



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département : Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie moléculaire et santé

Intitulé :

**Recherche de nouveaux inhibiteurs  
d'Escherichia.coli undecaprenyl pyrophosphate  
synthase par la méthode du docking moléculaire**

Présenté et soutenu par : GUERFI Wahida  
CHERIFI Meriem

Le : 20 /06 /2016

**Jury d'évaluation :**

**Rapporteur : Mr. CHIKHI A.** Professeur (UFM Constantine)

**Président du jury : Mr. MOKRANI H.** Maître assistant (A - UFM Constantine)

**Examineur : Mme. TENIOU S.** Maître assistante (A - UFM Constantine)

**Année universitaire**

**2015-2016**

## Remerciement

*Tout d'abord, merci beaucoup DIEU de nous donner la patience et la force et le courage pour compléter ce travail.*

*Je tiens tout d'abord à remercier :*

- *Monsieur CHIKHI Abdouahab, professeur à l'université des frères Mentouri Constantine, pour son aide, ses orientations judicieuses et sa disponibilité.*

*Les membres de jury*

- *Monsieur MOKRANI EL hassen Maître assistant A à l'université des frères Mentouri Constantine, qui a bien voulu présider ce jury.*
- *Madame TENIO Soumia, Maître assistant A à l'université des frères Mentouri Constantine, d'avoir d'accepter de juger ce travail.*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude à tous ceux qui étaient à nos côtés au cours de cette expérience.*

*GUERFI Wahida*

*CHERIFI Meriem*

## *Dédicace*

*Merci ALLAH de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire « Ya Kayoum ».*

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère et mon père.*

*À mon fiancé qui m'a encouragé, qui m'a donné la force et la volonté de surmonter les obstacles*

*Je dédie aussi ce travail à mes sœurs et mon frère*

*À tous mes amis.*

*À toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

*Guerfi wahida*

# DEDICACE

*Ma première gratitude va au tout-puissant ALLAH (الله), le  
créateur du tous, pour me donner la vie, le bénédicité et la force  
pour accomplir ce travail.*

*A mes très chers parents Leila et Kamel qui nous guident, aident,  
protègent, sacrifiés pour nous, et qui nous a permis atteindre  
le bout de chemin, si nous sommes arrivée  
là ces grâce à vous.*

*Que dieu doit satisfait de vous et vous donne longue et heureuse vie.*

*A mes très cher frères .*

*A mes très cher sœurs .*

*A ma grande mère que dieu la garde .*

*A tous ma famille maternelles.*

*A Tous ceux qui me sont chers*

*wahiba , linda , ouadia , chanez , kenza*

**CHERIFI Meriem**

<b>Figure 1:</b> Système urinaire .....	<b>8</b>
<b>Figure 2:</b> Antibiogramme E.coli .....	<b>9</b>
<b>Figure 3:</b> Escherichia coli.....	<b>11</b>
<b>Figure 4:</b> Photo d'une E. coli en microscope électronique .....	<b>11</b>
<b>Figure 5:</b> Structure d'E. coli undecaprenyl pyrophosphate synthase .....	<b>14</b>
<b>Figure 6:</b> Les forces de van der Waals.....	<b>18</b>
<b>Figure 7:</b> La liaison hydrogène .....	<b>18</b>
<b>Figure 8:</b> Interactions hydrophobe.....	<b>19</b>
<b>Figure 9:</b> Les interactions protéine-ligand .....	<b>19</b>
<b>Figure 10:</b> Les étapes de docking moléculaire .....	<b>20</b>
<b>Figure 11:</b> Résultat du docking par Surflex .....	<b>24</b>
<b>Figure 12:</b> Résultats en % obtenus par Surflex à deux intervalles de RMSD (Å).....	<b>28</b>
<b>Figure 13:</b> La superposition du final-0 (bleu) et du ligand de référence (jaune) de complexe 4I32. ....	<b>29</b>
<b>Figure 14:</b> La superposition du final-0 (bleu) et du ligand de référence (jaune) de complexe 3DDD .....	<b>29</b>
<b>Figure 15:</b> La superposition du final-0 (bleu) et du ligand de référence (jaune) de complexe 2EVO. ....	<b>30</b>
<b>Figure 16:</b> La formule chimique développée de 53Q .....	<b>31</b>
<b>Figure 17:</b> La position du ligand (53q) dans le site actif de l'enzyme .....	<b>31</b>
<b>Figure 18:</b> Le cadre du code « Molinspiration » .....	<b>32</b>
<b>Figure 19:</b> Interactions entre le ligand 53Q et les acides aminés du site actif .....	<b>34</b>
<b>Figure 20:</b> Interactions entre le final-0 du similaire CID_15819119 et les acides aminés du site actif de l'enzyme .....	<b>35</b>
<b>Figure 21:</b> Interactions entre le final-0 du similaire CID_11771109 et les acides aminés du site actif de l'enzyme .....	<b>36</b>
<b>Figure 22:</b> Interactions entre le final-0 du similaire CID_5702023 et les acides aminés du site actif de l'enzyme .....	<b>37</b>

<b>Tableau 1:</b> Les caractéristiques du complexe 5CQJ.....	<b>33</b>
<b>Tableau 2:</b> Les meilleurs inhibiteurs proposés.....	<b>35</b>
<b>Tableau 3:</b> Critères de la règle de Lipinski pour les différents inhibiteurs .....	<b>36</b>
<b>Tableau 4:</b> Les interactions hydrophobiques entre les acides aminés et le ligand 53Q .....	<b>37</b>
<b>Tableau 5:</b> Les différentes interactions entre les acides aminés et final-0 du similaire CID_15819119.....	<b>38</b>
<b>Tableau 6:</b> Les interactions hydrophobiques entre les acides aminés et final-0 du similaire CID_11771109.....	<b>39</b>
<b>Tableau 7:</b> Les interactions hydrophobiques entre les acides aminés et final-0 du similaire CID_5702023.....	<b>40</b>

**3D** : Trois dimensions

**Å** : angström

**ADME/Tox** : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et de Toxicité

**CID** : Code identifiant

**DM** : Dispositifs médicaux

**E.coli** : Esherichia.coli

**E.coli UPPs** : E. coli undecaprenyl pyrophosphate synthase

**ECBU** : Examen Cyto-Bactériologique des Urines

**FPP** : Farnésyle pyrophosphate

**IST**: Infection sexuellement transmissible

**Ki** : Constante d'inhibition

**logP** : Le coefficient de partition Eau/Octanol

**NCBI**: National Center for Biotechnology Information

**NIH**: National Institutes of Health

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**UPP** : Undecaprenyl pyrophosphate

**PDB**: Protein Data Bank

**RMSD** : Root mean square deviation

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

**R** : Constante des gaz

**T** : Température (K)

## Table des matières

### Liste des Figures

### Liste des Tableaux

### Liste des Abréviations

Introduction.....	4
CHAPITRE I : Revue bibliographique .....	7
I. LES INFECTIONS URINAIRES.....	8
Généralités .....	8
1. Définition des infections urinaires.....	8
2. Classification.....	8
2.1 Infections urinaires simples .....	8
2.2 Infections urinaires compliquées.....	9
3. Les différents types d'infections urinaires .....	9
3.1 La cystite .....	9
3.2 L'urétrite.....	9
3.3 La prostatite .....	10
3.4 La pyélonéphrite .....	10
4. Etiologie.....	10
4.1 Les bacilles Gram négatif .....	10
4.2 Les bacilles Gram positif .....	10
5. Physiopathologie .....	11
5.1 La voie ascendante .....	11
5.2 La voie hématogène .....	11
5.3 La voie lymphatique .....	11
6. Diagnostic bactériologique .....	11
6.1 Bandelette urinaire.....	11
6.2 Examen Cyto-Bactériologique des Urines (ECBU) .....	11
6.3 Antibiogramme.....	12
7. Traitement d'infection urinaire .....	12
7.1 Antibiothérapie.....	12
7.2 Phagothérapie .....	13
II. ESHERICHIA. COLI .....	13
Introduction .....	13
1. Définition d'Escherichia coli .....	13



2.	Habitat.....	15
3.	Caractères morphologiques et culturels .....	15
4.	Pouvoir pathogène naturel.....	15
5.	Mode de transmission .....	15
5.1	Transmission alimentaire: .....	15
5.2	Transmission par le contact direct avec les animaux de ferme et leur environnement ...	16
5.3	Transmission inter-humaine.....	16
5.4	Transmission hydrique.....	16
6.	Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	16
III.	Escherichia .coli undecaprenyl pyrophosphate synthase .....	16
	Généralités .....	16
1.	Definition d'Escherichia.coli undecaprenyl pyrophosphate synthase.....	17
2.	Réaction chimique de l'enzyme :.....	17
	CHAPITRE II : Le docking moléculaire.....	19
	Introduction .....	20
1.	Les interactions intermoléculaires.....	20
1.1	Les forces de van der waals .....	20
1.2	La liaison hydrogène.....	21
1.3	L'effet hydrophobe .....	21
1.	Les interactions entre le ligand et le récepteur .....	22
2.	Le docking moléculaire .....	23
2.1	Principe théorique .....	23
2.1	Le scoring.....	23
3.	Le programme surflex-dock.....	24
	CHAPITRE III : Matériel et méthodes.....	25
1.	La banque de données protéiques .....	26
2.	Pubchem .....	26
3.	Préparation des molécules a l'arrimage .....	26
4.	Programmes utilisés : .....	26
4.1.	Surflex.....	26
4.1.2	Les différentes étapes de docking .....	26
4.	MSViewer (4.2).....	27
5.	Open Babel .....	27

6.	Evaluation des programmes de docking.....	27
6.1	RMSD (root mean square deviation .....	27
7.	Choix du complexe 5CQJ : .....	28
8.	Règle de christopher a. lipinski (1997) .....	28
9.	Calcul des interactions « enzyme- similaires » .....	28
9.1	Les étapes de la préparation .....	28
8.2	La visualisation des liaisons hydrogène établies entre le ligand et les acides aminés du site actif	29
CHAPITRE IV :Résultats et discussion .....		30
1.	Test de fiabilité du programme surflex :.....	31
2.	Choix du complexe 5CQJ : .....	33
3.	Inhibition d'E.coli undecaprenyl pyrophosphate synthase par les similaires du 53Q.....	35
4.	Règle de lipinski :.....	35
5.	Etude des interactions de l'enzyme avec Les différents similaires proposés :.....	36
Conclusion et perspectives.....		41

---

## *Introduction*

---

## ***Introduction***

L'intérêt porté ces dernières années aux infections urinaires et leur prise en charge en thérapie anti-infectieuse restent encore d'actualité, ces infections constituent un véritable problème de santé publique tant par leur fréquence que par la difficulté de traitement.

Les infections urinaires sont les infections bactériennes les plus fréquentes quelque soit l'âge, La fréquence augmente progressivement avec l'âge, entre 20 et 50 ans, les infections bactériennes sont 50 fois plus fréquentes chez la femme, mais après 50 ans l'incidence chez l'homme augmente nettement du fait de l'augmentation des maladies prostatiques donc seulement 1/3 chez les sujets âgés.

De nombreux micro-organismes peuvent infecter les voies urinaires mais les agents les plus fréquents sont : *Escherichia coli* qui est majoritaire (70-95%), *les staphylocoques* (5%) et d'autres germes comme : *Klebsiella*, *Proteus* etc... [1].

*Escherichia coli* undecaprenyl pyrophosphate synthase, une enzyme qui catalyse la formation du support lipidique, élément essentiel pour la biosynthèse du peptidoglycane bactérien, constitue une cible intéressante pour développer de nouveaux antibiotiques car elle est essentielle à la survie de la bactérie *Escherichia coli*.

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. Connaître la façon dont les protéines interagissent avec d'autres entités biochimiques est une étape essentielle pour comprendre les processus biologiques dans lesquels elles sont impliquées [2].

La technologie a découvert le docking moléculaire *in silico* qui vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales classiques.

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée.

Les interactions entre molécules sont à la base de la plupart des mécanismes biologiques. 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) [3].

L'objectif de notre travail est, dans un premier temps, de tester la fiabilité du programme Surflex utilisé dans cette étude pour examiner les interactions protéine ligand et dans l'étape suivante, d'étudier l'inhibition d'*Escherichia coli* undecaprenyl pyrophosphate synthase par la méthode du docking moléculaire. Nous nous intéressons à déterminer le mode d'interaction, lors de la fixation de l'inhibiteur à l'enzyme durant la formation du complexe E.coliUPPs-inhibiteur avec une meilleure complémentarité par le calcul de l'affinité du complexe formé. Le composé qui aura la plus grande affinité est celui qui présentera la meilleure activité et par la suite une meilleure inhibition. Ces résultats aideront probablement au développement d'un outil thérapeutique efficace pour lutter contre le développement des infections urinaires.

Notre travail est divisé en deux grandes parties :

- Une partie théorique composée de deux chapitres : le premier chapitre comprend trois parties : des généralités sur les infections urinaires, sur la bactérie impliquée (*Escherichia.coli*) et le rôle de l'enzyme *Escherichia coli* undecaprenyl pyrophosphate synthase tandis que le deuxième chapitre nous éclaire sur l'apport de la modélisation moléculaire dans l'étude des interactions protéine- ligand.
- Une partie pratique avec deux chapitres : dans le premier chapitre nous présentons le matériel et les différentes méthodes utilisés dans cette étude, le second chapitre expose l'essentiel de nos résultats et une discussion.

Enfin, nous terminons ce mémoire par une conclusion et quelques perspectives.

---

*CHAPITRE I : Revue bibliographique*

---

---

## **I. LES INFECTIONS URINAIRES**

### **Généralités**

L'infection urinaire est une pathologie, qui constitue un vrai problème de santé publique, elle est située en seconde position après les infections respiratoires. Les infections urinaires sont une des causes les plus fréquentes d'infections bactériennes. La prévalence de la maladie dépend de multiples facteurs, notamment l'âge et du sexe.

La plupart des patients touchés par l'infection urinaires sont des personnes âgées et en particulier les femmes quel que soit leurs âges.

Le traitement de cette dernière a peu changé depuis plusieurs années. Toutefois l'émergence de résistances et l'augmentation de la population à risque d'infections constituent de nouveaux défis pour les chercheurs [4].

Depuis plusieurs années, l'émergence des anti-biorésistances des entérobactéries représente un problème de santé publique préoccupant et une urgence absolue.

Une meilleure connaissance de l'épidémiologie de la résistance permettra d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients [5].

### **1. Définition des infections urinaires**

Chez le sujet normal, les urines sont stériles. L'infection urinaire est un fait pathologique elle est définie par la présence dans l'urine d'un germe à une concentration supérieure à  $10^5$  par ml.

Cette bactériurie est, sauf exception, accompagnée d'une augmentation de la leucocyturie et parfois associée à des signes cliniques d'infection urinaire haute ou basse. [6]

Les principaux signes d'une infection urinaire sont :

- Brûlures mictionnelles
- Douleurs pelviennes ou lombaires
- Hyperthermie
- Urine trouble, foncée, nauséabonde

### **2. Classification**

On peut classer les infections urinaires comme suit :

#### **2.1 Infections urinaires simples**

Seules peuvent être qualifiées de simples, les infections urinaires de la femme n'ayant aucun terrain particulier, aucune maladie associée et aucune anomalie organique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire. Les infections urinaires simples sont :

- Cystite simple chez la femme non ménopausée, non enceinte
- Pyélonéphrite aiguë chez la femme non enceinte
- Infections urinaires récidivantes de la femme

## **2.2 Infections urinaires compliquées**

Il s'agit d'une infection urinaire survenant chez un patient ayant au moins un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe.

Les infections urinaires compliquées touchent surtout :

- Les femmes enceintes
- Les personnes atteintes du diabète, immunosuppression, insuffisance rénale.
- Les personnes atteintes d'infection nosocomiale, antibiothérapie récente.
- Les patients récemment opérés

## **3. Les différents types d'infections urinaires**

Et selon la localisation de l'infection, on distingue quatre types d'infections urinaires

### **3.1 La cystite**

La cystite est une inflammation aigüe ou chronique de la vessie se caractérise par l'existence de brûleurs mictionnelles, d'une pollakiurie intense et d'une pyurie, symptômes qui témoignent de la présence de germes pathogènes dans l'urine vésicale.

- **Cystite aigüe simple**

Infection douloureuse de la vessie. C'est une infection bactérienne (50% des cas) particulièrement chez les femmes entre 15 et 65 ans, sans facteur de risque, épisode isolé, en dehors de la grossesse, en absence de diabète, sans insuffisance rénale, sans anomalie de l'appareil urinaire et sans intervention endoscopique récente. Le diagnostic de cystite simple est clinique' ECBU est inutile.

- **Cystite compliquée**

Par définition, ces cystites surviennent dans un contexte favorisant : geste chirurgical ou endoscopique, résidu vésical par obstacle ou dysfonctionnement,... etc.

Les principaux signes de la cystite est :

- Irritatifs : brûleurs mictionnels, pollakiurie, impériosités
- Obstructifs : dysurie.
- Douleur sous-pubienne
- Urines troubles (purée de pois), parfois hématurie (terminale)
- Absence de fièvre et de douleurs lombaires
- Absence de syndrome inflammatoire (bilan non réalisé en routine)

### **3.2 L'urétrite**

L'urétrite touche uniquement l'urètre. Il s'agit d'une Infection Sexuellement Transmissible (IST) courante chez les hommes, mais les femmes peuvent aussi en souffrir, différents agents infectieux peuvent causer l'urétrite. Les plus communs sont la Chlamydia et le Gonocoque  
Les principaux signes



- Dysurie avec brûlures mictionnelles
- Écoulement urétral.
- Parfois une hématurie typiquement initiale

### 3.3 La prostatite

Infection aigue ou chronique de la prostate. Une prostatite est une infection génito-urinaire (Infection du parenchyme prostatique due à la présence de microbes et à une inflammation importante de la prostate), fréquente affectant les hommes de tout âge, avec une fréquence particulière chez les jeunes adultes.

Signes et symptômes :

- Polykiurie
- Brûlures mictionnelles
- Pyurie
- Fièvre (39-40°C), pseudo grippale

### 3.4 La pyélonéphrite

Elle se définit par une inflammation aigue calcielle, pyélo-urétrale et parenchymateuse rénale d'origine bactérienne. Cette infection atteint donc non seulement la voie excrétrice et les cavités intra-rénales, mais également le parenchyme rénal voisin. Elle présente des Signes et les symptômes suivant:

- Fièvre et frissons
- Douleurs lombo-abdominales
- Pyurie avec urines troubles

## 4. Etiologie

Les micro-organismes retrouvés le plus fréquemment chez les patients présentant une infection urinaire sont décrits comme uropathogènes .Ceci inclut

### 4.1 Les bacilles Gram négatif

La plupart des infections du tractus urinaire sont dues à la propagation Par voie ascendante des bactéries d'origine intestinale d'où la prédominance des Entérobactéries au sein desquels. :

- *Escherichia-coli* est le plus souvent mis en cause 70 à 95 %.
- *Entérobacter (Enterobactercloacae, Enterobacteraerogenes,...)*
- *Klebsiella*

### 4.2 Les bacilles Gram positif

- *Staphylocoque*
- *Streptocoque*

## 5. Physiopathologie

Les microorganismes atteignent l'appareil urinaire par différentes voies de pénétration des bactéries.

### 5.1 La voie ascendante

Elle est la voie habituelle. Les germes pénètrent dans l'urine, arrivent dans la vessie, Puis en cas de reflux vésico-rénal, envahissent les voies urinaires hautes (urètre, rein). Ces bactéries proviennent de la flore cutanée vulvaire vaginale, périnéale ou Fécale [7].

### 5.2 La voie hématogène

Les germes diffusent à partir d'un foyer infectieux existant et parviennent au rein la vessie par voie sanguine. Cette voie de pénétration est plus rare et se produit s'il existe des lésions au niveau du parenchyme rénal ou de la paroi vésicale. Les infections de cette voie sont rencontrées au cours des maladies chroniques (Tuberculose urinaire).

### 5.3 La voie lymphatique

Elle est contestée. Les germes intestinaux traverseraient les anastomoses entre le colon et le rein droit [8].

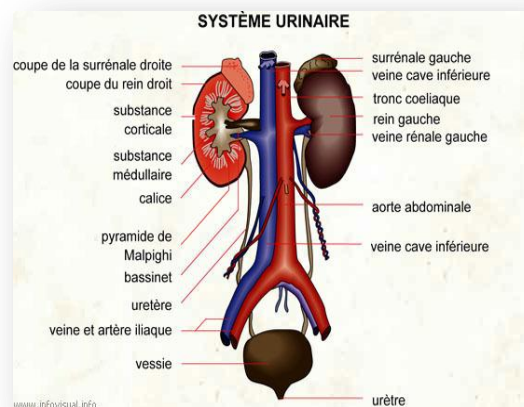


Figure 1: Système urinaire

## 6. Diagnostic bactériologique

### 6.1 Bandelette urinaire

La bandelette urinaire est une méthode d'analyse biologique instantanée des urines qui sont mises en contact avec des réactifs spécifiques. Elles permettent notamment de détecter de manière qualitative la présence de leucocytes et de nitrites dans les urines [9].

### 6.2 Examen Cyto-Bactériologique des Urines (ECBU)

L'objectif de l'ECBU est de mettre en évidence des signes d'inflammation de l'arbre urinaire (traduit par la leucocyturie), de quantifier puis d'identifier éventuellement le ou

Parfois les micro-organismes pathogènes.

### 6.3 Antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus. La souche est déclarée sensible intermédiaire ou résistante un antibiogramme est systématiquement associé à l'ECBU.

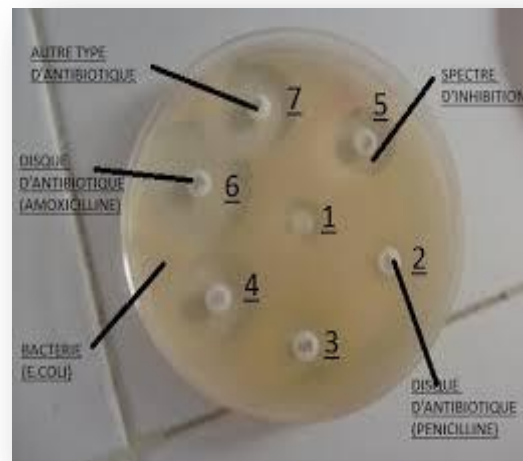


Figure 2: Antibiogramme E.coli

## 7. Traitement d'infection urinaire

### 7.1 Antibiothérapie

L'antibiothérapie est le moyen thérapeutique, pour le traitement d'une infection urinaire en utilisant un ou plusieurs médicaments anti-infectieux, appartenant à la classe des antibiotiques, et dont l'activité s'exerce contre les bactéries à l'origine de cette infection. Après réalisation d'un ECBU, l'antibiothérapie est indispensable [10].

De nombreux antibiotiques ont une excellente diffusion urinaire. Leur pénétration tissulaire est cependant variable. Lorsque la bactérie est normalement sensible, une monothérapie est recommandée, Il existe deux types d'antibiothérapie :

L'antibioprophylaxie et l'antibiothérapie curative.

L'antibioprophylaxie ou l'antibiothérapie préventive, n'est qu'une des méthodes à côté de toutes les mesures d'hygiène pour prévenir une infection urinaire. Après confirmation que l'ECBU est positif, un ou plusieurs antibiotiques peuvent être prescrits pour la personne malade.

L'antibiothérapie curative est réalisée lorsque l'antibioprophylaxie s'avère insuffisante, dans ce cas l'acte chirurgical est nécessaire [11].

## 7.2 Phagothérapie

La phagothérapie est une technique très efficace, qui consiste en l'utilisation de bactériophages préalablement sélectionnés pour traiter divers infection bactériennes. Relativement méconnue dans la médecine occidentale mais très utilisée en Europe [12].

En 2011, face à l'augmentation des infections nosocomiales et de la résistance des microorganismes aux antibiotiques habituels, et la carence en nouvelles molécules thérapeutiques, des recherches encouragées par l'OMS ont été entreprise. Les premiers Résultats ont montré que les bactériophages avaient effet sur les infections urinaires, cette méthode améliore notamment l'action des antibiotique [13].

Cette ancienne thérapie, dite phagothérapie, suscite de nouveaux espoirs en tant que traitement complémentaire des antibiotiques dans certaines infections à bactéries multi-résistantes [14].

## II. ESHERICHIA. COLI

### Introduction

C'est en 1885 que la bactérie *Escherichia coli* est décrite pour la premier fois dans des selles de nourrissons, par l'Allemand Theodor Esherich. Toutefois son nom actuel lui est donné en 1919 par Castellani et chambres. Le genre appartient à la famille des *Enterbacteriaceae*, qui doit son nom à leur isolement fréquent du tube digestif et/ou des fèces des mammifères [15]. Les entérobactéries sont une vaste famille de bactéries qui sont rencontrées tous les jours en bactériologies médicale.

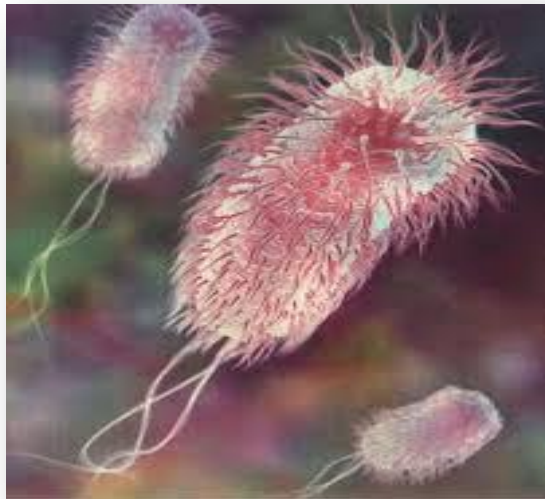
Le terme *Enterbacteriaceae* vient de deux mots grecs : Enteron (intestin) et baktéron (petite baton), il signifie bacille intestinaux [16].

*E. coli* est une bactérie généralement commensale, mais certaines souches peuvent être ou devenir pathogène et vont alors entrainer des gastro-entérites, des infections urinaires, des méningites et même des septicémies [17].

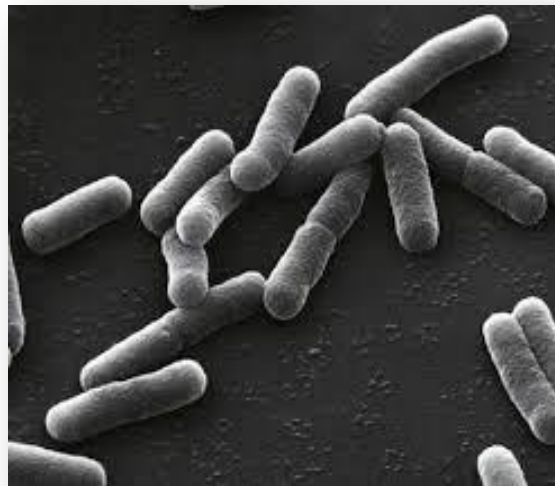
### 1. Définition d'*Escherichia coli*

*Escherichia coli* est un bacille gram négatif de la famille des *enterobacteriaceae*, représentant un grand groupe hétérogène de bactéries dont l'habitat est le tractus intestinale des humains et des animaux.

*E.coli* est la bactérie la mieux étudiée et le microorganisme expérimentales de choix pour beaucoup de microbiologistes cette bactérie majeure de colon des humains et des animaux à sang chaud est très utile pour l'analyse de la contamination fécale .Par ailleurs, C'est la bactérie la plus fréquemment impliqué dans les infections urinaires.



**Figure 3:**Escherichia coli



**Figure 4:** Photo d'une E. coli en microscope électronique

## **2. Habitat**

Les E.coli sont des hôtes normaux de l'intestin. Ils représentent près de 80 % de la flore intestinale aérobie de l'adulte. On peut les retrouver également au niveau de diverses muqueuses chez l'homme et chez les animaux. Leur présence dans le milieu environnement ou dans les aliments signe une contamination fécale.

## **3. Caractères morphologiques et culturels**

Ce sont des entérobactéries donc des bacilles à Gram négatif qui suivant les souches sont mobiles ou immobiles, parfois capsulés. Ils poussent sur milieu ordinaire dans de large écart de température et de PH, en aérobie comme en anaérobie

## **4. Pouvoir pathogène naturel**

En médecine humaine E. coli peuvent être de banaux commensaux ou d'indiscutable agent pathogène. Ils peuvent donner lieu à divers types d'infections.

- Infection urinaire  
E.coli représente à lui seul l'agent responsable de la très grande majorité de cas infection urinaire spontané ou après instrumentation.
- Septicémie  
Les E.coli sont isolés dans 20 % des septicémies et représentent 45 % des septicémies dues au bacille Gram négatif. Elles sont secondaires les plus souvent à un foyer infectieux urinaire, biliaire, intestinale,...etc.
- Méningite  
Rare ; elle survient surtout chez le nourrisson mais elles sont souvent graves.
- Infection hépato-biliaire ou digestive.  
Les E.coli sont isolés lors de cholecystite aiguë ou chronique d'ictère infectieux.
- Infection génitale  
Ils sont responsables d'urétrite, de prostatite, de salpingite, de vaginite.

## **5. Mode de transmission**

### **5.1 Transmission alimentaire:**

Les produits carnés sont à l'origine d'un grand nombre d'infection à Escherichia coli. La viande de bœuf constitue la source majeure de contamination suite principalement à une cuisson insuffisante .La viande d'autres animaux de boucherie, ou de volailles a également été mise en cause.

- Le lait et les produits laitiers non pasteurisés ont également été à l'origine d'épidémie
- Les fruits et légumes crus (salade, radis, épinards, oignons...)

## **5.2 Transmission par le contact direct avec les animaux de ferme et leur environnement**

La transmission d'*Escherichia coli* se fait par un contact direct ou indirect avec des animaux de ferme ou leurs déjections.

## **5.3 Transmission inter-humaine**

La majorité des cas résulte d'une contamination indirecte mise en évidence chez les personnes en contact avec les malades. De plus cette transmission est d'autant plus importante lorsque l'hygiène générale est mauvaise et que les contacts sont étroits.

## **5.4 Transmission hydrique**

Les épidémies d'origine hydrique sont généralement associées à la consommation d'eau de boisson ou à l'ingestion accidentelle d'eau lors de baignade.

## **6. Résistance bactérienne aux antibiotiques**

La résistance bactérienne est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes et la dissémination des souches multi-résistantes. Trois mécanismes principaux sont responsables de la résistance aux antibiotiques [18] :

- Modification de la cible des antibiotiques.
- Synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques.
- Diminution de la perméabilité bactérienne aux antibiotiques

### **III. *Escherichia coli* undecaprenyl pyrophosphate synthase**

#### **Généralités**

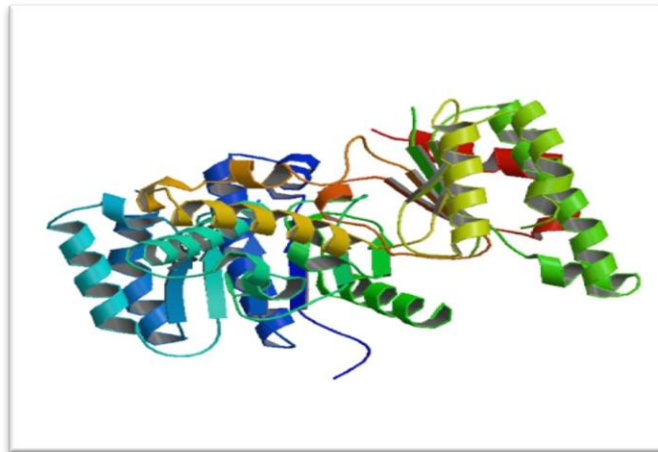
La biosynthèse des bactéries du peptidoglycane de la paroi cellulaire est un processus complexe qui fait intervenir de nombreuses étapes qui ont lieu dans le cytoplasme (synthèse des précurseurs de nucléotides) et sur les côtés interne et externe de la membrane cytoplasmique (assemblage et la polymérisation de l'unité monomère disaccharide-peptide, Srespectivement).

Ce procédé nécessite un enzyme essentiel '*Escherichia coli* undecaprenyl pyrophosphate synthase'

Cette enzyme ainsi que toutes les enzymes participant à la synthèse du peptidoglycane sont essentiels, spécifiques pour le monde bactérien et constituent donc des cibles potentielles intéressantes à exploiter pour la découverte de nouveaux antibactériens, pour une thérapie efficace contre les infections urinaires et permettra de limiter le développement de la résistance [19].

## 1. Définition d'Escherichia.coli undecaprenyl pyrophosphate synthase

Dans la voie de synthèse de la paroi cellulaire, E.cUPPs est un cis-prényltransférase qui catalyse les réactions de condensation consécutives d'un farnésyle pyrophosphate (FPP) avec huit pyrophosphates isopentényle (IPP), UPP (undecaprenyl pyrophosphate) est un lipide essentiel présent dans la membrane cellulaire bactérienne qui joue un rôle central dans la biosynthèse des différents composants de la paroi cellulaire, tels que le peptidoglycane, et le groupement O-antigène de lipopolysaccharide [20, 21]. En effet, il agit comme un support d'ancrage à la membrane pour le sucre et la construction de la chaîne glycanique de ces composants de l'enveloppe cellulaire.



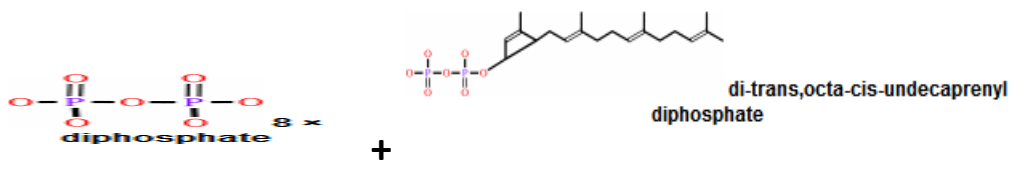
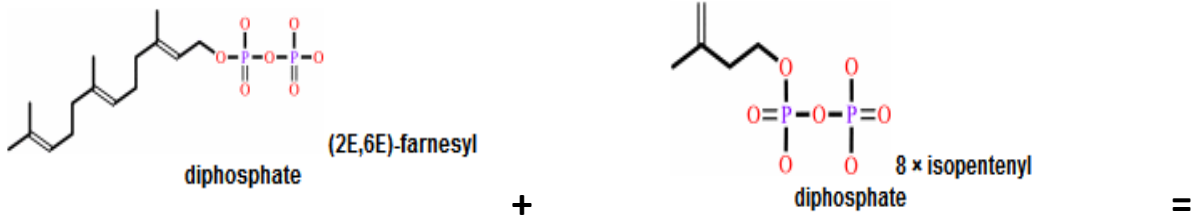
**Figure 5:** Structure d'E. coli undecaprenyl pyrophosphate synthase

## 2. Réaction chimique de l'enzyme :

**Nom de l'enzyme :** ditrans, polycis-undecaprenyl-diphosphatesynthase [(2E,6E)-farnesyl-diphosphatespecific[22] .

**Reaction:** (2E,6E)-farnesyldiphosphate + 8 isopentenyldiphosphate = 8 diphosphate + di-trans,octa-cis-undecaprenyldiphosphate





---

## ***CHAPITRE II : Le docking moléculaire***

---

## Chapitre II Le docking moléculaire

### Introduction

Les interactions entre molécules sont à la base de la plupart des mécanismes biologiques. 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 *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en oeuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales *in vitro*.

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, Car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [23].

### 1. Les interactions intermoléculaires

Les molécules organiques sont capables de s'auto associer les unes aux autres grâce à plusieurs types de liaisons faibles, dont les forces électrostatiques, les forces de van der Waals, les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes. Les associations sont dues aux propriétés chimiques, électroniques, et géométriques des molécules. A l'inverse des liaisons covalentes, les liaisons faibles permettent une grande flexibilité et plasticité des macromolécules (protéine, enzymes, complexes protéine-ligand ou protéine- protéine).

Les interactions qui stabilisent les structures tridimensionnelles des macromolécules sont:[24,25]

#### 1.1 Les forces de van der waals

Ces forces résultent de l'interaction des nuages électroniques d'atomes ou de molécules proches les uns des autres (figure.6). Pour des atomes distants de 3-4 Å, l'énergie de liaison est seulement comprise entre 0.4 et 4 kJ/mol. Les interactions de Van der Waals sont très Faibles, mais dans le cas des macromolécules, leur nombre élevé va produire au total une force importante [26,27 ,28].

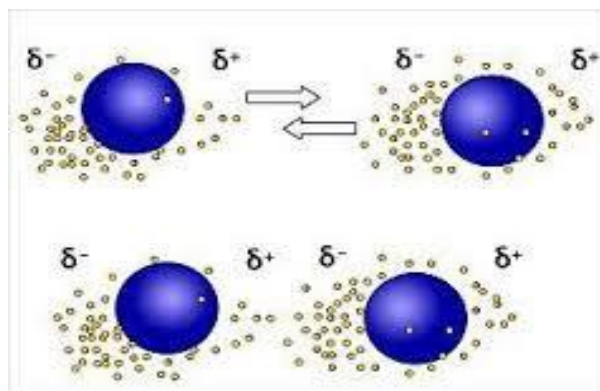
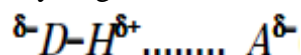


Figure 6: Les forces de van der waals

### 1.2 La liaison hydrogène

Cette liaison, également appelée pont hydrogène, intervient lorsqu'un atome d'hydrogène liés par covalence à un atome électronégatif (le donneur D) est attiré par un autre atome électronégatif (l'accepteur A, généralement un atome d'azote ou d'oxygène). 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, Elle agit, à très courte distance (0,8 à 2,8 Å°).

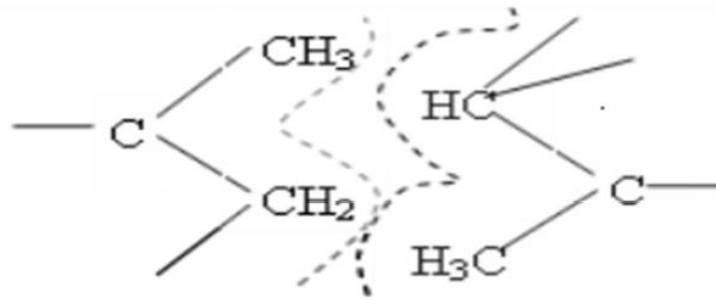


Figure 7: La liaison hydrogène

### 1.3 L'effet hydrophobe

Les molécules ou groupes non polaires ne sont pas capables de former de liaisons hydrogène et ne peuvent donc pas s'hydrater : on les nomme pour cette raison substances hydrophobes.

L'effet hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence de façon à minimiser les contacts avec l'eau (figure.8). [26,27].



**Figure 8:** Interactions hydrophobe

### 1. Les interactions entre le ligand et le récepteur

Pour attacher un ligand à une protéine (docking) le problème est de prédire la conformation et l'orientation du ligand relative au site actif de la protéine cible. Le docking est la base de la reconnaissance moléculaire et du type de l'interaction [29].

Les interactions entre une protéine et un ligand sont en général de nature non covalente. L'énergie libre de Gibbs calculée selon l'Équation 1 [30].

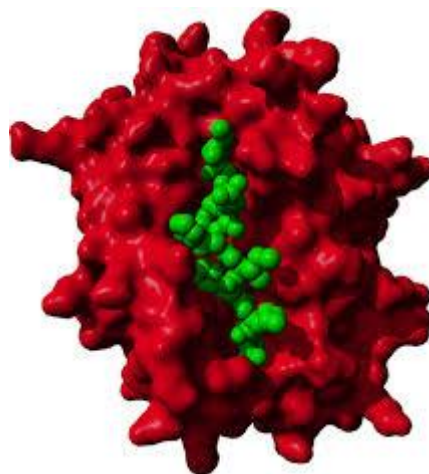
$$\Delta G = -RT \ln K_i = \Delta H - T\Delta S$$

**Équation 1 : Energie libre de Gibbs**

R: constante des gaz (8,314 J. K<sup>-1</sup>mol<sup>-1</sup>).

T: Température (K)

K<sub>i</sub>: constante d'inhibition



**Figure 9:** Les interactions protéine-ligand

## 2. Le docking moléculaire

Le docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe formé par deux molécules la formation de ces complexes est fondée sur la reconnaissance de la structure tridimensionnelle d'un ligand par site récepteur et contrôle de l'activité de nombreuses molécules Le processus de docking consiste à faire interagir une petite molécule organique avec le récepteur, généralement de nature protéique.

Des études ont montré que certains algorithmes de docking sont plus fiables que d'autres pour reproduire le mode de fixation expérimentale de ligand.

### 2.1 Principe théorique

Docking (ancrage ou amarrage en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interactions entre deux molécules. Dans la plus part des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de docking) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand) [31].une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring.

- ❖ La première (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 celle qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- ❖ La deuxième (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 [27 ,28].

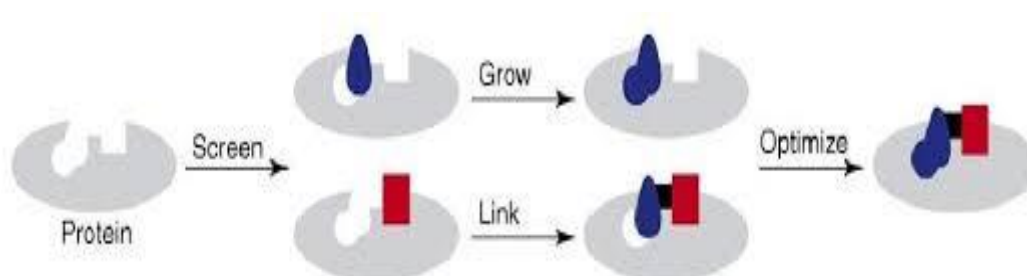


Figure 10: Les étapes de docking moléculaire

### 2.1 Le scoring

Les résultats du docking consistent le plus souvent en différentes poses du ligand dans le site d'interaction, correspondant à plusieurs conformations favorables que le ligand peut adopter. Les méthodes de "scoring" permettent d'évaluer l'énergie de liaison du complexe formé et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking.

Ce score permettra d'une part de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées, mais également de classer la meilleure pose de différents ligands pour identifier les meilleurs

D'entre eux. 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 [32].

### 3. Le programme surflex-dock

Le programme Surflex comprend deux parties. L'une pour des études de similarité tridimensionnelle des molécules, l'autre pour des études de docking. Seule la partie docking est abordée ici. Elle se base sur la construction d'une pseudo-molécule comme cible sur laquelle aligner le ligand. Il s'agit de fragments de molécules placés dans le site actif de manière à occuper idéalement et de manière redondante celui-ci à partir de critères morphologiques. Il est important de préciser que cette pseudo molécule peut être construite à partir du ligand dans le site, à condition de bénéficier d'une structure, ou bien à partir du récepteur sans aucun ligand : il utilise dans ce cas 3 types de fragments CH<sub>4</sub>, C=O et N-H mais il est nécessaire de connaître l'emplacement du site actif.

L'étape de Docking s'effectue suivant deux méthodes :

- ◆ la première est une méthode incrémentale dite Hammerhead. Dans ce cas le programme fractionne le ligand et cherche à trouver le meilleur appariement pour chaque fragment, il essaye d'adapter les fragments à ceux de la pseudo- molécule. Les fragments ayant la plus haute affinité sont utilisés pour reconstruire le ligand. À la différence de la recherche incrémentale de Dock il n'y a pas de recherche systématique des angles de torsion mais une étape de minimisation entre chaque ajout de fragment.
- ◆ la deuxième méthode dite 'molécule entière' reprend la même étape de fractionnement que précédemment. Le changement se fait au niveau des fragments du ligand conservés. Dans la méthode Hammerhead ne sont conservés pour l'étape de docking que les meilleurs fragments qui s'alignent avec ceux de la pseudo-molécule. Ici tous les fragments sont pris en compte pour la recherche de configuration optimale du ligand.

Ainsi le résultat des configurations retenues pour s'apparier avec le ligand contient des molécules proches de l'alignement initial du ligand qui ont été localement modifiées par le processus de fragmentation. Les fragments de ces configurations sont évalués puis une étape de sélection et de fusion des meilleurs fragments entre configurations permet d'obtenir un « conformère » global. Cette deuxième méthode se montre beaucoup plus rapide que la méthode Hammerhead pour des résultats au moins équivalents [29].

---

## ***CHAPITRE III : Matériel et méthodes***

---



## Chapitre III Matériel et méthodes

### 1. La banque de données protéiques

La banque de données protéiques (Protéin Data Bank ou PDB) est la principale source de données de biologie structurale et permet en particulier d'accéder à des structures 3D de protéines d'intérêt pharmaceutique.

Ces structures sont principalement déterminées par les deux méthodes la cristallographie à rayons X et la RMN. Les structuralistes du monde entier sont tenus d'y déposer leurs données expérimentales, de cette façon elles appartiennent au domaine public [33].

### 2. Pubchem

Pubchem est une banque de données américaine de molécules chimiques gérée par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), branche de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis sous l'autorité de la *National Institutes of Health* (NIH)[34].

PubChem répertoire plusieurs millions de composés en mettant en ligne, gratuitement, pour chaque substance une grande quantité de données de divers ordres chimique, biochimique, Pharmacologique, production, toxicologie.

### 3. Préparation des molécules a l'arrimage

Le complexe 5CQJ est téléchargé dans le format **pdb** à partir de la banque de données en introduisant son code ID. les deux molécules du complexe sont séparées à l'aide du logiciel Viewerlite ou Arguslab utilisé sous format **pdb** et le Surfex exige le format **mol2**. Les protéines sont donc protonées, chargées et transformées dans le format **mol2** par le logiciel : OpenBabel.

### 4. Programmes utilisés :

#### 4.1.Surfex

Surflex (1.3 ,2005) est un algorithme de docking rapide capable d'arrimer les ligands dans un environnement constitué d'acides aminés avec une bonne précision [35].

L'étape de docking débute par une fragmentation préalable du ligand. L'assemblage des fragments obtenus permet de rechercher les meilleures conformations du ligand dans le site actif de l'enzyme.

#### 4.1.2 Les différentes étapes de docking

- 1- Identification du site actif par construction d'une pseudo-molécule appelée "protomol".
- 2- Le docking :

L'arrimage moléculaire exige un ligand, un protomol et une protéine.

Le résultat est donné sous la forme des 10 meilleurs « conformères » au format. **mol2**



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 (RootMean Square Déviation) 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 [37].

La liste des complexes protéines –ligands étudiés sera retrouvée dans l'annexe 1

## 7. Choix du complexe 5CQJ :

Nous avons choisi le complexe 5CQJ pour notre étude, en raison de sa bonne résolution (2.15Å), Son ligand est le **53Q** dont la formule chimique développée est : 1-(2-chloro-1,2-diphenylethyl)-4-methoxybenzene.

## 8. Règle de christopher a. lipinski (1997)

Chaque médicament éventuel doit de se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible coût de production, être soluble, stable, brevetable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité(ADME-T). La liste des aspects à inclure est très longue mais on admet communément que les molécules validant au moins trois conditions de la règle de Lipinski sont des candidats potentiels. Ces règles sont :

- Un poids moléculaire maximum de **500g/mol**
- Un maximum de **5** liaisons H-donneurs
- Un coefficient de partition (logP) ou une lipophilie  $\leq 5$ .
- Un maximum de **10** liaisons H-accepteurs
- Nombre de fonctions rotatives  $\leq 15$ .

### - La définition du LogP

Est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanol et dans l'eau.  $\text{LogP} = \text{Log} (\text{Coct}/\text{Ceau})$ . Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule [29].

## 9. Calcul des interactions « enzyme- similaires »

### 9.1 Les étapes de la préparation

Pour étudier les interactions entre l'enzyme et le similaire nous utilisons une banque spécifique **PubChem**.

Cette banque a été utilisée pour obtenir des similaires structuraux de notre ligand **53Q**.

Après avoir cliqué sur le nom du ligand choisi, les propriétés de ce dernier vont apparaître.

- ◆ Cliquer sur **PubChem** tout à fait en bas de l'écran, puis cliquer sur l'icône «**structure searchtool**».
- ◆ Cliquer sur '**télécharger**' la molécule **3D** en **sdf**.
- ◆ Après la conversion du format **sdf** en format **mol2** des similaires téléchargés en utilisant OpenBabel et la réalisation du docking des **200** similaires du **53Q** avec l'enzyme du **5CQJ** proposés par le **PDB**, vient l'étape de la visualisation.
- ◆ La visualisation, via **MSViewer**, consiste à observer la position du final-0 au niveau du site d'interaction de la protéine.

## 8.2 La visualisation des liaisons hydrogène établies entre le ligand et les acides aminés du site actif

- ◆ Ouvrir le fichier de la protéine, du **final-0** via **MSViewer**.
- ◆ Sélectionner le ligand, puis le copier et le coller au niveau du site d'interaction de la protéine en cliquant sur **Edit/Copy** puis **Edit/Paste** dans la barre des menus, ou bien appuyer sur les raccourcis **Ctrl+C** puis **Ctrl+V**.
- ◆ Cliquer sur **Windows/New Hierarchy Window** dans la barre des menus.
- ◆ Sélectionner le ligand une fois collé dans le site actif, puis cliquer sur **Tools/Monitors/HBonds** pour visualiser les liaisons hydrogènes établies entre le ligand et les acides aminés du site d'interaction.
- ◆ Cliquer sur chacun des atomes reliés avec le ligand par un trait discontinu en vert, puis marquer cet acide aminé en cliquant par le bouton droit de la souris et choisir l'option **Label** : changer la couleur et s'assurer des options suivantes **résidu**, **Name** ensuite cliquer sur les boutons **Apply/Ok**.
- ◆ L'acide aminé sélectionné apparaît en bas de l'écran.
- ◆ Ensuite faire la même chose avec le **final-0** du similaire (meilleure affinité) choisi Pour comparer les deux résultats.

---

---

*CHAPITRE IV* : **Résultats et discussion**

---

---

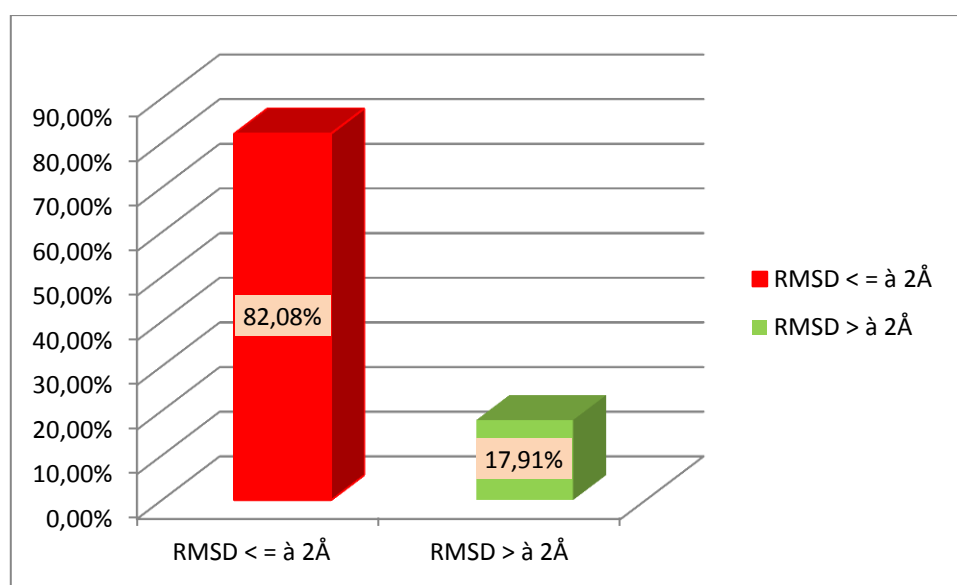
## Chapitre IV Résultats et discussion

### 1. Test de fiabilité du programme surflex :

La performance du logiciel a été évaluée sur 201 complexes protéines-ligands (annexe1) Tirés de façon aléatoire de la PDB.

Les écarts quadratiques moyens entre la position du ligand du complexe cristallographique et celle des ligands amarrés par Surfex, ont été calculés. Une prédiction correcte (résultat positif) est définie par un RMSD entre le mode d'interaction prédit et la structure cristalline, inférieur ou égal à 2 Angströms.

Sur les 201 complexes testés 136 ont présenté un bon RMSD soit **82.08%** répartis selon le graphe de (figure.12).



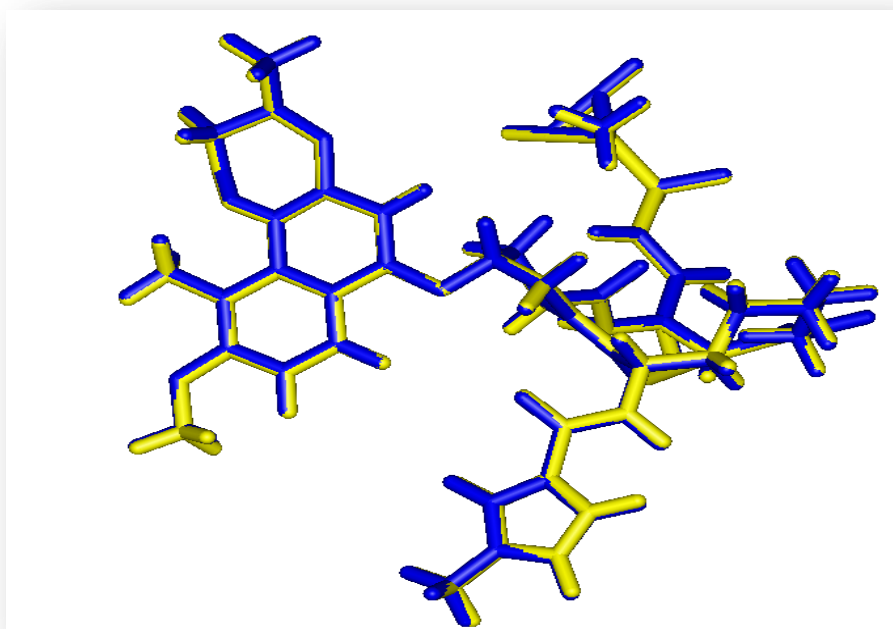
**Figure 12:** Résultats en % obtenus par Surfex à deux intervalles de RMSD (Å)

La figure 12 montre que 17.91% seulement des valeurs sont supérieures à 2Å, alors que 82.08% des complexes présentent des valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2Å. Ces dernières sont légèrement inférieures à celles obtenues par Teniou S. (2012) et Chikhi A. (2007) dont les résultats positifs sont respectivement 85.8% et soit 88.4 % [39,29].

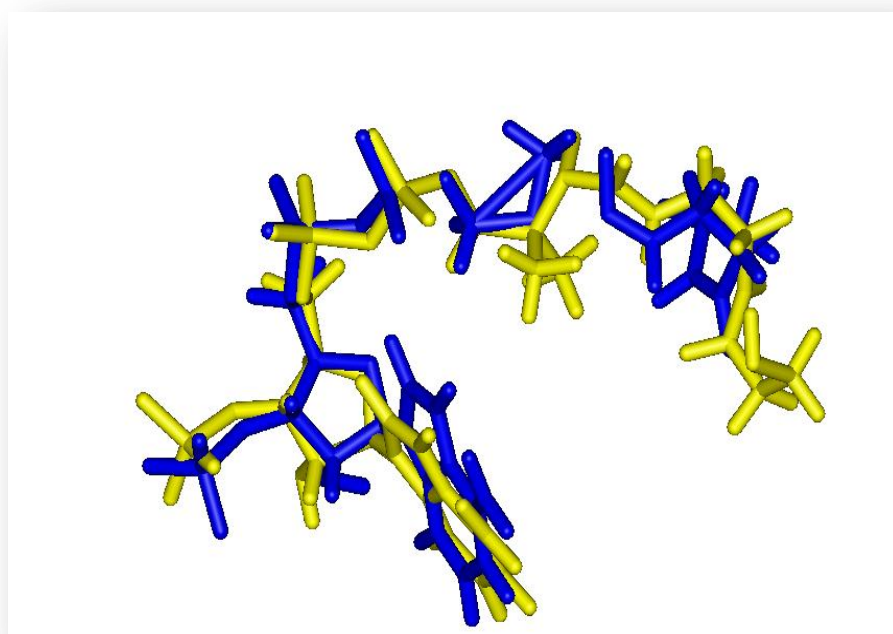
Les résultats de ce premier test nous permettent de dire que le programme Surfex est un outil de modélisation par docking moléculaire hautement performant.

Ce test a été suivi d'une visualisation de quelques complexes obtenus après docking afin de faire le lien entre la valeur du RMSD calculé et l'emplacement du modèle généré par Surfex par rapport au ligand original de la structure cristallographique. Pour cela, trois exemples ont été choisis : le 4I32 (avec un bon RMSD), le 3DDD (un RMSD intermédiaire), et le 2EVO (un mauvais RMSD)

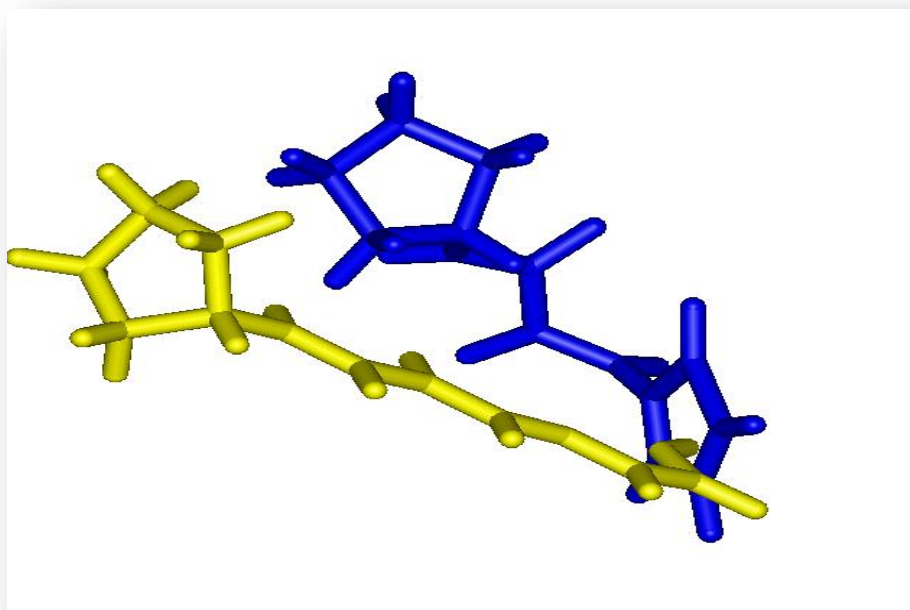
Dans les figures 13, 14, et 15 nous pouvons observer la superposition du final-0 (bleu) et du ligand de référence (jaune).



**Figure 13:** La superposition du final-0 (bleu) et du ligand de référence (jaune) de complexe 4I32.



**Figure 14:** La superposition du final-0 (bleu) et du ligand de référence (jaune) de complexe 3DDD



**Figure 15:** La superposition du final-0 (bleu) et du ligand de référence (jaune) de complexe 2EVO.

Dans le premier cas, avec un RMSD de 0.052 Å, la superposition des deux molécules est bonne ; dans le deuxième cas, avec un RMSD 3.080 Å, elle l'est moins alors que dans le troisième cas, avec un RMSD de 8.078 Å, il n'y a pas de superposition du tout car la position du ligand arrimé est éloignée de celle du ligand naturel.

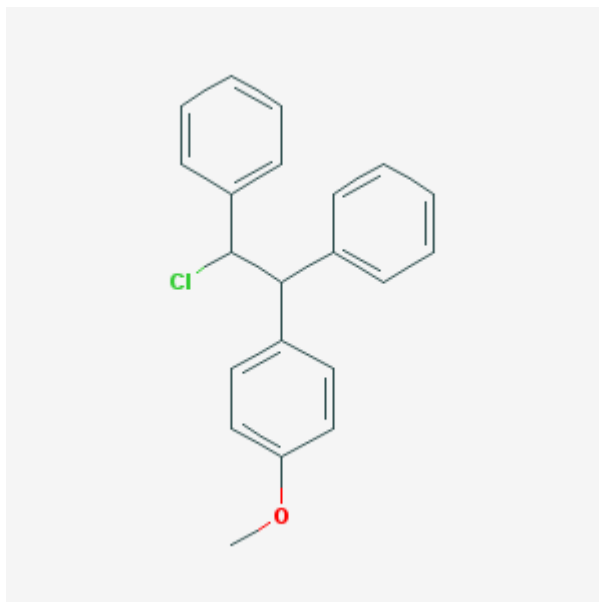
## 2. Choix du complexe 5CQJ :

**Tableau 1:** Les caractéristiques du complexe 5CQJ

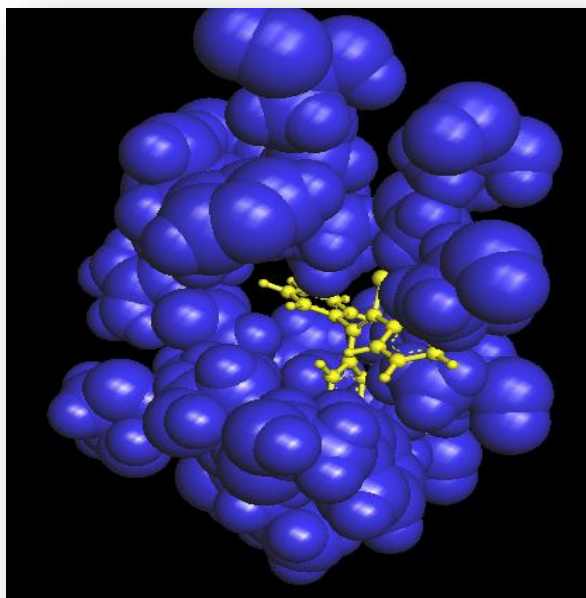
Complexe	Classification	Organisme	Inhibiteur	N° de chaîne	RMSD (Å)	Affinité (M-1)	R en Å
5CQJ	Transférase	E. Coli	53Q	A, B	1,37	1,78	2.15

L'inhibiteur d'E.col iundecaprenyl pyrophosphate synthase 53Q. Sa structure chimique est présentée dans (figure .16).





**Figure 16:** La formule chimique développée de 53Q



**Figure 17:** La position du ligand (53q) dans le site actif de l'enzyme.

### 3. Inhibition d'E.coli undecaprenyl pyrophosphate synthase par les similaires du 53Q

Le composé **53Q** possède **200** similaires téléchargés à partir de la PubChem, Parmi les similaires qui figurent dans l'annexe 2, nous avons retenu les 3 meilleurs résultats uniquement. C'est-à-dire ceux qui présentent les meilleures affinités (tableau 04).

**Tableau 2:** Les meilleurs inhibiteurs proposés

Les similaires	Affinité (M <sup>-1</sup> )
CID_11771109	4,98
CID_5702023	5,84
CID_15819119	5.01

### 4. Règle de lipinski :

Avant de commencer l'étude des interactions entre l'enzyme E.coli UPPs et les composés, il est nécessaire d'apprécier les paramètres permettant leur validation comme antibiotiques (tableau.3).

Les critères de la règle de Lipinski ont été calculés dans le cadre du « Molinspiration » (figure .18).

Elle permet de dessiner des molécules et calculer les propriétés moléculaires importantes (log p, le nombre donneur et accepteur de liaison hydrogène...).

The screenshot displays the Molinspiration web application interface. At the top left is the logo 'molinspiration'. The main heading is 'Calculation of Molecular Properties and Bioactivity Score'. Below this, there is an input field for 'Enter SMILES' with a 'Clear' button. A section titled 'or draw molecule below' contains a molecular drawing toolbar with various icons for drawing atoms and bonds. A chemical structure is shown in the drawing area, consisting of a central carbon atom bonded to a chlorine atom, a phenyl ring, and a 4-methoxyphenyl ring. To the right of the drawing area are three buttons: 'Calculate Properties' (blue), 'Predict Bioactivity' (yellow), and 'Galaxy 3D Generator' (pink). At the bottom right, there are several links: 'Molinspiration home', 'Molinspiration products and services', 'Molinspiration services FAQ', 'Molinspiration RESTful web services', and 'Terms of service'. A copyright notice '© Molinspiration Cheminformatics 2016' is located at the very bottom.

**Figure 18:** Le cadre du code « Molinspiration »

**Tableau 3:** Critères de la règle de Lipinski pour les différents inhibiteurs

Les composés		PM	Log p	nOH,NH	nO,N	Nrotb
<b>Ligand</b>	<b>53q</b>	<b>322,83</b>	<b>5,79</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>5</b>
<b>Similaire104</b>	<b>CID_11771109</b>	<b>302,8</b>	<b>4,75</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>6</b>
<b>Similaire 67</b>	<b>CID_15819119</b>	<b>352,82</b>	<b>4,79</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>Similaire 57</b>	<b>CID_5702023</b>	<b>380,87</b>	<b>5,84</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>6</b>

**PM** : poids moléculaire

**Log p** : coefficient de partition calculé

**nOH,NH** : nombre de donneurs de liaison H

**nO,N** : nombre d'accepteur de liaison H

**nrotb** : nombre de liaisons rotatives

Selon le tableau, nous relevons que presque tous les inhibiteurs étudiés répondent à la règle de Lipinski avec l'absence de donneurs de liaisons H pour les composés (**53Q**, **CID\_11771109**, **CID\_5702023**)

- le nombre de donneur de liaisons H est inférieur à **5** et le nombre d'accepteur de liaisons H des inhibiteurs est inférieur à **10**

- les liaisons rotatives des inhibiteurs sont inférieures à **15**

-les inhibiteurs ont des poids moléculaires inférieurs à 500mg/mol sachant que le programme de docking est plus efficace en présence de petites molécules de ligand.

- Le logP du ligand **53Q** et du composé **CID\_5702023** présentent un coefficient de partage supérieur à 5.

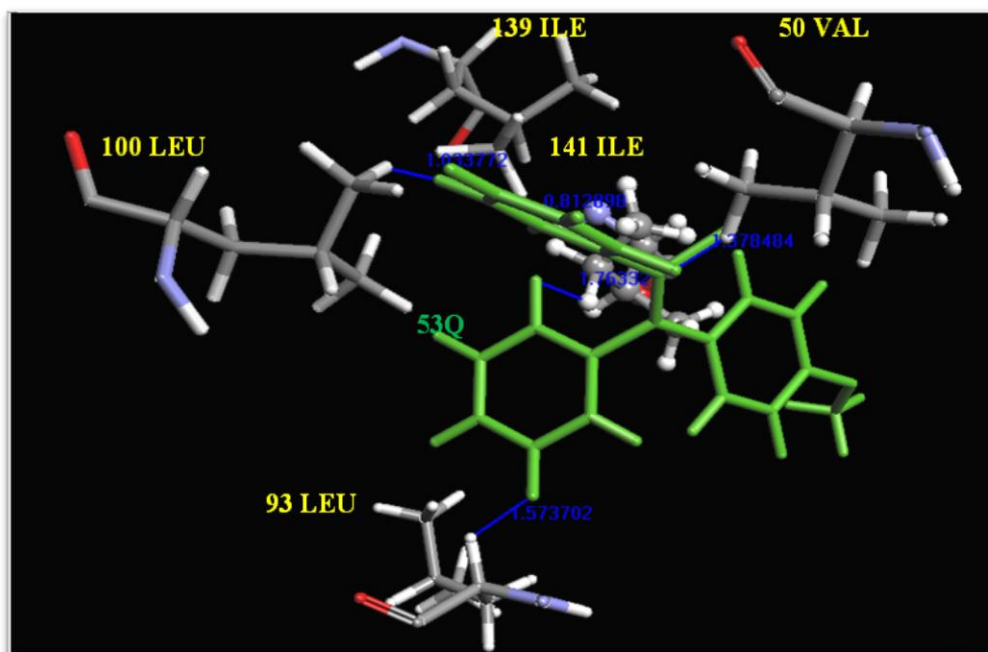
Les critères de la règle de lipinski sont respectés, donc on peut proposer les 3 similaires comme de meilleurs inhibiteurs d'E. coli undecaprenyl pyrophosphate synthase.

### 5. Etude des interactions de l'enzyme avec Les différents similaires proposés :

Ces interactions sont illustrées dans les figures suivantes :

L'inhibiteur **53Q** se caractérise une faible affinité ( $1.78 \text{ M}^{-1}$ ) par rapport aux 3 similaires précités, l'analyse visuelle révèle l'absence des liaisons hydrogène.

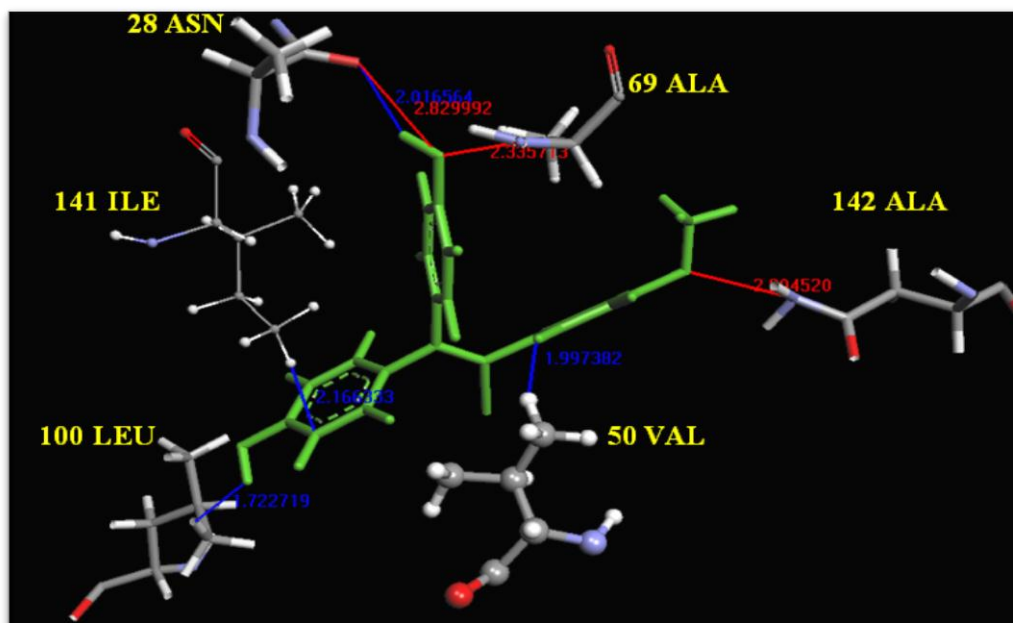
Cependant le complexe est stabilisé par des interactions hydrophobes représentées dans la (figure .19) et détaillées dans le (tableau .4)



**Figure 19:** Interactions entre le ligand 53Q et les acides aminés du site actif

**Tableau 4:** Les interactions hydrophobiques entre les acides aminés et le ligand 53Q

N°	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance A
1	Leu 93	4224 H	6689 H	1,573
2	Leu 100	4323 H	6685 H	1,033
3	Val 50	3855 H	66883 H	1,378
4	Ile 141	4954 H	6692 H	1,763
5	Ile 139	4927 H	6684 H	0,812

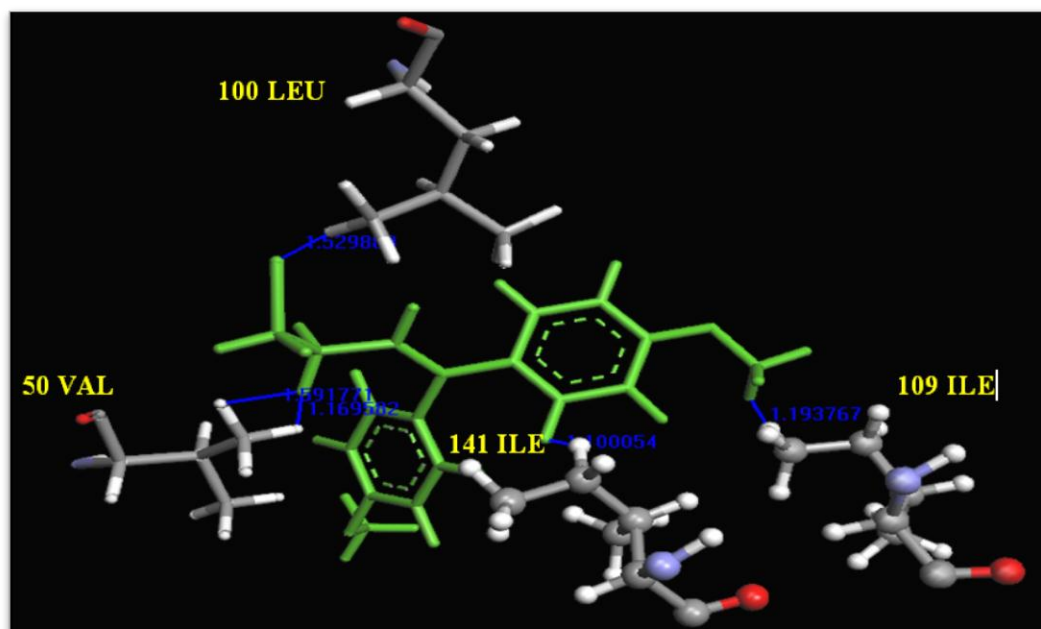


**Figure 20:** Interactions entre le final-0 du similaire CID\_15819119 et les acides aminés du site actif de l'enzyme

L'analyse visuelle montre que le final-0 du similaire **CID\_15819119** est stabilisé par différentes interactions, comme représentées sur le (tableau .5) suivant

**Tableau 5:** Les différentes interactions entre les acides aminés et final-0 du similaire CID\_15819119

N°	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance A	Type de liaison
1	Ile 93	4944 H	6653C	2.166	Hydrophobe
2	Leu 100	4319 H	66875 H	1,722	Hydrophobe
3	Val 50	3863 H	6646C	1,997	Hydrophobe
4	Asn 28	767O	6676 H	2,016	Hydrophobe
5	Asn 28	109 N	65860 O	2.286	Hydrogène
6	Ala 69	379N	6588O	2.335	Hydrogène
7	Ala 142	744O	6588 O	2.829	Hydrogène

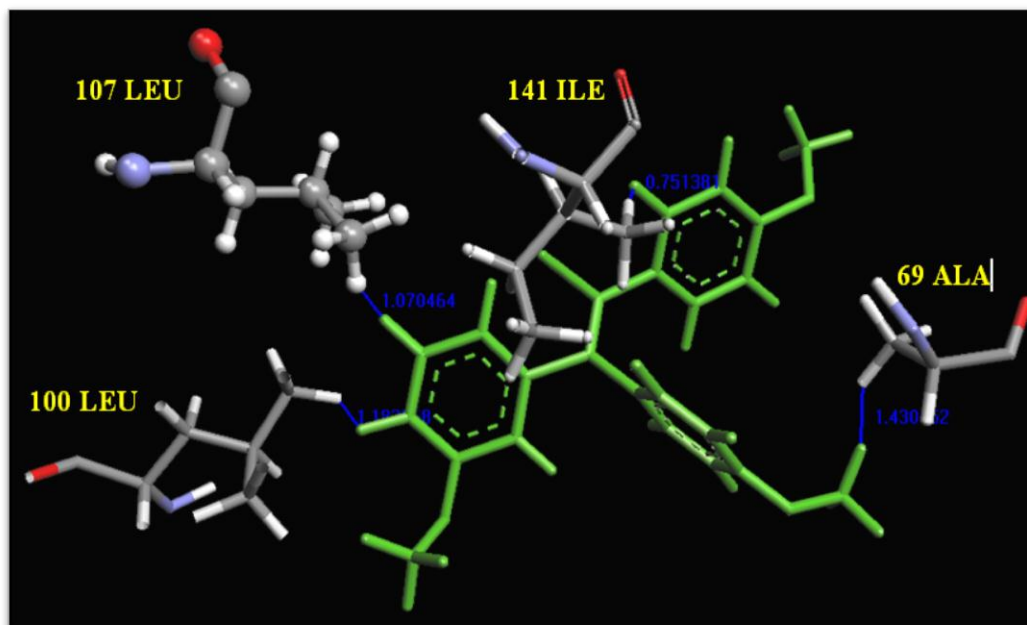


**Figure 21:** Interactions entre le final-0 du similaire CID\_11771109 et les acides aminés du site actif de l'enzyme

La stabilité du complexe formé à partir de final-0 du similaire et les acides aminés est due uniquement à des interactions hydrophobiques comme représentées sur le tableau 6 suivant :

**Tableau 6:** Les interactions hydrophobiques entre les acides aminés et final-0 du similaire CID\_11771109

N°	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance A
1	Leu 100	4280H	6598 C	1,529
2	Ile 109	4442 H	6632 H	1,193
3	Ile 141	34899H	6622 H	1,100
4	Val 50	3833 H	6620 H	1,591
5	Val 50	4927 H	6620 H	1.5



**Figure 22:** Interactions entre le final-0 du similaire CID\_5702023 et les acides aminés du site actif de l'enzyme

Dans cette figure nous avons montré que le ligand pénètre bien dans le site actif de la protéine, en formant des interactions hydrophobiques représentées sur (tableau .7) ; aucune liaison hydrogène n'est constatée dans la formation de ce complexe.

**Tableau 7:** Les interactions hydrophobiques entre les acides aminés et final-0 du similaire CID\_5702023

N°	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance A
1	Ala 69	4118H	6660H	1,430
2	Leu 100	4288 H	6654 H	1,182
3	Leu 107	3863 H	6646C	1,378
4	Ile 141	4927 H	6652 H	0.751

**NB 01 :** il existe des nombreuses interactions hydrophobiques mais de notre étude nous avons pris quelques exemples seulement.

**NB 02 :** nous avons négligé quelques acides aminés de quelques figures pour la clarté des images.

Les résultats du docking montrent que l'affinité des similaires CID\_5702023 ( $5,84 \text{ M}^{-1}$ ), CID\_15819119 ( $5,01 \text{ M}^{-1}$ ), CID\_11771109 ( $4,98 \text{ M}^{-1}$ ) est supérieure à celle du composé 53Q ( $1,78 \text{ M}^{-1}$ ). Ceci peut être expliqué par un nombre d'interactions hydrophobes formées entre les trois final-0 des similaires et les acides aminés du site actif de l'enzyme E.coli UPPs supérieur à celui des interactions hydrophobes réalisées entre le ligand 53Q et les acides aminés du site actif.

## Conclusion et perspectives

L'objectif primordial de notre travail a été l'évaluation du programme Surflex-dock. Ce programme est parmi les plus utilisés en modélisation moléculaire, il permet de simuler les interactions entre protéines et ligands et d'aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique, d'où notre second objectif.

Surflex-dock peut être considéré suffisamment performant puisqu'il reproduit assez bien les résultats expérimentaux avec 82.08 % des valeurs de RMSD inférieures à 2Å.

Il a été utilisé pour étudier l'inhibition d'*E. coli* undecaprenyl pyrophosphate synthase, qui catalyse la formation du support lipidique en participant à la synthèse du peptidoglycane essentiel et spécifique pour le monde bactérien. Elle constitue donc une cible potentielle intéressante à exploiter pour la découverte de nouveaux antibactériens, pour une thérapie efficace contre les infections urinaires.

Dans le but de découvrir de nouveaux inhibiteurs, nous avons choisi le complexe 5CQJ en raison de sa bonne résolution (2.15 Å). Nous avons testé, pour cela, 200 similaires du ligand 53Q, téléchargés à partir de la PubChem.

Les résultats du docking permettent de retenir les 3 similaires CID\_5702023 (5,84 M<sup>-1</sup>), CID\_15819119 (5,01 M<sup>-1</sup>), et CID\_11771109 (4.98 M<sup>-1</sup>) dont les affinités sont largement supérieures celle de composé 53Q (1.78 M<sup>-1</sup>), et que nous proposons comme de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'enzyme *E. coli* undecaprenyl pyrophosphate synthase, cependant des tests *in vitro* et *in vivo*

sont indispensables pour valider ces résultats.

Il faut enfin noter que tous ces composés proposés possèdent des propriétés pharmacologiques appropriées qui sont en conformité avec les critères imposés par la règle de Lipinski.

Comme perspectives d'avenir, il serait intéressant :

- ❖ d'utiliser d'autres programmes de docking moléculaire (Gold, Fred...) et de comparer leurs résultats avec ceux de Surflex.
- ❖ de réaliser des substitutions dans le but découvrir de nouveaux inhibiteurs encore plus efficaces d'E.cUPPs.



**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- [1] Bouzenoune F., Boudersa F., Bensaad A., Harkat F., Siad N. (2009). Les infections urinaires à Ain M'Lila. Résistance aux antibiotiques des 239 souches isolées entre 2006 et 2007. *Médecine et maladies infectieuses*. Algérie. **39**: 142-143.
- [2] Thiriot E. (2009). Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatique : développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Méthionine Sulfoxyde Réductases de classe A. Thèse de doctorat d'université : Chimie informatique et théorique. Nancy : Université de Nancy. France. 291.
- [3] Kitchen D. B., Decornez H., Furr J. R., Bajorath J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **3**: 935-49.
- [4] Daniel J. (2003). Les infections urinaires: une approche clinique. *Pharmactuel.* **5** :246-255.
- [5] Grude N. (2001). Urinary tract infections in Norway : bacterial etiology and susceptibility. A retrospective study of clinical isolates. *Clin Microbial Infect.* **7** : 543-47.
- [6] Abourqui B., Ramdani K., D Sahni., D Zai. (1992). Profil de l'infection urinaire dans un service de néphrologie. *Médecine du Maghreb.* **33** : 11-16.
- [7] Jardin A., Thiounn N. (1993). Infections urinaires. En cycl Med Chir, Urgences.
- [8] Brasme L., Querlin D., Biserte J. (1991). Infection de l'appareil urinaire au cours de la grossesse : diagnostic, évolution, pronostic, traitement.
- [9] Lobel B., Soussy C. (2007). Les infections urinaires – Paris. 82.
- [10] Mal M. (1991). 2<sup>ème</sup> conférence de consensus en thérapeutique, anti-infectieuse. Antibiothérapie des voies urinaires. **12** : 51-4.
- [11] Lobel B., Claud J-S. (2007). Les infections urinaires, 2<sup>ème</sup> édition – France. 75.
- [12] KSONI K. (2010) .Removal of *Listeria monocytogenes* Biofilms with Bacteriophage, *Journal of Food Protection* .**73** :1519-152.
- [13] Dublanchet A.,Patey O. (2011). Phagothérapie, expérience personnelle alternative ou complément à l'antibiothérapie, centre hospitalier intercommunal de Villeneuve St Georges.
- [14] <http://www.lemonde.fr/sciences/article / les-espoirs-de-la- phagothérapie .html> consulté le 20/03/2016.
- [15] Mainil J. (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives D'E.coli. Les sdhésines et facteurs de colonisation. *Ann.Med Vet.* **2** : 105-126.

- [16] Levine M.M. (1987). *Escherichia coli* that cause diarrhea : enterotoxigenic, enteroinvasive , enterohemorrhagic, and enteroadherent . *J. infect. Dis* **155** : 377-389.
- [17] Pol P., Linermas P., Mainil, J., Deprez P. (1998). Production des vérocytotoxine par *E.coli* du porc. *Annales de médecine vétérinaire*. **133** :31-38.
- [18] Yala D., Merad A. S., Mohamedi D., Ouarkorich M. (2001). Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb*.
- [19] Allen, C.M. 1985. Purification and characterization of undecaprenylpyrophosphate synthetase. *Methods Enzymol.* **110** : 281–299.
- [20] Apfel M., Takacs B., Fountoulakis M., Stieger M., and Keck, W. (1999). Use of genomics to identify bacterial undecaprenyl pyrophosphate synthetase: Cloning, expression, and characterization of the essential *uppS* gene. *J. Bacteriol.* **181** : 483–492.
- [21] Wang K., Ohnuma S. (2000). I. Isoprenyl diphosphate synthases. *Biochim. Biophys. Acta* **1529** : 33–48.
- [22] <http://www.rcsb.org/> consulté le 16/04/2016.
- [23] Grosdidier A. (2007). Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèses de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. 90.
- [24] Biochimie structurale 1, Chapitre 4 : Biochimie des protéines 50-63.
- [25] Srinivasan R., Rose. G. A. (1999). physical basis for protein secondary structure. *PNAS*. **96** :14258-14263.
- [26] Karp G. (2004). *Biologie moléculaire et cellulaire*. 3<sup>ème</sup> édition. France : De Boeck. 850.
- [27] Voet D., Voet J. G. (2005). *Biochimie*. 2<sup>ème</sup> édition. France : De Boeck. 1600.
- [28] Gauchard P. Les interactions de faible énergie. [en ligne] [http://www.umvf.biomedical.univ-paris.fr/...gauchard\\_pierre\\_alexis\\_P05.pdf](http://www.umvf.biomedical.univ-paris.fr/...gauchard_pierre_alexis_P05.pdf). consulté le : 16/05/2016.
- [29] Chikhi A. W. (2007). Calculs et modélisations des interactions peptide deformylase – substances antibactériennes à l'aide de techniques de ‘docking’ (arrimage) moléculaire. Thèse Doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 126.
- [30] Maréchal, Y. (2007). *The hydrogen bond and the water molecule* Elsevier Science & Technologie.

- [31] Warren G. L., Andrews C.W., Capelli A. M., Clarke B., LaLonde J., Lambert M.H., Lindvall M., Nevins N., Semus S. F., Senger S., Tedesco G., Wall I.D., Woolven J. M., Peishoff C. E., Head M. S. (2006). A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions. *Journal of Medicinal Chemistry*. **49**: 5912-5931.
- [32] Kollman, P.A.,Massova, I.,Reyes, C.,Kuhn, B., Huo, S., Chong, L., Lee, M., Lee, T., Duan, Y.,Wang, W.,Domini, O., Cieplak, P., Srinivasan, J., Case, D.A.; Cheatham, T.E. (2000). Calculating structures and free energies of complex molecules: combining molecular mechanics and continuum models *Acc. Chem. Res.*, **33** : 889-897.
- [33] Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. 2000. The Protein Databank. *Nucl. Ac. Res.* **28**: 235-242.
- [34] National Center For Biotechnology Information. (NCBI). PubChem [en ligne]. Date de création 2004.<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consulté le: 10/05/ 2016.
- [35] BioPharmics LLC .Surflex Manual: Docking and Similarity (version 1.3). (2005).
- [36] Hutchison G. R., Morley C., James C., Swain C., De Winter H., Vandermeersch T., O'Boyle N. M. 2011. Open Babel Documentation. [En ligne]. <http://openbabel.sourceforge.net>. Consulté le: 03/05/2016.
- [37] Kramer B.,Rarey M., Lengauer T. (1999). Evaluation of the FLEXX Incremental construction Algorithm for Protein-Ligand Docking . *Proteins: Structure, Function, and Genetics*. **37**: 288-241.
- [38] Teniou. S. (2012). Conception < in silico > de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Thèse de magistère. Univ Mentouri Constantine. 71.

**THEME : Search for new inhibitors of Escherichia.coli undecaprenyl pyrophosphate synthase by the methode of molecular docking.**

**Abstract**

Protein-ligand interactions and molecular docking represent powerful technics in the modelisation of the biological activity. The aim of molecular docking « in silico » is to predict the complexe structur based on own isolated molecules.

the molecular docking program surflex was developed to assist the development of molecules with therapeutic activity. With a rate of RMSD values less than 2Å of 82.02%, Surfex-dock program performance are indisputable.

Result of our study is to search of better inhibitors of E. coli undecaprenyl pyrophosphate synthase, an enzyme that catalyses the formation of lipid support, essential for the biosynthesis of bacterial Peptidoglycan.

We tested for this purpose similar 200 selected inhibitor or reference, the compound 53Q. The docking results show that the affinities of the similar 3: CID\_5702023 ( $5.84 \text{ M}^{-1}$ ), CID\_15819119 ( $5.01 \text{ M}^{-1}$ ) and CID\_11771109 ( $4.98 \text{ M}^{-1}$ ) are greater than the 53 Q ( $1.78 \text{ M}^{-1}$ ).

As such, we offer these three compounds as novel potential of enzyme inhibitors E. coli undecaprenyl pyrophosphate synthase, however *in vitro* and *in vivo* tests are essential to validate these results.

Finally, it should be noted that all these proposed compounds have appropriate pharmacological properties that are in compliance with the criteria imposed by the rule of Lipinski.

**Key words:** protein-ligand, molecular docking, Surfex, RMSD interaction, correlation coefficient, affinity, E.coli undecaprenyl pyrophosphate synthase, peptidoglycan bactérien.

## Résumé

L'étude des interactions protéine – ligand et le docking moléculaire représentent des techniques performantes dans la modélisation de l'activité biologique. Le docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe à partir de molécules isolées.

Le programme d'arrimage moléculaire Surflex-dock a été développé pour aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique. Avec un taux de valeurs de RMSD inférieures à 2 Å de 82.08 %, les performances du programme Surflex-dock sont incontestables.

La suite de notre étude consiste à rechercher de meilleurs inhibiteurs d'*Escherichia. coli* undecaprenyl pyrophosphate synthase, une enzyme qui catalyse la formation du support lipidique, élément essentiel pour la biosynthèse du peptidoglycane bactérien.

Nous avons testé dans ce but 200 similaires de l'inhibiteur retenu ou de référence, le composé 53Q. Les résultats du docking montrent que les affinités des 3 similaires : CID\_5702023 (5,84 M<sup>-1</sup>), CID\_15819119 (5,01 M<sup>-1</sup>) et CID\_11771109 (4.98 M<sup>-1</sup>) sont supérieures à celle du 53Q (1.78 M<sup>-1</sup>).

De ce fait, nous proposons ces trois composés comme de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'enzyme *Escherichia. coli* undecaprenyl pyrophosphate synthase, cependant des tests *in vitro* et *in vivo* sont indispensables pour valider ces résultats.

Il faut enfin noter que tous ces composés proposés possèdent des propriétés pharmacologiques appropriées qui sont en conformité avec les critères imposés par la règle de Lipinski.

**Mots clés :** Interaction protéine-ligand, docking moléculaire, Surflex, RMSD, le coefficient de corrélation, affinité, *Escherichia.coli* undecaprenyl pyrophosphate synthase, peptidoglycane bactérien.

**الموضوع :** البحث عن مثبطات جديدة للأشريشيا كولي أندكبرنيل بيروفسفات سنتاز بواسطة الرص الجزيئي

### الملخص

ان دراسة التفاعلات بروتين- رابطة و docking الجزيئي يقدمان تقنيات نمذجة النشاط البيولوجي , le docking الجزيئي " in silico " يهدف الى التنبؤ بهيكل المركب الكيميائي المعزول.

وقد تم تطوير برنامج " surflex " للمساعدة في اكتشاف الجزيئات ذات النشاطات العلاجية مع نسبة جيدة لقيم RMSD أقل من 2 Å, 82.08% النتائج التي يقدمها « surflex » تكون محققة

وفي دراستنا هذه هو البحث عن أفضل مثبط جديدة للأشريشيا كولي أندكبرنيل بيروفسفات سنتاز وهو أنزيم يحفز على تشكيل الدهن الداعم لتركيبة جدار الخلويا للبكتريا.

نحن اختبرنا 200 مماثل للمثبط أو المرجع 53Q, نتائج docking الجزيئي تبين أن معيار انجذاب المماثلات:

CID\_5702023 ( $5,84 M^{-1}$ ), CID\_15819119 ( $5,01 M^{-1}$ ), CID\_11771109 ( $4,98 M^{-1}$ )

أكبر من 53Q.

اذن هذه المماثلات يمكن اقتراحها مثل مثبطات محتملة للأشريشيا كولي أندكبرنيل بيروفسفات سنتاز .

على هذا النحو فإننا نقدم هذه المركبات الثلاثة كمثبطات جديدة محتملة لأنزيم. ولكن انها في حاجة الى التحقق منها في التجارب المختبرية .

وفي الأخير كل هذه المركبات المقترحة تخضع للخصائص " قواعد ليبينسكي ".

الكلمات المفتاحية: التفاعلات بروتين- رابطة , le docking الجزيئي , surflex , معدل الارتباط, RMSD

معيار انجذاب , لأشريشيا كولي أندكبرنيل بيروفسفات سنتاز, جدار الخلويا للبكتريا.

## ANNEXE I

Tableau : Liste de 201 complexes utilisés pour tester le programme de docking avec le RMSD

Numéro	Code suivant de la PDA	RMSD(Å)	Affinité (M <sup>-1</sup> )
1	4XMT	1,217	6,19
2	3ZMH	1,562	4,34
3	2XOW	0,237	4,29
4	3UBB	1,638	6
5	5FTI	6,005	2,06
6	3HVC	1,118	3,99
7	5EG3	1,452	4,13
8	3FMK	1,482	7,73
9	3EBH	0,626	9,45
10	3FMQ	1,682	4,15
11	3GCQ	1,716	7,99
12	3EBI	1,905	9,17
13	4FWP	0,805	6,23
14	5H8H	0,189	2,28
15	5F5B	0,052	4,6
16	4YYY	0,815	5,16
17	3ZBE	1,047	3,63
18	2IIV	4,371	4,29
19	3L8X	1,835	7,82
20	3NNU	4,817	7,4
21	3OBJ	0,244	5,39
22	2BUB	0,438	8,42
23	2I78	1,088	4,62
24	3QTB	6,507	2,67
25	5EUL	4,078	-5,25
26	5FD8	15,763	-37804,77
27	5DK6	0,892	5,19
28	5D1S	0,552	6,61
29	5D1T	1,508	7,11
30	4h07	0,405	4,37
31	5DYZ	1,413	8,56
32	3IJH	5,259	4,53
33	3IKC	1,4	4,24
34	5CCY	1,679	5,25
35	2IU8	1,7	-0,87
36	4XMA	0,274	3,91

37	4XOG	0,57	5,3
38	4XHB	4,855	5,97
39	4XIK	0,51	3,32
40	4XJW	0,629	4,15
41	4XE9	1,906	6,64
42	5F9T	0,863	4,39
43	4YZ4	0,69	8,8
44	5A69	1,582	5,32
45	5A6A	10,582	2,16
46	4WLC	0,895	3,77
47	4QQQ	1,213	0,34
48	4RKX	1,068	4,49
49	4WXF	1,582	9,67
50	4D71	1,203	3,87
51	4D6G	1,679	4,5
52	4R3J	1,322	5,85
53	4R3N	0,434	7,81
54	4HQZ	4,296	1,81
55	4MOT	1,418	4,21
56	4MBC	1,34	8,01
57	4HMO	0,864	1,89
58	4LAT	1,643	1,8
59	3ZM5	1,434	7,96
60	1GNE	4,9	6,01
61	5EQQ	0,738	9,46
62	5ETX	1,139	7,29
63	4WXP	0,037	3,87
64	5FP6	2,346	3,43
65	5FPN	1,767	1,66
66	4JTY	4,127	3,79
67	4JTZ	1,124	7,27
68	4I32	0,052	11,28
69	3SU6	7,073	2,8
70	1MUO	1,601	1,66
71	3FMR	0,126	2,61
72	1TKF	0,104	4,04
73	2GG3	1,541	7,13
74	1XBU	0,062	3,73
75	2X2B	8,486	1,35
76	1XRL	1,006	3,04
77	1XRY	1,996	6,81
78	1YJ3	5,77	1,96



79	2DQM	0,467	10,04
80	2EK8	1,985	2,8
81	3D44	0,723	10,2
82	3FHR	5,004	4,55
83	2GU5	1,395	5,32
84	2GU6	0,391	5,35
85	2GG8	1,798	5,41
86	2GGB	1,907	8,56
87	2EVO	8,078	3,58
88	3CHR	1,636	10,94
89	3C43	0,627	8,77
90	3D4L	0,606	8,22
91	3KWF	0,467	9,12
92	3B7R	1,797	9,12
93	2Q92	0,079	3,35
94	2Q93	1,008	3,28
95	2Q94	1,547	3,46
96	2Q95	4,294	3,25
97	3D27	0,053	5,37
98	3IU7	4,959	3,9
99	1B6A	0,331	3,58
100	1G2A	1,281	11,29
101	1G27	1,962	5,52
102	2B5J	0,823	7,89
103	2BAN	0,29	7,59
104	2BE2	0,746	10,54
105	3DLG	0,908	11,18
106	3DRP	1,077	7,36
107	3DRR	1,294	7,55
108	3M8P	1,829	2,3
109	1BQN	0,292	5,9
110	2I5J	0,703	4,43
111	3DLE	0,768	8,94
112	1BQM	0,888	9,87
113	3ONC	0,941	5,12
114	1ONB	1,832	4,51
115	2C2S	0,494	14,68
116	3C6U	0,435	8,01
117	3M8Q	1,755	3,34
118	1XNZ	0,103	3,41
119	1YVM	1,35	4,06
120	2ADU	1,29	6,16

121	2BB7	5,051	1,83
122	3QGI	5,08	4,7
123	3DDD	3,08	11,98
124	3ALM	7,802	5,11
125	5BOI	5,61	4,21
126	5BOK	1,222	1,37
127	5BOL	1,003	7,68
128	5EWK	1,927	3,32
129	5BU3	0,397	4,46
130	5CZD	4,282	3,89
131	4WQ0	1,357	1,28
132	5CS2	10,962	1,95
133	4Y5D	1,174	7,89
134	4G2T	0,779	6,91
135	3RUN	1,492	3,55
136	3VK5	1,727	8,78
137	3VKC	1,821	7,31
138	3VKB	1,27	7,19
139	3TVQ	1,409	4,93
140	2YGA	0,958	5,78
141	2YGE	1,02	4,56
142	2YGF	0,545	8,18
143	3S2J	0,777	5,52
144	2XM7	0,838	5,21
145	3HTH	10,089	-8588,73
146	3HTI	0,838	6,41
147	3HTJ	0,393	10,82
148	3K5X	1,738	9,8
149	2WOK	4,348	2,76
150	2XOP	1,467	3,09
151	3A22	4,015	2,12
152	2ZBX	0,556	2,29
153	1WXC	7,772	5,19
154	1ZCW	1,308	5,94
155	1ZDY	0,796	5,88
156	2OO1	0,964	2,12
157	3QFN	0,029	1,44
158	3QFO	1,292	6,12
159	2YA0	4,166	3,42
160	3FMM	1,177	6,31
161	1WLR	1,524	0,23
162	1X2B	1,465	4,47

163	1X2E	1,493	5,08
164	3GC8	0,609	9,19
165	1A4G	0,705	13,72
166	1B9S	0,928	2,2
167	5cqj	1,37	1,78
168	1py2	4,286	5,18
169	3qj9	0,96	8,64
170	2qtb	1,191	5,73
171	1r78	0,545	7,66
172	1uyf	1,144	7,09
173	2iog	0,421	11
174	1lev	0,941	5,79
175	1tow	1,018	6,52
176	2cm7	0,917	10,23
177	4uhg	0,596	7,75
178	4xf4	0,07	3,58
179	2f2u	1,203	5,06
180	5a7i	1,089	1,06
181	5ce6	0,396	4,45
182	5ezs	1,025	5,8
183	5anl	0,896	5,82
184	2cev	0,845	3,37
185	3iti	0,455	5,46
186	3a9v	1,68	3,45
187	4fci	1,206	4,47
188	4ean	0,087	2,13
189	2cic	1,996	7,19
190	2cje	1,199	6,34
191	2yay	6,12	1,185
192	4Z0N	6,334	3,24
193	2ki5	2,731	7,24
194	10f1	0,488	8,01
195	4xpl	6,539	8,45
196	4xsv	0,858	6,62
197	4cqa	1,384	7,74
198	2ynh	1,384	7,74
199	1x70	0,236	4,47
200	4l7g	0,115	4,04
201	4dpf	0,552	3,39

## ANNEXE II

Tableau : Liste d'affinité des 200 similaires de l'53Q

Numéro	Le code suivant la PubCem	Affinité (M-1)	Crash	Self
1	CID_84462	2,01	-2,16	-1,25
2	CID_96831	-103,24	-109,37	-1,84
3	CID_108406	4,8	-0,94	-0,34
4	CID_630505	4,05	-0,63	-0,27
5	CID_1928982	-8574,07	-8579,07	-2,55
6	CID_1928983	4,49	-1,04	-0,06
7	CID_3014331	3,45	-1,09	-0,25
8	CID_3730201	4,49	-1,04	-0,06
9	CID_14836583	3,34	-1,51	-0,74
10	CID_15322029	-112,41	-120,26	-2,49
11	CID_6025	4,13	-0,31	-0,02
12	CID_11289	3,81	-2,78	-0,65
13	CID_15354	3,9	-0,62	-0,02
14	CID_44104	2,93	-1,78	-0,55
15	CID_82012	2,94	-2,75	-0,39
16	CID_124958	4,71	-1	-0,26
17	CID_128246	2,34	-3,17	-0,81
18	CID_233184	-2,61	-5,15	-1,49
19	CID_256372	1,88	-0,88	-0,38
20	CID_449459	-946,34	-948,2	-1,22
21	CID_154895	2,27	-3,54	-1,36
22	CID_1928983	4,49	-1,04	-0,06
23	CID_3005573	3,26	-2,01	-0,46
24	CID_3033767	-1892,67	-1895,75	-2,66
25	CID_6378383	3,79	-3,76	-0,92
26	CID_6444319	2,78	-1,45	-0,62
27	CID_7144283	2,48	-1,63	-0,48
28	CID_9948568	3,79	-1,29	-0,81
29	CID_10090465	1,26	-2,99	-2,01
30	CID_11023184	4,50	-1,74	-0,77
31	CID_11771109	4,98	-0,72	-0,26
32	CID_12765864	2,96	-0,63	-0,08
33	CID_12963256	2,97	-1,92	-0,94
34	CID_14403301	3,83	-1,53	0,75
35	CID_1442919	1,98	-3,73	-2,55
36	CID_16127212	3,39	-1,72	-0,46
37	CID_18656393	-3778,27	-3783,43	-0,65

38	CID_18656473	2,24	-3,88	-0,5
39	CID_19895879	3,69	-1,44	-0,9
40	CID_21543194	3,03	-1,03	-0,3
41	CID_21599708	4,09	-1,05	-0,72
42	CID_22274907	-91,58	-99,11	-0,81
43	CID_43591681	3,3	-0,49	-0,21
44	CID_51340413	-86,35	-94,31	-1,18
45	CID_53404878	1,56	-1,12	-0,49
46	CID_53427954	3,66	-2,21	-0,76
47	CID_54066329	1,47	-1,81	-1,42
48	CID_5407325	3,05	-1,4	-1,24
49	CID_57781632	2,6	-1,78	-0,76
50	CID_59816644	2,34	-0,83	-0,49
51	CID_63429023	3,96	-1,58	-1,58
52	CID_63429145	3,53	-0,92	-0,6
53	CID_63429233	3,96	-1,58	-0,66
54	CID_63434493	3,38	-1,67	-1,36
55	CID_63434703	4,02	-1,46	-0,43
56	CID_63435439	3,25	-1,82	-0,9
57	CID_63519203	1,46	-0,83	-0,39
58	CID_63520583	3,76	-1,05	-0,44
59	CID_65444255	4,32	-0,95	-0,34
60	CID_66033501	3,05	-1,14	-0,93
61	CID_66036606	-57,26	-64,7	-2,55
62	CID_66036622	3,18	-1,32	-0,57
63	CID_66802267	1,3	-1,51	-0,92
64	CID_67828768	2,29	-5,53	-1,96
65	CID_68129353	4,37	-2,23	-1,07
66	CID_68129352	-106,31	-115,11	-3,77
67	CID_68129354	0,22	-2,54	-2
68	CID_68129356	3,31	-2,34	-1,38
69	CID_68988497	2,68	-2,07	-1,08
70	CID_70038182	2,01	-2,16	-1,25
71	CID_70094964	-67,87	-73,75	-0,38
72	CID_70095334	3,85	-2,11	-1,39
73	CID_70618053	2,33	-1,84	-0,31
74	CID_81644314	3,09	-1,46	-0,3
75	CID_82088044	2,28	-1,52	-1,03
76	CID_82946136	2,61	-1,83	-0,69
77	CID_3033894	3,33	-0,55	-0,19
78	CID_3033897	3,72	-4,24	-0,12
79	CID_3035198	-8,89	-17,29	-4,95

80	CID_3035212	-940,98	-946,25	-0,74
81	CID_3035644	4,93	-2,02	-0,69
82	CID_3035792	-4,02	-9,92	-2,92
83	CID_3035917	4,79	-1,14	-0,27
84	CID_3036105	2,78	-1,29	-0,32
85	CID_3036580	2,49	-3,21	-1,08
86	CID_308118	2,66	-1,61	-1,03
87	CID_4715033	2,67	-2,22	-0,22
88	CID_5702023	5,84	-1,76	-0,02
89	CID_5893617	2,86	-1,77	-0,55
90	CID_54547092	2,67	-1,85	-0,86
91	CID_89368496	-0,59	-2,21	-1,42
92	CID_89377666	3,19	-2,91	-0,54
93	CID_89384099	3,88	-1,48	-1,01
94	CID_91827320	3,57	-2,04	-1,13
95	CID_93723796	2,6	-1,04	-0,83
96	CID_93723797	2,52	-3,65	-0,78
97	CID_98499150	3,86	-1,02	-0,45
98	CID_98499152	3,64	-2,12	-0,87
99	CID_98500411	-62,01	-69,56	-0,15
100	CID_98505650	4,03	-0,77	-0,38
101	CID_14469003	-5669,43	-5670,83	-0,59
102	CID_15329709	4,04	-0,52	-1,16
103	CID_15428673	3,15	-1,06	-0,04
104	CID_15819119	5,01	-0,52	-0,04
105	CID_15852916	-84,78	-92,91	-2,63
106	CID_18379478	2,56	-1,65	-0,71
107	CID_46853966	-60,81	-69,99	-3,38
108	CID_53438272	3,78	-1,55	-0,55
109	CID_28946968	1,97	-2,23	-0,66
110	CID_53746489	0,38	-4,57	-1,59
111	CID_53758323	2,80	-0,50	-0,08
112	CID_53831669	-0,91	-4,21	-1,49
113	CID_53846937	-3818,56	-3822,27	-1,29
114	CID_53858561	-3778,77	-3784,62	-0,66
115	CID_53892537	3,81	0,66	0,00
116	CID_53961468	-9450,64	-9450,87	-0,66
117	CID_54006775	0,93	0,89	-0,66
118	CID_54138837	-3779,72	-3785,82	-0,71
119	CID_54177570	-2838,14	-2844,42	-0,71
120	CID_54193874	3,69	-1,37	-0,86
121	CID_54205466	1,40	-0,19	-0,53

122	CID_ 54225132	1.24	-3.40	-2.39
123	CID_ 56630553	-107,43	-116,87	-2.94
124	CID_ 56991557	3.87	-1.15	-0.78
125	CID_ 54262425	-948,92	-953,13	-0.78
126	CID_ 54236883	0.08	-7.84	-1.25
127	CID_ 54491632	2.67	-0.34	-0.08
128	CID_ 54367061	3.23	-2.82	-1.12
129	CID_ 54286376	1.83	-1.51	-0.58
130	CID_ 54507355	-943,07	-946,57	-0.76
131	CID_ 54547092	2.67	-1.85	-0.86
132	CID_ 54226126	-1888,08	-189,25	-0.14
133	CID_ 57212908	4.08	-1.01	-0.65
134	CID_ 57216308	3.00	-1,02	-0.65
135	CID_ 57288660	3.18	-1.45	-1.01
136	CID_ 57953604	-103,65	-113,23	-2.82
137	CID_ 58085013	-11.05	-16.16	-3.60
138	CID_ 59132986	3.94	-0.92	-0.19
139	CID_ 20232270	2.80	-0.75	0.00
140	CID_ 20475606	2.79	-1.58	-1.02
141	CID_ 20539305	1.12	-2.20	-1.64
142	CID_ 20539368	-2833.71	-2837.86	-0.45
143	CID_ 20539430	-5668.60	-5672.91	-0.19
144	CID_ 20663399	2.61	-1.11	-0.04
145	CID_ 21469833	-4.27	-11.49	-1.31
146	CID_ 21645199	4.66	-0.87	-0.07
147	CID_ 21660070	2.73	-0.88	-0.26
148	CID_ 21661678	4.17	-2.69	-1.27
149	CID_ 22402151	-95.80	-102.78	-2.49
150	CID_ 22886876	1.38	-3.10	-1.13
151	CID_ 63429337	-3.28	-0.95	-0.35
152	CID_ 63429552	1.21	-0.84	-0.44
153	CID_ 63429755	3.40	-0.88	-0.46
154	CID_ 63430277	-76.05	-82.85	-1.18
155	CID_ 63431000	0.54	-1.25	-0.54
156	CID_ 63431180	4.19	-1.26	-0.38
157	CID_ 63431232	2.70	-1.55	-0.91
158	CID_ 63434992	3.15	-1.78	-0.61
159	CID_ 63443948	3.86	-0.70	-0.26
160	CID_ 63444176	3.66	-1.15	-0.79
161	CID_ 63460603	3.13	-0.77	-0.23
162	CID_ 67629352	2.99	-0.30	-0.05
163	54. 67724573	3.78	-1.15	-0.18

164	CID_67724641	2.56	-2.13	-0.78
165	CID_68129353	2.52	-2.51	1.79
166	CID_69190864	1.44	-2.35	-0.73
167	CID_70441519	4.13	-2.17	-0.62
168	CID_70842003	4.23	-1.23	-0.48
169	CID_71119734	-76.26	-84.08	-2.12
170	CID_71377877	-96.82	-102.82	-4.94
171	CID_71434061	2.89	-1.37	-0.80
172	CID_72312031	4.95	-1.82	-0.49
173	CID_73292670	2.54	-1.33	-0.88
174	CID_81874770	3.61	-2.04	-0.49
175	CID_81874772	-95.36	-101.55	-1.97
176	CID_81874828	2.11	-2.28	-0.43
177	CID_84462	2.01	-2.16	-1.25
178	CID_5342023	3.84	-1.77	-0.03
179	CID_11470969	1.46	-0.98	-0.20
180	CID_11473522	3.49	-2.51	-1.01
181	CID_11616648	3.89	-2.01	-1.32
182	CID_11801226	4.28	-2.64	-1.18
183	CID_12117753	1.75	-2.22	-1.61
184	CID_13830589	1.94	-2.79	-1.70
185	CID_14469003	-5669.43	-5670.83	-0.59
186	CID_844662	2.01	-2.16	-1.25
187	CID_12341183	1.75	-2.79	-1.70
188	CID_14466003	-5669.43	-5670.83	-0.59
189	CID_81875152	4.36	-0.87	-0.23
190	CID_81878195	3.39	-0.87	-0.89
191	CID_81878196	3.78	-1.74	-0.81
192	CID_85574632	4.21	-0.70	-0.03
193	CID_85630675	-12285.43	-12285.62	-0.56
194	CID_85883057	4.03	-0.33	-0.56
195	CID_88339778	4.41	-0.94	-0.42
196	CID_894229560	-941,38	-945,45	-0,23
197	CID_92861145	-1060.17	-1065.47	-0.03
198	CID_88392015	0.86	-1.05	-0.53
199	CID_91227839	-82.07	-84.45	-3.67
200	CID_90736667	3.74	-0.88	-0.34



**TITRE: Recherche de nouveaux inhibiteurs d'Escherichia.coli undecaprenyl pyrophosphate synthase par la méthode du docking moléculaire**

**Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en biochimie moléculaire et santé**

L'étude des interactions protéine – ligand et le docking moléculaire représentent des techniques performantes dans la modélisation de l'activité biologique. Le docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe à partir de molécules isolées.

Le programme d'arrimage moléculaire Surflex-dock a été développé pour aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique. Avec un taux de valeurs de RMSD inférieures à 2 Å de 82.08%, les performances du programme Surflex-dock sont incontestables.

La suite de notre étude consiste à rechercher de meilleurs inhibiteurs d'Escherichia.coli undecaprenyl pyrophosphate synthase, une enzyme qui catalyse la formation du support lipidique, élément essentiel pour la biosynthèse du peptidoglycane bactérien.

Nous avons testé dans ce but 200 similaires de l'inhibiteur retenu ou de référence, le composé 53Q. Les résultats du docking montrent que les affinités des 3 similaires : CID\_5702023 ( $5,84 \text{ M}^{-1}$ ), CID\_15819119 ( $5,01 \text{ M}^{-1}$ ) et CID\_11771109 ( $4,98 \text{ M}^{-1}$ ) sont supérieures à celle du 53Q ( $1,78 \text{ M}^{-1}$ ).

De ce fait, nous proposons ces trois composés comme de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'enzyme Escherichia.coli undecaprenyl pyrophosphate synthase, cependant des tests *in vitro* et *in vivo* sont indispensables pour valider ces résultats.

Il faut enfin noter que tous ces composés proposés possèdent des propriétés pharmacologiques appropriées qui sont en conformité avec les critères imposés par la règle de Lipinski.

**Mots clés :** Interaction protéine-ligand, Docking moléculaire, Surflex, RMSD, Le coefficient de corrélation, Affinité, Escherichia .coli undecaprenyl pyrophosphate synthase, Peptidoglycane bactérien.

**Jury d'évaluation :**

<b>Rapporteur : Mr. CHIKHI A.</b>	Professeur	(UFM Constantine)
<b>Président du jury : Mr. MOKRANI E. H.</b>	Maître assistant	(A - UFM Constantine)
<b>Examineur : Mme. TENIOU S.</b>	Maître assistante	(A - UFM Constantine)