.55</b>
59	<b>1.54</b>	<b>423.56</b>	<b>121.04</b>	<b>28</b>	<b>0.55</b>
<b>FAD</b>	<b>-2.69</b>	<b>785.56</b>	<b>178.14</b>	<b>53</b>	<b>0.11</b>

Les résultats de calcul montrent que :

- **Les valeurs de log P** de nos composés allant de 1.54 à 4.83 qui sont tous comprises dans l'intervalle des normes  $-0.4 \leq \log P \leq 5.6$ , tandis que la valeur de log P pour  $L_{ref}$  est en dehors de l'intervalle (Log P = -2.69).
- Toutes les **valeurs de masse moléculaire** de nos composés (sauf les composés 19 et 27) sont comprises dans l'intervalle  $160 \leq \text{masse} \leq 480$ . Mais la masse de  $L_{ref}$  était en dehors de l'intervalle.
- La **réfractivité molaire** les composés 25, 45 et 59 ont des valeurs dans la plage des normes  $40 \leq \text{réfractivité} \leq 130$  mais les composés 16, 17, 19, 24, 26, 27 et aussi  $L_{ref}$  ont une valeur de réfractivité plus de 130 (dehors de l'intervalle).

- Les **valeurs du nombre d'atome** des composés et  $L_{ref}$  allant de 28 à 53 et qui sont comprises dans l'intervalle  $20 \leq \text{nombre d'atomes} \leq 70$ .
- Les **valeurs de Score** de nos ligands sont égale à 0.55, ce qui montre que ces ligands ayant une bonne biodisponibilité. Par contre le  $L_{ref}$  a un score égale à 0.11. Donc on peut dire qu'il est peu absorbé.

Donc, on peut constater que les composés 25, 45 et 59 valident et répondent aux règles de Ghose mais les composés 16, 17, 19, 24, 26 et 27 et aussi  $L_{ref}$  ne répondent pas à cette règle.

### 3.4.3 Résultats de solubilité dans l'eau et des propriétés chimie médicinale

#### A) Résultats de solubilité dans l'eau

Pour optimiser le travail de pré-formulation et de passer plus rapidement à l'étape de la formulation, il est intéressant de classer les substances actives en fonction de propriétés physico-chimiques clés. L'une des principales propriétés est la solubilité. Il est possible d'estimer la biodisponibilité in vivo des substances actives en fonction de leur solubilité.

Les résultats de l'évaluation de la solubilité concernant les 3 ligands restés sont présentés dans le Tableau 3.12.

Tableau 3.12 – Résultats de solubilité

Composé N	log S	Classe
25	<b>-3.85</b>	<b>Soluble</b>
45	<b>-4.03</b>	<b>moyennement Soluble</b>
59	<b>-3,06</b>	<b>Soluble</b>
FAD	<b>-1.06</b>	<b>très soluble</b>

D'après les résultats obtenus, nous constatons que : Les deux composés 25 et 59 sont des composés solubles, ils possèdent des valeurs du log S : -3.85 et -3.06 successives qui sont des valeurs supérieurs et proches à la valeur optimale -4, tandis que le

composé 45 est un composé moyennement soluble et possède un  $\log S = -4.03$  qui est un peu plus petit que la valeur optimal. Alors que, le  $L_{ref}$  est un composé très soluble, il a une valeur de  $\log S = -1.06$  qui est également supérieure à la valeur optimale mais qui en est loin par rapport aux valeurs des composés étudiés.

D'après les résultats précédents, nous pouvons dire que tous les composés possèdent une bonne absorption orale qui entraîne une bonne biodisponibilité.

### B) Résultats des propriétés chimie médicinale

Cette étude est effectuée à travers l'évaluation de l'alerte PAINS et de l'accessibilité synthétique. Les résultats obtenus sont comme suit :

#### — Résultats des PAINS

Les résultats de PAINS des ligands étudiés sont présentés dans le Tableau 3.13.

Tableau 3.13 – Résultats des PAINS pour les meilleurs inhibiteurs de LSD1

Composés	Alertes de PAINS
25	<b>0</b>
45	<b>0</b>
59	<b>0</b>
FAD	<b>0</b>

D'après les résultats obtenus, on peut dire que les composés étudiés et le  $L_{ref}$  n'ont aucun alerte PAINS, ce qui montre qu'ils ont réagi de manière spécifique avec une cible biologique dans l'organisme.

#### — Accessibilité synthétique

L'accessibilité synthétique varie de 1 (très facile) à 10 (très difficile). A partir des résultats montrés dans le Tableau 3.14 nous constatons que les composés étudiés ont des valeurs d'AS : 3.87, 3.51 et 3.72 successivement et selon les donnée cités précédemment, on peut dire que ces composés ont une voie de synthèse facile par rapport au  $L_{ref}$  qui a une valeur de AS=6.52 et ce qui montre qu'il est un peu difficile à synthétiser.

Tableau 3.14 – Résultats de l’accessibilité synthétique

Composés	Accessibilité synthétique(AS)
25	<b>3.87</b>
45	<b>3.51</b>
59	<b>3.72</b>
FAD	<b>6.52</b>

### 3.4.4 Résultats des propriétés ADME-tox

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

#### A) Absorption et distribution

Tableau 3.15 – Résultats d’absorption et distribution

Composés	Absorption GI	Perméation de BHE	log kp (Cm /S)
25	<b>Faible</b>	<b>Non</b>	<b>-7.30</b>
45	<b>Elevé</b>	<b>Non</b>	<b>-7.17</b>
59	<b>Elevé</b>	<b>Non</b>	<b>-7.88</b>
FAD	<b>Faible</b>	<b>Non</b>	<b>-14.61</b>

Nous constatons d’après les résultats du Tableau 3.15 que :

- Les deux composés 45 et 59 ont une absorption intestinale élevée par rapport à l’absorption de  $L_{ref}$  ce qui montre que ces composés peuvent être mieux absorbés par le tractus gastro-intestinal lors d’une administration orale. Tandis que le composé 25 a le même caractère que le  $L_{ref}$  (une absorption faible), donc ils ayant une mauvaise absorption par le tractus gastro-intestinal.

- Pour tous les composés la pénétration à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE) est négatives.
- Les valeurs de  $\log k_p$  sont dans l'intervalle de -7.88 à -7.17 Cm/S. La valeur -7.17 Cm/S correspond au composé n° 45, donc il est plus perméable par la peau. Tandis que  $L_{ref}$  possède la valeur de  $\log k_p$  qui est égale à -14.61 Cm/S, indique que  $L_{ref}$  est moins perméable par la peau.

### B) Métabolisme

Les modèles “**Oui**” ou “**Non**” renvoient si la molécule étudiée a une probabilité plus élevée être substrat ou non substrat de la P-gp ou inhibiteur ou non inhibiteur d'un CYP donné [75].

**Tableau 3.16** – Résultats du métabolisme

Composé	Substrat	Inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur
N	P-gp	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
25	<b>Oui</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Oui</b>	<b>Non</b>	<b>Oui</b>
45	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Oui</b>	<b>Oui</b>	<b>Non</b>	<b>Oui</b>
59	<b>Oui</b>	<b>Non</b>	<b>Oui</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Oui</b>
FAD	<b>Oui</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>

CYP :

Cytochromes

P-gp

P-glycoprotéine

À travers les résultats présentés dans le Tableau 3.16, nous notons que :

- Les composés 25 et 59 sont des substrats de la P-gp ce qui signifie qu'ils auront une augmentation de la biodisponibilité. Tandis que le composé 45 n'est pas un substrat de la P-gp donc y aura une réduction de la biodisponibilité de ce composé.
- D'autre part on peut noter que tous les composés n'inhibent pas les isoenzymes CYP1A2 et CYP2D6 par conséquent, les effets indésirables résultant des interactions médicamenteuses lors de l'administration orale de ces composés sont peu probables.

- Par ailleurs, le ligand de référence est un substrat de la P-gp et aussi il n'inhibe aucune des isoenzymes, ce qui indique l'absence des problèmes d'interactions médicamenteuses

### C) Toxicité

Selon les résultats présentés dans le Tableau 3.17 :

**Tableau 3.17** – Résultats de l'évaluation de la Toxicité

Composé N °	Toxicité AMES	Inhibiteur hERG I	Toxicité aiguë par voie orale chez le rat (DL50) mol / kg	Hypatotoxicité	Sensibilisation cutanée
Composé 25	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>2.248</b>	<b>Oui</b>	<b>Non</b>
Composé 45	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>2.344</b>	<b>Oui</b>	<b>Non</b>
Composé 59	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>2.588</b>	<b>Oui</b>	<b>Non</b>
FAD	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>2.482</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>

- Nous remarquons que le test AMES pour ces composés est négatif donc sont des composés non mutagènes ; ils ne peuvent pas agir comme cancérogènes.
- Nous remarquons aussi qu'ils ne considérons pas comme des inhibiteurs des canaux potassique alors, ils ne peuvent pas affecter sur le rythme cardiaque donc l'absence de QT long acquis.
- Les valeurs obtenues de DL50 sont faibles. C'est à dire que ces trois composés provoquent une toxicité aiguë.
- On peut également déduire que les composés mentionnés ci-dessus ne provoquent pas une sensibilité cutanée. Mais ils provoquent une hépatotoxicité.
- Alors que le ligand de référence est un composé :
- Non mutagène donc ce n'est pas un élément cancérogène
  - Non inhibiteur des canaux potassique donc l'absence de QT long acquis
  - Possède une valeur faible de (DL50=2.482 mol/kg), donc ce composé aussi peut provoquer une toxicité aiguë.
  - Ne provoque pas ni une hépatotoxicité ni une sensibilité cutanée.

## Conclusion Générale

Le Docking moléculaire se concentre sur la simulation informatique du processus de reconnaissance moléculaire. Il vise à obtenir une conformation optimisée à la fois pour la protéine et le ligand et une orientation relative entre la protéine et le ligand de telle sorte que l'énergie libre du système global soit minimisée. Notre objectif dans ce travail était l'adoption de la modélisation moléculaire par le Docking afin d'étudier et d'optimiser des nouveaux inhibiteurs ; qui ont été proposés comme des nouveaux agents thérapeutiques possibles ciblant l'enzyme de LSD1 dans le but de traiter le cancer.

Dans un premier temps, nous avons présenté la maladie de cancer de façon générale ; comprenant aussi la cible thérapeutique LSD1 et ses inhibiteurs comme des médicaments orientés vers cette cible dans le cadre du traitement de cette maladie. Par ailleurs, dans une deuxième partie, nous avons abordés les principes fondamentales de la méthode de docking moléculaire ainsi que les diverses concepts de filtrage qui nous aident à approfondir l'étude des composés proposés dans cette étude tel que les propriétés drug-likeness et les propriétés ADMETox. Dans la troisième partie, nous avons présenté la partie la plus importante dans ce travail qui est le développement de protocole de docking moléculaire par le logiciel MOE (version 2014) pour les inhibiteurs proposés. Le docking moléculaire a été réalisé sur une série de 60 composés afin de prédire l'affinité de chaque composé avec la cible de LSD1. Alors, par comparaison avec le score de  $L_{ref}$  ( $S=-10.45\text{kcal/mol}$ ), neuf composés étaient filtrés et caractérisés comme des meilleurs inhibiteurs car ils possèdent des valeurs de scores plus petits (de  $-10.56$  à  $-11.03$  kcal/mol) et cela qualifie ces composés d'être plus stables et avoir une affinité plus élevée à se lier avec l'enzyme de LSD1 mieux

que le ligand de référence (FAD). Ces résultats ont été ensuite confirmés par l'analyse visuelle des schémas d'interaction qui montrent la présence des interactions de type hydrophobique et c'est ce qui les a rendus plus stables.

Pour mieux approfondir, nous avons fait une autre étude en évaluant les propriétés drug likeness des neuf composés récupérés. Cela est réalisé selon les règles de : lipinski, Veber, Ghose et Score de biodisponibilité. Cette évaluation, nous a permis de constater que les composés numéro : 25, 45 et 59 avaient une bonne biodisponibilité orale parmi les neuf composés. En mettant en évidence les critères de chimie médicale, l'évaluation de l'accessibilité synthétique a montré que ces composés sont plus faciles à extraire que le composé de référence. Afin d'améliorer la qualité de ces trois composés, les propriétés ADMETox ont été évaluées, ce qui a montré que les deux composés 45 et 59 avaient des bonnes propriétés ADME et ainsi meilleure que  $L_{ref}$ . Selon les résultats, les composés devraient être toxique. Pour cela, il est recommandé de l'étudier plus avant.

À la fin de ce travail, nous pouvons conclure que les deux composés 45 et 59 sont les meilleurs inhibiteurs obtenus avec un score de -10.70 et -10.60 kcal/mol respectivement, et ils ont une voie de synthèse faciles et des propriétés qui probablement peuvent en faire des composés candidats capables de traiter le cancer.

Cependant, notre étude reste seulement une étude théorique préliminaire, qui nécessite une étude empirique in vitro pour s'assurer que ses résultats sont corrects et les mieux développés.

## Bibliographie

- [1] Cancer : les différents types de traitements. <https://www.roche.fr/fr/patients/info-patients-cancer/traitement-cancer/traitements-cancer.html>. Online; accédé le 04/05/2020.
- [2] Morgane Agez. *ETUDE STRUCTURALE ET FONCTIONNELLE DE LA PROTEINE CHAPERON D'HISTONES ASF1*. Theses, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, March 2008.
- [3] Ruchi Anand and Ronen Marmorstein. Structure and mechanism of lysine-specific demethylase enzymes. *Journal of Biological Chemistry*, 282(49) :35425–35429, 2007.
- [4] Alban Arrault. *Docking-scoring strategies assisted by data analysis. Application to virtual screening of COX-2 and PPAR gamma therapeutic targets*. Theses, Université d'Orléans, November 2007.
- [5] Yasmine Asses. *Conception par modélisation et criblage in silico d'inhibiteurs du récepteur c-Met*. PhD thesis, Nancy 1, 2011.
- [6] Jonathan Baell and Michael A Walters. Chemistry : Chemical con artists foil drug discovery. *Nature News*, 513(7519) :481, 2014.
- [7] Alexandre Beautrait. *Development and validation of the VSM-G virtual platform. Use for the study of the FAT domain of the KAK kinase*. Theses, Université Henri Poincaré - Nancy I, January 2008.
- [8] K Benarous. Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes alpha amylase, trypsine et lipase. In *Mémoire d'Ingénieur d'état en*

- génie biologique 2006, Université Amar Telidji Laghouat, Algérie - Ingénieur d'état en génie biologique 2006.* 2006.
- [9] A Bensegueni. *Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxygénase et la cyclooxygénase.* PhD thesis, Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée. Constantine : Université Mentouri . . . , 2007.
- [10] Medjdoub.N. Bezzaz.R, Kafi .S. Cancer et immunité. In *Mémoire de master : Université 8 Mai 1945 Guelma, Algérie 2019.* 2007.
- [11] Raphaël Bilgraer. *Déchiﬀrer le code histone : épigénétique et toxicologie placentaire.* PhD thesis, 2014.
- [12] Kathleen M Botham, Anthony Weil, Victor W Rodwell, Peter J Kennelly, and David A Bender. *Biochimie de Harper.* De Boeck Supérieur, 2017.
- [13] OYA BOZDAĞ, GÜLGÜN AYHAN KILCIGİL, Meral Tuncbilek, and Rahmiye Ertan. Studies on the synthesis of some substituted flavonyl thiazolidinedione derivatives-i. *Turkish Journal of Chemistry*, 23(2) :163–170, 1999.
- [14] Jonathan M Burg, Julie J Gonzalez, Kenneth R Maksimchuk, and Dewey G McCafferty. Lysine-specific demethylase 1a (kdm1a/lsd1) : product recognition and kinetic analysis of full-length histones. *Biochemistry*, 55(11) :1652–1662, 2016.
- [15] Yi C Zheng, Bin Yu, Guo Z Jiang, Xue J Feng, Peng X He, Xiao Y Chu, Wen Zhao, and Hong M Liu. Irreversible lsd1 inhibitors : application of tranylcypromine and its derivatives in cancer treatment. *Current topics in medicinal chemistry*, 16(19) :2179–2188, 2016.
- [16] Stephen J Capuzzi, Eugene N Muratov, and Alexander Tropsha. Phantom pains : Problems with the utility of alerts for p an-a ssay in terference compounds. *Journal of chemical information and modeling*, 57(3) :417–427, 2017.
- [17] Molinspiration Cheminformatics. Calculation of molecular properties and bioactivity score. *Computer software*]. Retrieved from <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>, 2018.

- [18] Yingwei Chen, Wen Jie, Weihui Yan, Kejun Zhou, and Yongtao Xiao. Lysine-specific histone demethylase 1 (Lsd1) : A potential molecular target for tumor therapy. *Critical Reviews<sup>TM</sup> in Eukaryotic Gene Expression*, 22(1), 2012.
- [19] Yong Chen, Yuting Yang, Feng Wang, Ke Wan, Kenichi Yamane, Yi Zhang, and Ming Lei. Crystal structure of human histone lysine-specific demethylase 1 (Lsd1). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(38) :13956–13961, 2006.
- [20] Abdelouahab Chikhi and Abderrahmane Bensegueni. Comparative study of the efficiency of three protein-ligand docking programs. *Journal of Proteomics and Bioinformatics*, 1 :161–165, 2008.
- [21] Gilles Cornaire, John F Woodley, and Georges Houin. Influence des transporteurs d’efflux sur le passage intestinal des médicaments. *Revue Française des Laboratoires*, 2002(339) :33–37, 2002.
- [22] Céline Courilleau-Labat. *Étude du rôle du remodelleur de la chromatine p400 dans la stabilité génomique*. PhD thesis, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2012.
- [23] Brian S Cummings. Phospholipase a2 as targets for anti-cancer drugs. *Biochemical pharmacology*, 74(7) :949–959, 2007.
- [24] Antoine Daina, Olivier Michielin, and Vincent Zoete. SwissADME : a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, 7 :42717, 2017.
- [25] Hélène Denis, Claire Davoine, Elisabeth Bermudez, Ghislain Grosjean, Mannon Schwager, Norbert Ifrah, Muriel Dahan, and Sophie Negellen. Les immunothérapies spécifiques dans le traitement des cancers. *Bulletin du Cancer*, 106(1) :37–47, 2019.
- [26] Li Di. The role of drug metabolizing enzymes in clearance. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 10(3) :379–393, 2014.
- [27] David J Diller and Rixin Li. Kinases, homology models, and high throughput docking. *Journal of medicinal chemistry*, 46(22) :4638–4647, 2003.

- [28] Stanislas Dorey. *Les logiciels de visualisation moléculaire dans l'enseignement des sciences de la vie : conceptions et usages*. PhD thesis, 2012.
- [29] PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE. *Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives*. PhD thesis, UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER, 2007.
- [30] Dina Duhovny, Ruth Nussinov, and Haim J Wolfson. Efficient unbound docking of rigid molecules. In *International workshop on algorithms in bioinformatics*, pages 185–200. Springer, 2002.
- [31] Charly Empereur-mot. *Development of statistical tools for the evaluation of virtual screening methods : predictiveness curves & Screening Explorer*. Theses, Conservatoire national des arts et metiers - CNAM, June 2017.
- [32] Peter Ertl and Ansgar Schuffenhauer. Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions. *Journal of cheminformatics*, 1(1) :8, 2009.
- [33] Farouk CHIBAT et Abdelaziz GUECHIRI. Contribution à la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase par docking moléculaire. In *Mémoire de master : Université des Frères Mentouri Constantine.2015*. 2015.
- [34] T. Evans and W.V. Lergerghe. Les soins de santé primaires. maintenant plus que jamais. In *Rapport sur la santé dans le monde, Bibliothèque de l'OMS (Organisation mondiale de la Santé), 2008*. 2008.
- [35] Yuan Fang, Chao Yang, Zhiqiang Yu, Xiaochuan Li, Qingchun Mu, Guochao Liao, and Bin Yu. Natural products as lsd1 inhibitors for cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2020.
- [36] Louacheni FARIDA. Développement d'un portail web pour le criblage virtuel sur la grille de calcul. In *Mémoire de Master : Institut de la Francophonie pour l'Informatique. vietnamien*. 2014.
- [37] Sébastien Faure. Pharmacothérapie pratique. *Actualites pharmaceutiques*, 49(496) :49–52, 2010.

- [38] Federico Forneris, Claudia Binda, Maria Antonietta Vanoni, Andrea Mattevi, and Elena Battaglioli. Histone demethylation catalysed by lsd1 is a flavin-dependent oxidative process. *FEBS letters*, 579(10) :2203–2207, 2005.
- [39] Charles T Foster, Oliver M Dovey, Larissa Lezina, Jin Li Luo, Timothy W Gant, Nick Barlev, Allan Bradley, and Shaun M Cowley. Lysine-specific demethylase 1 regulates the embryonic transcriptome and core stability. *Molecular and cellular biology*, 30(20) :4851–4863, 2010.
- [40] Simon Frantz. Pharma faces major challenges after a year of failures and heated battles, 2007.
- [41] Richard A Friesner, Jay L Banks, Robert B Murphy, Thomas A Halgren, Jasna J Klicic, Daniel T Mainz, Matthew P Repasky, Eric H Knoll, Mee Shelley, Jason K Perry, et al. Glide : a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. method and assessment of docking accuracy. *Journal of medicinal chemistry*, 47(7) :1739–1749, 2004.
- [42] Xiaoli Fu, Peng Zhang, and Bin Yu. Advances toward lsd1 inhibitors for cancer therapy. *Future Medicinal Chemistry*, 9(11) :1227–1242, 2017.
- [43] Michel Gérin, Pierre Gosselin, Sylvaine Cordier, Claude Viau, Philippe Quénel, and Éric Dewailly. *Environnement et santé publique : Fondements et pratiques*. Édisem/Tec & Doc, 2003.
- [44] Arup K Ghose, Vellarkad N Viswanadhan, and John J Wendoloski. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. a qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *Journal of combinatorial chemistry*, 1(1) :55–68, 1999.
- [45] Erik Gilberg, Dagmar Stumpfe, and Jürgen Bajorath. Activity profiles of analog series containing pan assay interference compounds. *RSC advances*, 7(57) :35638–35647, 2017.
- [46] Kristian Helin and Dashyant Dhanak. Chromatin proteins and modifications as drug targets. *Nature*, 502(7472) :480–488, 2013.

- [47] Shinjiro Hino, Kensaku Kohroggi, and Mitsuyoshi Nakao. Histone demethylase lsd1 controls the phenotypic plasticity of cancer cells. *Cancer science*, 107(9) :1187–1192, 2016.
- [48] Paul F Hollenberg. Characteristics and common properties of inhibitors, inducers, and activators of cyp enzymes. *Drug metabolism reviews*, 34(1-2) :17–35, 2002.
- [49] A. Houari. caractérisation épidémiogénétique de la population de tlemcen par le cancer du sein chez la femme jeune, étude familiale. In *Mémoire de master : Université Tlemcen ,2016*. 2016.
- [50] Kun Hu, Lichun Zhang, Xiangtang Li, and Shulin Zhao. Rapid screening of monoamine oxidase b inhibitors in natural extracts by capillary electrophoresis after enzymatic reaction at capillary inlet. *Journal of Chromatography B*, 878(30) :3156–3160, 2010.
- [51] Anne Imberty, Karl D Hardman, Jeremy P Carver, and Serge Perez. Molecular modelling of protein-carbohydrate interactions. docking of monosaccharides in the binding site of concanavalin a. *Glycobiology*, 1(6) :631–642, 1991.
- [52] Yukihiro Itoh, Daisuke Ogasawara, Yosuke Ota, Tamio Mizukami, and Takayoshi Suzuki. Synthesis, lsd1 inhibitory activity, and lsd1 binding model of optically pure lysine-pcpa conjugates. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 9(14) :e201402002, 2014.
- [53] Ajay N Jain. Surflex-dock 2.1 : robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *Journal of computer-aided molecular design*, 21(5) :281–306, 2007.
- [54] Ashwini Jambhekar, Jamie N Anastas, and Yang Shi. Histone lysine demethylase inhibitors. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 7(1) :a026484, 2017.
- [55] Panagiotis Karakaidos, John Verigos, and Angeliki Magklara. Lsd1/kdm1a, a gate-keeper of cancer stemness and a promising therapeutic target. *Cancers*, 11(12) :1821, 2019.

- [56] Douglas B Kitchen, Hélène Decornez, John R Furr, and Jürgen Bajorath. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery : methods and applications. *Nature reviews Drug discovery*, 3(11) :935–949, 2004.
- [57] Bernd Kramer, Matthias Rarey, and Thomas Lengauer. Evaluation of the flexx incremental construction algorithm for protein–ligand docking. *Proteins : Structure, Function, and Bioinformatics*, 37(2) :228–241, 1999.
- [58] Romano T Kroemer. Structure-based drug design : docking and scoring. *Current protein and peptide science*, 8(4) :312–328, 2007.
- [59] Roger Lacave, Christian Jacques Larsen, and Jacques Robert. *Cancérologie fondamentale*. John Libbey Eurotext, 2005.
- [60] Shawn M Lamothe, Jun Guo, Wentao Li, Tonghua Yang, and Shetuan Zhang. The human ether-a-go-go-related gene (herg) potassium channel represents an unusual target for protease-mediated damage. *Journal of Biological Chemistry*, 291(39) :20387–20401, 2016.
- [61] Hui Sun Lee, Sunhwan Jo, Hyun-Suk Lim, and Wonpil Im. Application of binding free energy calculations to prediction of binding modes and affinities of mdm2 and mdmx inhibitors. *Journal of chemical information and modeling*, 52(7) :1821–1832, 2012.
- [62] Soyoun Lim. *Lysine-specific histone demethylase 1 (LSD1) : A novel molecular target for tumor therapy*. PhD thesis, Universitäts-und Landesbibliothek Bonn, 2009.
- [63] Christopher A Lipinski, Franco Lombardo, Beryl W Dominy, and Paul J Feeney. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23(1-3) :3–25, 1997.
- [64] Kang-Sheng Liu, Tai-Ping Li, Hua Ton, Xiao-Dong Mao, and Ya-Jun Chen. Advances of long noncoding rnas-mediated regulation in reproduction. *Chinese medical journal*, 131(2) :226, 2018.
- [65] John S Lomas. *l’actualité chimique-france*, 1986.

- [66] Alba Maiques-Diaz and Tim CP Somervaille. Lsd1 : biologic roles and therapeutic targeting. *Epigenomics*, 8(8) :1103–1116, 2016.
- [67] Barbara Majello, Francesca Gorini, Carmen Daniela Saccà, and Stefano Amente. Expanding the role of the histone lysine-specific demethylase lsd1 in cancer. *Cancers*, 11(3) :324, 2019.
- [68] Michael Marmot, T Atinmo, T Byers, J Chen, T Hirohata, A Jackson, W James, L Kolonel, S Kumanyika, C Leitzmann, et al. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer : a global perspective. 2007.
- [69] Hong-Xing et Mezei Mihaly et Cui Meng Meng, Xuan-Yu et Zhang. Amarrage moléculaire : une approche puissante pour la découverte de médicaments basée sur la structure. *Conception actuelle de médicaments assistée par ordinateur*, 7 :146–157.
- [70] Jamel-Eddine Meslamani. *Développement de nouvelles méthodes de criblage in silico en chémogénomique*. PhD thesis, Strasbourg, 2012.
- [71] Helai P Mohammad, Kimberly N Smitheman, Chandrashekar D Kamat, David Soong, Kelly E Federowicz, Glenn S Van Aller, Jess L Schneck, Jeffrey D Carson, Yan Liu, Michael Butticello, et al. A dna hypomethylation signature predicts antitumor activity of lsd1 inhibitors in sclc. *Cancer cell*, 28(1) :57–69, 2015.
- [72] Aurélien Monge. *Design and use of optimized chemical databases for “ in silico ” research of new bioactive compounds*. Theses, Université d’Orléans, November 2006.
- [73] Aline Mongis. *Une nouvelle stratégie d’immunothérapie : cibler directement des immunostimulants à la surface des cellules tumorales par ligation bio-orthogonale*. PhD thesis, 2017.
- [74] Dimitri Moreau. *Étude de nouvelles cibles moléculaires de cancer bronchopulmonaire non à petites cellules pharmacomodulées par des substances originales naturelles et synthétiques*. PhD thesis, Université de Nantes, 2006.
- [75] Fidelis Toloyi Ndombera, Geoffrey KK Maiyoh, and Vivian C Tuei. Pharmacokinetic, physicochemical and medicinal properties of n-glycoside anti-cancer

- agent more potent than 2-deoxy-d-glucose in lung cancer cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7 :165–176, 2019.
- [76] Gerard JA Oliver. Opportunities for using fewer animals in acute toxicity studies. In *International Seminar : Chemicals Testing and Animal Welfare (Stockholm, Sweden : OECD, May 20-22, 1986)*, 1986.
- [77] Woon Ki Paik, Sangduk Kim, and In Kyoung Lim. Protein methylation and interaction with the antiproliferative gene, *btg2/tis21/pc3*. *Yonsei medical journal*, 55(2) :292–303, 2014.
- [78] SD Paramveer, KM Chanchal, Paresh Mavani, Rani Asha, B Shrivastava, Rajesh Kumar Nema, et al. Effective alternative methods of ld50 help to save number of experimental animals. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2(6) :450–453, 2010.
- [79] AL Péliissier, MP De Méo, A Botta, et al. Le test d’ames : Application aux urines de fumeurs. *La Revue de médecine interne*, 17(8) :635–639, 1996.
- [80] Rolando Perez-Pineiro, Asdrubal Burgos, Deuan C Jones, Lena C Andrew, Hortensia Rodriguez, Margarita Suarez, Alan H Fairlamb, and David S Wishart. Development of a novel virtual screening cascade protocol to identify potential trypanothione reductase inhibitors. *Journal of medicinal chemistry*, 52(6) :1670–1680, 2009.
- [81] Douglas EV Pires, Tom L Blundell, and David B Ascher. *pkcsm* : predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of medicinal chemistry*, 58(9) :4066–4072, 2015.
- [82] Russell O Potts and Richard H Guy. Predicting skin permeability. *Pharmaceutical research*, 9(5) :663–669, 1992.
- [83] Polina Prusevich, Jay H Kalin, Shonoi A Ming, Manuela Basso, Jeffrey Givens, Xin Li, Jianfei Hu, Martin S Taylor, Anne M Cieniewicz, Po-Yuan Hsiao, et al. A selective phenelzine analogue inhibitor of histone demethylase *lzd1*. *ACS chemical biology*, 9(6) :1284–1293, 2014.
- [84] Frederic M Richards. The protein folding problem. *Scientific American*, 264(1) :54–65, 1991.

- [85] Frank Samouelian, Valérie Gaudin, and Martine Boccara. *Génétique moléculaire des plantes*. Editions Quae, 2009.
- [86] Ketan T Savjani, Anuradha K Gajjar, and Jignasa K Savjani. Drug solubility : importance and enhancement techniques. *ISRN pharmaceutics*, 2012, 2012.
- [87] Bjorn Stemkens. *Motion management for MRI-guided abdominal radiotherapy*. PhD thesis, Utrecht University, 2017.
- [88] Deborah Tolmach Sugerman. Chemotherapy. *JAMA*, 310(2) :218–218, 07 2013.
- [89] Soumia Teniou and Abdellatif Bensegueni. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase i de cellules cancéreuses. 2011.
- [90] Eddy Thirirot. *Modeling of enzymatic recognition and catalysis : methodological developments and determination of class A Methionine Sulfoxide Reductases mechanism*. Theses, Université Henri Poincaré - Nancy 1, 2009.
- [91] Eddy Thirirot. *Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques : Développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Méthionine Sulfoxyde Réductases de classe A*. PhD thesis, Université Henri Poincaré-Nancy 1, 2009.
- [92] Paul M. Tulkens. Récepteurs et cibles moléculaires. Université d'Amobey-Calavi, Cotonou, Bénin. 2014.
- [93] Daniel F Veber, Stephen R Johnson, Hung-Yuan Cheng, Brian R Smith, Keith W Ward, and Kenneth D Kopple. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of medicinal chemistry*, 45(12) :2615–2623, 2002.
- [94] Santiago Vilar, Giorgio Cozza, and Stefano Moro. Medicinal chemistry and the molecular operating environment (moe) : application of qsar and molecular docking to drug discovery. *Current topics in medicinal chemistry*, 8(18) :1555–1572, 2008.
- [95] Giulio Vistoli, Alessandro Pedretti, and Bernard Testa. Assessing drug-likeness—what are we missing? *Drug discovery today*, 13(7-8) :285–294, 2008.

- [96] Donald Voet, Judith G Voet, and Peter N Campbell. Biochemistry (2nd edn). *Trends in Biochemical Sciences*, 20(8) :330, 1995.
- [97] Junmei Wang, Romain M Wolf, James W Caldwell, Peter A Kollman, and David A Case. Development and testing of a general amber force field. *Journal of computational chemistry*, 25(9) :1157–1174, 2004.
- [98] Renxiao Wang, Xueliang Fang, Yipin Lu, Chao-Yie Yang, and Shaomeng Wang. The pdbind database : methodologies and updates. *Journal of medicinal chemistry*, 48(12) :4111–4119, 2005.
- [99] Shuai Wang, Li-Jie Zhao, Yi-Chao Zheng, Dan-Dan Shen, Er-Fei Miao, Xue-Peng Qiao, Li-Juan Zhao, Ying Liu, Ruilei Huang, Bin Yu, et al. Design, synthesis and biological evaluation of [1, 2, 4] triazolo [1, 5-a] pyrimidines as potent lysine specific demethylase 1 (lsd1/kdm1a) inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*, 125 :940–951, 2017.
- [100] Gregory L Warren, C Webster Andrews, Anna-Maria Capelli, Brian Clarke, Judith LaLonde, Millard H Lambert, Mika Lindvall, Neysa Nevins, Simon F Semus, Stefan Senger, et al. A critical assessment of docking programs and scoring functions. *Journal of medicinal chemistry*, 49(20) :5912–5931, 2006.
- [101] Mitsuhiro Yamada and Hajime Yasuhara. Clinical pharmacology of mao inhibitors : safety and future. *Neurotoxicology*, 25(1-2) :215–221, 2004.
- [102] Guan-Jun Yang, Pui-Man Lei, Suk-Yu Wong, Dik-Lung Ma, and Chung-Hang Leung. Pharmacological inhibition of lsd1 for cancer treatment. *Molecules*, 23(12) :3194, 2018.
- [103] Hongbin Yang, Lixia Sun, Weihua Li, Guixia Liu, and Yun Tang. In silico prediction of chemical toxicity for drug design using machine learning methods and structural alerts. *Frontiers in chemistry*, 6 :30, 2018.
- [104] Yi-Chao Zheng, Jinlian Ma, Zhiru Wang, Jinfeng Li, Bailing Jiang, Wenjuan Zhou, Xiaojing Shi, Xixin Wang, Wen Zhao, and Hong-Min Liu. A systematic review of histone lysine-specific demethylase 1 and its inhibitors. *Medicinal research reviews*, 35(5) :1032–1071, 2015.

- [105] Yi-Chao Zheng, Dan-Dan Shen, Meng Ren, Xue-Qi Liu, Zhi-Ru Wang, Ying Liu, Qian-Na Zhang, Li-Juan Zhao, Li-Jie Zhao, Jin-Lian Ma, et al. Baicalin, a natural lsd1 inhibitor. *Bioorganic chemistry*, 69 :129–131, 2016.