



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biochimie et Biologie

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا

Cellulaire et Moléculaire

الخلوية و الجزيئية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Intitulé :

Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la rénine par criblage virtuel

Présenté et soutenu par : Beguiret Oumnia

Le : 13/06/2016

Belgat Nour El Houda

Jury d'évaluation :

Président du jury : CHIKHI A. (Professeur - UFM Constantine).

Rapporteur : MOKRANI E.H. (Maître assistant «A» - UFM Constantine).

Examineurs : BENSEGUENI A. (Professeur - UFM Constantine).

Année universitaire

2015 – 2016

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah qui nous a donné la force et la puissance pour réaliser et achever ce travail dans de bonnes conditions.

Après un long parcours notre mémoire touche à sa fin. Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre rapporteur Mr MOKRANI E.H. Maître assistant « A » à l'Université de Constantine 1 pour nous avoir encadré durant toute la période de préparation du mémoire, pour tout le temps qu'il nous a consacré à nous former, les conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi de ce travail.

Nous tenons à exprimer toute reconnaissance à Monsieur BENSEGUENI A. de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Nous exprimons notre profonde gratitude à Monsieur le professeur Chikhi A. à l'université de Constantine 1 de nous avoir fait l'honneur de participer au jury de ce mémoire.

Enfin, nous remercions toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Introduction générale 1

Revue bibliographique

Chapitre 1 : La rénine et l'HTA

1. Introduction 3

2. Epidémiologie 4

3. Traitement de l'HTA 5

 3-1 les diurétique thiazidique 5

 3-2 Les bêtabloquants 5

 3-3 Les Bloquants des canaux calciques (BCC) (Les antagonistes calciques) 5

 3-4 Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA) 6

 3-5 Les antagonistes des récepteurs à l'angiotensine 2 (ARA2) 6

 3-6 Les inhibiteurs de la rénine 6

4. Rénine 6

 4-1 Synthèse de la rénine 7

 4-2 Rôle physiologique 7

 4-3 Site actif 8

5. Les inhibiteurs directs de la rénine 9

Chapitre 2 : Criblage virtuel

1. Introduction 11

2. Les outils du criblage virtuel 12

 2-1 Les structures protéiques 12

 2-2 Les Chimiothèques 13

 1.1.1. La Chimiothèque de l'Institut Curie-CNRS 13

 1.1.2. La Chimiothèque Nationale Française 13

 1.1.3. Pubchem 14

 1.1.4. Zinc 14

 2-3 Les programmes 14

Partie pratique

Chapitre 3 : Matériel et Méthodes

1. Matériels.....	16
1-1 Microordinateur	16
1-2 Programmes	16
2. Méthodes	17
2-1 Choix et préparation du récepteur	17
2-2 Définition de la cavité.....	19
2-3 Préparation de la Chimiothèque	21
2-4 Génération du protomol	21
2-5 Criblage Virtuel	22
3. Règles de lipinski	23

Chapitre 4 : Résultats et Discussion

1. Test de fiabilité du programme surflex	24
2. Etude d'interactions Rénine-composé actif (ChEMBL608264-1)	26
3. Etude d'interactions de l'enzyme Rénine avec les différents composés proposés	28
3-1 Le composé 15253-3	29
3-2 Le composé 15254-8	30
3-3 Le composé 14758-3	32
3-4 Le composé 15255-5	33
3-5 Le composé 1643	35
3-6 Le composé 11532	36
4. Règles de Lipinski	38

Conclusion	39
-------------------------	-----------

Références bibliographiques

Résumé

<u>Tableau N° 1</u> : Classification de l'hypertension artérielle selon l'Organisation Mondiale de la Santé.....	4
<u>Tableau N° 2</u> : Inhibiteurs de la rénine avec IC ₅₀	9
<u>Tableau N° 3</u> : Quelques exemples de logiciels de criblage virtuel.....	15
<u>Tableau N° 4</u> : Les codes PDB des complexes rénine humaine-inhibiteur avec résolution...17	
<u>Tableau N° 5</u> : Nom et position de chaque résidu de la cavité de la rénine préparée.....	20
<u>Tableau N° 6</u> : Valeurs seuils des différentes propriétés physico-chimiques définissant la règle de Lipinski.....	23
<u>Tableau N° 7</u> : Résultats des meilleures molécules sorties du criblage virtuel.....	28
<u>Tableau N° 8</u> : Critères de règle de Lipinski pour les 7 inhibiteurs étudiés	38

Liste des figures

Figure N° 1 : Constituants du système rénine-angiotensine.....8

Figure N° 2 : structure de la rénine en présence de l'inhibiteur l'aliskiren10

Figure N° 3 : Criblage virtuel *in Silico* 12

Figure N° 4 : Superposition des résidus de la cavité de la rénine entre les structures PDB étudiées.18

Figure N° 5 : La chaîne A de la protéine 3Q5H avec l'inhibiteur RX6 entourant le site d'interaction.
.....18

Figure N° 6 : La présence de plusieurs ouvertures dans la cavité de la protéine 19

Figure N° 7 : Représentation de la Cavité de la rénine préparée 19

Figure N° 8 : Protomol généré pour la rénine par extension de 6 Å autour du ligand (code PDB : 3Q5H)..... 22

Figure N° 9 : Pourcentage des actives sorties en fonction du classement du criblage total (courbe d'enrichissement).....24

Figure N° 10 : Courbe qui représente la première portion des actives sorties en fonction du classement des molécules sorties du criblage total.....25

Figure N° 11 : Visualisation des interactions Rénine-CHEMBL608264-1.....27

Figure N° 12 : Positionnement du composé actif CHEMBL608264-1 au sein du site actif de la rénine.....27

Figure N° 13 : Analyse visuelle des interactions Rénine-composé **15253-3**.....29

Figure N° 14 : Représentation du positionnement du composé **15253-3** au niveau du site actif de la rénine.....30

Figure N° 15 : Analyse visuelle des interactions Rénine-composé **15254-8**.....31

Figure N° 16 : Représentation du positionnement du composé **15254-8** au niveau du site actif de la rénine.....31

Figure N° 17 : Analyse visuelle des interactions Rénine-composé **14758-3**.....32

Figure N° 18 : Représentation du positionnement du composé **14758-3** au niveau du site actif de la rénine.....33

<u>Figure N° 19</u> : Analyse visuelle des interactions Rénine-composé 15255-5	34
<u>Figure N° 20</u> : Représentation du positionnement du composé 15255-5 au niveau du site actif de la rénine.....	34
<u>Figure N° 21</u> : Analyse visuelle des interactions Rénine-composé 1643	35
<u>Figure N° 22</u> : Représentation du positionnement du composé 1643 au niveau du site actif de la rénine.....	36
<u>FigureN°23</u> :Analyse visuelle des interactions Rénine-composé 11532	37
<u>Figure N° 24</u> : Représentation du positionnement du composé 11532 au niveau du site actif de la rénine.....	37

Liste des abréviations

Å : Angström

AI : Angiotensine 1

AII : Angiotensine 2

ARA2 : Les antagonistes des récepteurs à l'angiotensine 2

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

BCC : Les bloquants des canaux calciques (Les antagonistes calciques)

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DUD-E : Database of Useful Decoys : Enhanced

ECA : L'enzyme de conversion de l'angiotensine

HTS: High-throughput screening

IC₅₀: Inhibitory concentration 50

IECA : Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

KDa: kilo Dalton

mmHg: Millimètre mercure

NaCl: Chlorure de sodium

NCBI: National Center for Biotechnology Information

NIH: National Institutes of Health

nM: nano Molaire

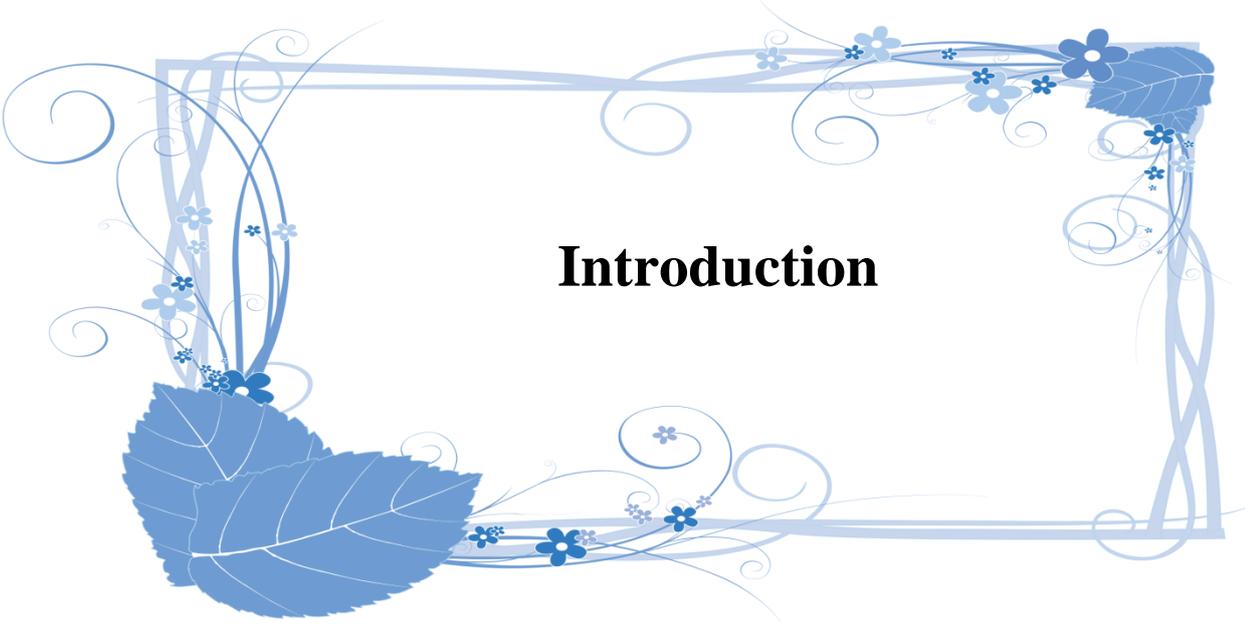
OMS : Organisation mondiale de santé

Pdb : Protein Data Bank

SRAA : Système rénine-angiotensine-aldostérone

UCSF : L'Université de Californie à San Francisco

VMD: Visual molecular dynamics

A decorative border in shades of blue surrounds the text. It features elegant, swirling lines, small five-petaled flowers, and larger, detailed leaves with visible veins. The border is rectangular, with the corners and midpoints of the sides adorned with these floral and leaf motifs.

Introduction

Nous vivons dans un environnement qui évolue rapidement. Partout dans le monde, la santé humaine subit l'influence des mêmes forces puissantes : le vieillissement de la population, l'urbanisation rapide et la généralisation de modes de vie malsains. De plus en plus, les pays riches et les pays pauvres sont confrontés aux mêmes problèmes de santé. L'un des exemples les plus frappants de cette évolution est le fait que les maladies non transmissibles comme l'hypertension artérielle (HTA) ont maintenant pris le pas sur les maladies infectieuses en tant que principales causes mondiales de mortalité. L'hypertension touche déjà plus de deux milliards de personnes à travers le monde et favorise la survenue d'accidents cardiaques et vasculaires cérébraux. Première maladie chronique dans le monde, l'HTA engendre près de 9 millions de décès par an [1].

Une des enzymes clés impliquées dans cette maladie est la Rénine. C'est une aspartylprotéase clivant spécifiquement l'angiotensinogène pour produire l'angiotensine I qui se transforme, par la suite en angiotensine II (un octapeptide qui augmente la pression artérielle d'une façon significative) [2]. L'inhibition de la rénine empêche donc la formation d'angiotensine I diminuant ainsi la pression artérielle [3].

Actuellement, il existe un seul médicament mis sur le marché pour traiter l'HTA en inhibant potentiellement la rénine, il s'agit d'aliskiren commercialisé sous le nom de Rasilez, ce dernier possède de nombreux effets secondaires les plus observés sont les vertiges, la diarrhée, l'arthralgie, hyperkaliémie, dans ce contexte notre travail s'inscrirait dans une démarche de contribution au développement de nouveaux inhibiteurs de la rénine [4] [5].

Afin de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs, nous avons fait appel aux approches par criblage virtuel. Ces méthodes consistent à simuler l'affinité d'un très grand nombre de ligands pour une cible thérapeutique donnée, ce qui permet de gagner tant au niveau du temps que de l'argent investi. Initié au début des années 1980, le criblage virtuel s'est développé pour devenir un outil incontournable dans la recherche de produits biologiquement actifs [6].

De nos jours, il existe un bon nombre de logiciels de criblage virtuel (commerciaux ou libres) tels que le programme Surflex qui a déjà aidé à la conception de nouveaux médicaments. D'ailleurs, ce programme a été utilisé, dans le présent travail, pour cribler virtuellement 21844 composés appartenant à la chimiothèque nationale française [7] dans la perspective de proposer de nouveaux inhibiteurs de la rénine, faisant l'objet de notre étude.

L'objectif de ce travail est, dans un premier temps, de tester la fiabilité du programme Surflex en traçant la courbe d'enrichissement afin de juger la capacité de ce programme à discriminer les molécules réellement actives sur la rénine vis-à-vis des autres molécules de la chimiothèque.

Cribler virtuellement 21844 composés issus de la chimiothèque nationale française vis-à-vis de la rénine en évaluant leur score. La visualisation des interactions ainsi que le positionnement de ces composés dans le site actif étudié nous permettra, dans un deuxième temps, de sélectionner les meilleures molécules de la chimiothèque inhibant sélectivement la rénine.

Enfin, l'application de la règle de Lipinski nous permettra de nous renseigner sur les propriétés pharmacocinétiques : Absorption, Distribution, Métabolisation et Elimination (ADME) des composés proposés.

A decorative border in shades of blue surrounds the text. It features elegant, swirling lines, small five-petaled flowers, and larger, detailed leaves with visible veins. The border is thicker at the corners and tapers towards the center.

Chapitre 01 :

La rénine et l'HTA

1. Introduction

À chaque battement, notre cœur pompe une certaine quantité de sang transportée par les artères vers les autres organes. Lorsque ce flux de sang parcourt notre corps, il exerce une pression sur la paroi de nos artères, c'est ce qu'on appelle la pression ou tension artérielle. Si cette pression est en permanence trop élevée, on parle d'hypertension artérielle (HTA). Selon l'OMS, l'HTA se définit par l'élévation permanente de la pression systolique (quand le cœur se contracte) au-dessus de 140 mmHg et/ou de la pression artérielle diastolique (quand le cœur se relâche) au-dessus de 90 mmHg (voir tableau N°1) [8].

Bien que l'HTA ne s'accompagne généralement d'aucun symptôme (surnommée le tueur silencieux), elle est en réalité un redoutable pourvoyeur de complications. Les organes ainsi touchés sont : le cerveau (Accident Vasculaire Cérébral), le rein (insuffisance rénale aigue) ou le cœur (insuffisance cardiaque) [9,10]. En effet, l'HTA est la première cause inévitable de maladie cardiovasculaire et d'AVC dans le monde. Plus la pression artérielle est forte, plus le risque est élevé d'endommager le cœur et les vaisseaux sanguins au niveau des organes essentiels comme le cerveau et les reins. Les conséquences de l'hypertension sur la santé peuvent être aggravées par d'autres facteurs tels que le tabagisme, la mauvaise alimentation, l'usage nocif de l'alcool, le manque d'activité physique et l'exposition à un stress permanent, ainsi que l'obésité, l'hypercholestérolémie et le diabète sucré [8].

Tableau N° 1 : Classification de l'hypertension artérielle selon l'Organisation Mondiale de la Santé [11].

CATÉGORIE	SYSTOLIQUE (mm Hg)		DIASTOLIQUE (mm Hg)
Optimale	< 120	et/ou	< 80
Normale	< 130	et/ou	< 85
Normale élevée	130-139	et/ou	85-89
Grade 1	140-159	et/ou	90-99
Grade 2	160-179	et/ou	100-109
Grade 3	≥ 180	et/ou	≥ 110
Hypertension systolique isolée	≥ 140	et	< 90

2. Epidémiologie

L'HTA est désormais en passe de devenir un véritable fléau qui ronge de plus en plus la santé des adultes aux quatre coins du monde. En effet, l'OMS a annoncé plus d'un milliard de personnes souffrant d'hypertension à travers le monde. Première maladie chronique dans le monde, l'HTA est à l'origine de près de 9.4 millions de décès par an. Pire encore, ce problème prendra de plus en plus d'ampleur si rien n'est fait pour enrayer cette épidémie.

En Afrique, l'OMS estime qu'environ 46 % des adultes sont hypertendus et cette proportion augmente de plus en plus [12]. Si des mesures de prévention ne sont pas prises, le nombre d'hypertendus dépassera 150 millions d'ici 2025.

La prévalence de l'hypertension artérielle (HTA) est de plus en plus croissante, devenant la première cause d'hospitalisation et de mortalité hospitalière en Algérie. Cette maladie touche environ 35% de la population et beaucoup d'autres ignorent en être atteints [13].

3. Traitement de l'HTA

L'hypertension artérielle peut, en grande partie, être évitée en adoptant au plutôt des changements du mode de vie. Pour bien des gens, une alimentation saine et un programme d'exercices peuvent suffire à équilibrer la tension artérielle. Si le régime alimentaire et l'exercice ne suffisent pas à eux seuls, la prise de médicaments devient alors nécessaire pour équilibrer la tension artérielle [5]. On distingue :

3.1. Les diurétiques thiazidiques

Première classe d'antihypertenseur mise en marché, les diurétiques ont en commun la propriété d'augmenter l'élimination du sodium et de l'eau par les reins (diminution de la réabsorption de NaCl et diurèse), abaissant ainsi la pression qui s'exerce sur leur paroi et diminuant le volume du liquide qui circule via les artères [14]. Les effets indésirables les plus fréquemment rencontrés sont : Hyperuricémie, Hypokaliémie, Hyponatrémie, Hypomagnésémie, Dysfonction sexuelle, Déshydratation, Insuffisance rénale et Photosensibilité [11].

3.2. Les bêtabloquants

Les bêtabloquants sont des antagonistes spécifiques et compétitifs des récepteurs bêta-adrénergiques du système nerveux sympathique. Ces médicaments agissent en bloquant de façon compétitive les récepteurs (bêta) des catécholamines (adrénaline, isoprénaline et dopamine surtout) entraînant ainsi une baisse de la tension artérielle, un ralentissement de la fréquence cardiaque et une diminution de la force de contraction du cœur. Ces antihypertenseurs doivent être utilisés avec précaution car présentant quelques effets secondaires citons à titre d'exemple : des troubles digestifs, un sentiment de fatigue, une sensation de pieds et de mains froids, un ralentissement du rythme cardiaque et des troubles du sommeil [5,15].

3.3. Les Bloquants des canaux calciques (BCC) « Les antagonistes calciques »

Les inhibiteurs calciques agissent en inhibant le transfert transmembranaire du calcium. Ils diminuent ainsi le taux du calcium libre intracellulaire, ce qui a pour conséquence de relâcher les artères (vasodilatation). Ainsi, la pression artérielle diminue [5]. Les effets secondaires de ces molécules sont liés à leurs effets vasodilatateurs ; œdème des membres inférieurs, céphalées, rougeurs au niveau du visage...etc.

3.4. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA)

Il s'agit de médicaments qui détendent les vaisseaux sanguins en inhibant l'enzyme de conversion nécessaire à la production de l'angiotensine II, qui fait resserrer, contracter et durcir les vaisseaux sanguins. Les effets indésirables les plus fréquemment rencontrés sont : Toux, Étourdissements, Hyperkaliémie, Angioedème (rare mais sérieux).

3.5. Les antagonistes des récepteurs à l'angiotensine 2 (ARA2)

Ils agissent par blocage spécifique et compétitif des récepteurs naturels de l'angiotensine 2 (une hormone naturellement produite par les reins) en entraînant un relâchement des vaisseaux sanguins, ce qui diminue la pression artérielle. Ils ont des effets comparables à ceux des inhibiteurs de l'ECA mais sont mieux tolérés que ces derniers. Bien que ces antihypertenseurs présentent très peu d'effets secondaires, ils doivent être utilisés avec précaution notamment chez les personnes souffrant d'insuffisance rénale. Les effets indésirables les plus fréquemment rencontrés sont : Étourdissements, Céphalées, Hyperkaliémie et Angioedème (rare mais sérieux) [16].

3.6. Les inhibiteurs de la rénine

La rénine catalyse l'étape décisive du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) et détermine la quantité formée d'angiotensine II (un octapeptide qui augmente la pression artérielle d'une façon significative). Les inhibiteurs de cette enzyme constituent la plus récente classe des antihypertenseurs bloquant le SRAA dont l'action antihypertensive est liée à la diminution d'Angiotensine II et à la baisse des résistances périphériques totales.

Leur effet potentiel en faisant abaisser significativement la tension artérielle, leur effet bénéfique d'un point de vue physiologique, ainsi que leur effet inhibiteur du SRAA (occupe désormais une place privilégiée dans le traitement de l'hypertension artérielle pourraient conférer aux inhibiteurs de la rénine des avantages par rapport aux autres classes d'antihypertenseurs. Ceci explique notre intérêt pour cette classe d'anti-hypertenseur [5].

4. Rénine

La rénine, aussi appelée angiotensinogénase, est une enzyme appartenant à la famille des protéases aspartiques, parmi lesquelles on retrouve également la pepsine, la cathepsine et chymosine. Etant une glycoprotéine de 40 kDa, la rénine existe sous forme homodimérique dont le site actif se situe dans une fente profonde entre les deux sous unités [17].

4.1. Synthèse de la rénine

La rénine est d'abord synthétisée sous la forme d'une grosse prépro-rénine contenant 406 acides aminés. Après l'excision de la séquence de tête constituée des 23 acides aminés amino-terminaux, la pro-rénine qui reste contient 383 acides aminés. La perte de la séquence pro de l'extrémité amino de la pro-rénine donne ensuite naissance à la rénine active, qui contient, de son côté, 340 acides aminés. Il est important de souligner que, juste, une partie de la pro-rénine est convertie en rénine active au niveau des reins. L'activation de la rénine se produit au niveau des granules sécrétoires des cellules juxtaglomérulaires ; cellules responsables de la production de la rénine au niveau des reins [5]. La demi-vie de la rénine actives dans la circulation est de 80 minutes ou moins. Sa seule fonction connue est de cliver le décapeptide angiotensine I de l'extrémité amino de l'angiotensinogène (substrat de la rénine) [18].

4.2. Rôle physiologique

La rénine intervient dans la première étape de la cascade de réactions du système rénine-angiotensine en catalysant la transformation de l'angiotensinogène en angiotensine 1 qui donnera elle-même l'angiotensine 2 (protéine contractant les vaisseaux sanguins) [5,19].

Autrement dit, l'importance de la rénine se rapporte entièrement à son rôle dans la génération de l'angiotensine 2. Ni l'AI ni l'AII ne peuvent être synthétisés en l'absence de rénine. [Figure 1] [20].

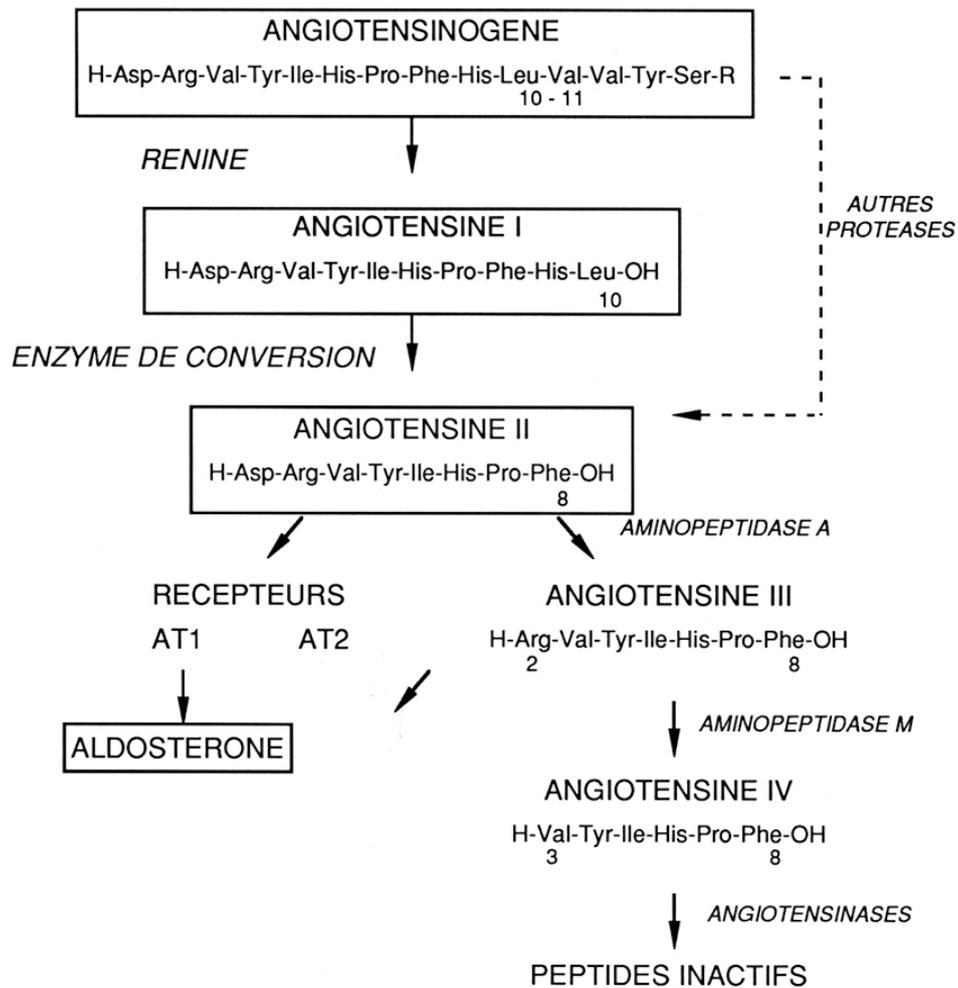


Figure N°1 : Constituants du système rénine-angiotensine [20].

4.3. Site actif

Des études récentes menées sur la rénine utilisant la cristallographie au rayon X ont fourni des informations précieuses sur la structure tridimensionnelle du site d'interaction de l'enzyme. Etant volumineuse, la cavité de la rénine peut accueillir 7 unités d'acides aminés du substrat (angiotensinogène) qui subit un clivage de la liaison peptidique entre les résidus Leu10 et Val11 afin de générer l'angiotensine 1. Ce clivage fait intervenir les résidus Asp38 et Asp226 du site actif de la rénine.

D'autre part, une étude récente menée par Gradman et *al* illustre l'importance de la poche S3^{SP} de la cavité, jouant un rôle cruciale dans la stabilité du complexe Rénine-angiotensinogène. A ce niveau, on distingue la présence des résidus : Thr12, Tyr14, Tyr155, Thr216, Ala218, Ser219 [17, 18,21].

5. Les inhibiteurs directs de la rénine (IDR)

Le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) est un régulateur important de la pression artérielle [22]. Les premières tentatives pour inhiber la rénine ont utilisé des anticorps anti rénine, ou des analogues synthétiques du pro-segment de la prorénine (précurseurs de la rénine) susceptibles de bloquer l'accès de l'angiotensinogène au site actif de la rénine [4]. Ces tentatives n'ont abouti qu'au développement de molécules ayant un très faible pouvoir inhibiteur vis-à-vis de la rénine humaine.

Une autre approche a consisté à synthétiser des analogues peptidiques de la partie N-terminale de l'angiotensinogène, en substituant les acides aminés de la liaison peptidique en position Leu10-Val11 du site de clivage par la rénine [4]. Certains de ces peptides avaient un pouvoir inhibiteur modeste et ont permis de faire avancer la recherche sur les inhibiteurs de la rénine. Ainsi, de 1980 à 1995, plusieurs inhibiteurs de la rénine humaine ont été synthétisés, comme ceux qui sont cités dans le tableau N°2 :

Tableau N°2 : Inhibiteurs de la rénine avec IC₅₀.

Inhibiteurs de la rénine	IC ₅₀
L'enalkiren	égale à 14 nM.
Le remikiren	égale à 0.8 nM.
Le zankiren	égale à 1.1 nM.
Le ciprokiren	égale à 0.65 nM.

Ces inhibiteurs avaient une faible biodisponibilité absolue par défaut d'absorption intestinale (1-2 %), une demi-vie courte, une grande variabilité pharmacocinétique inter sujets et une efficacité tensionnelle limitée chez les patients hypertendus. Leur coût de synthèse était extrêmement élevé, limitant la dose administrée et donc l'efficacité thérapeutique [4].

Une recherche active a redémarré dans les années 2000-2005 et de nouveaux inhibiteurs de la rénine humaine ont été développés, selon une nouvelle approche fondée sur l'analyse de la structure du site actif de la rénine en cristallographie aux rayons X. Parmi les quatre molécules récemment découvertes ; **l'aliskiren**. Commercialisée sous le nom **Rasilez**, cette molécule inhibe potentiellement la rénine avec un IC₅₀ égal à 0,6 nM [5]. Les effets

indésirables les plus couramment observés chez les patients sous l'aliskiren sont : les vertiges, la diarrhée, l'arthralgie (douleurs articulaires) et l'hyperkaliémie [23].

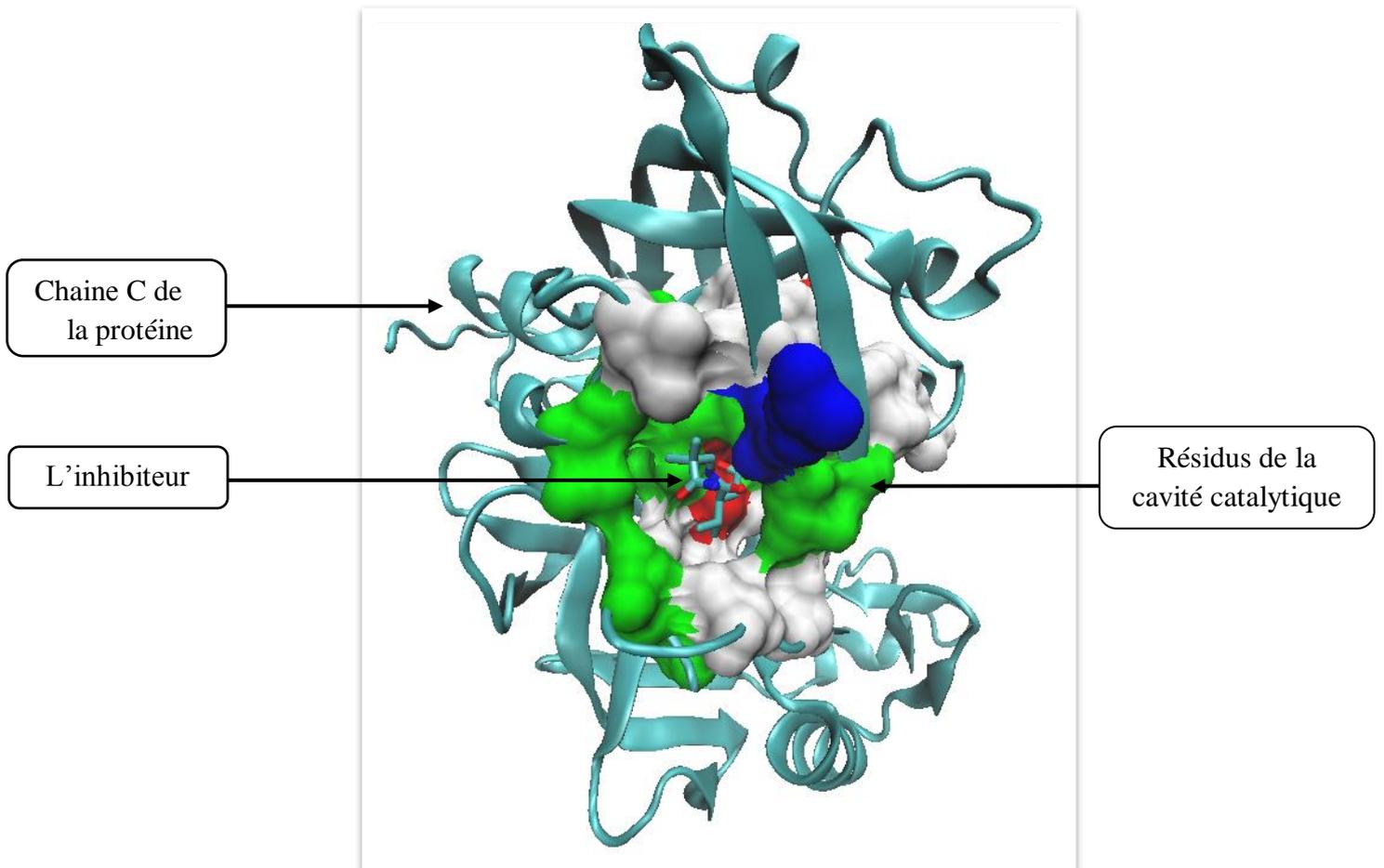


Figure N°2 : Structure de la rénine en présence de l'inhibiteur l'aliskiren.

A decorative border in shades of blue surrounds the text. It features elegant, swirling lines, small five-petaled flowers, and larger, detailed leaves with visible veins. The border is rectangular, with the corners and sides adorned with these floral motifs.

Chapitre 02 :

Criblage virtuel

1. Introduction

A l'époque, un grand nombre de médicaments ont été découverts tout simplement grâce à l'identification de principes actifs extraits de substances naturelles historiquement utilisées dans la médecine traditionnelle. Avec le temps, de nouvelles maladies ont émergé à travers le monde et les probabilités d'isoler des substances naturelles plus puissantes sont de plus en plus faibles. Cependant, le milieu du 19^{ème} siècle marque un tournant historique dans la recherche de nouveaux médicaments avec la synthèse de la première molécule à effet thérapeutique connue sous le nom « Aspirine ». Les avancées dans le domaine de la synthèse chimique et de la pharmacologie ont conduit à une démarche de recherche systématique permettant l'élaboration de nouveaux médicaments de plus en plus efficaces [24].

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 [25].

Le criblage virtuel, analogue *in silico* de l'HTS, peut schématiquement être assimilé à un entonnoir dans lequel on verse un grand nombre (généralement entre cent mille et dix millions) de composés (voir figure N°3), constituant la chimiothèque à cribler, pour obtenir, à l'aide d'un algorithme de criblage, un plus faible nombre (quelques dizaines à quelques milliers) de composés qui seront ensuite testés expérimentalement. Le rôle des méthodes de criblage est donc d'éliminer les composés supposés inactifs ou les molécules indésirables tout en priorisant les composés les plus susceptibles d'être actifs [26].

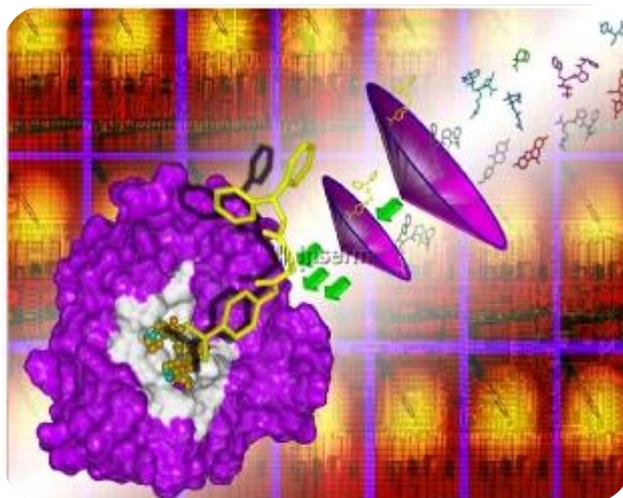


Figure N° 3 : Criblage virtuel *in Silico* [27].

Le criblage virtuel fait désormais partie intégrante de la plupart des programmes de recherche de composés bioactifs, que ceux-ci se déroulent en milieu académique ou industriel, car il constitue un complément essentiel au criblage biologique haut-débit [28]. Actuellement, un bon nombre de médicaments mis sur le marché proviennent d'une conception rationnelle basée sur des stratégies de criblage virtuel citons à titre d'exemple : saquinavir ; médicament utilisé pour le traitement du Sida, ou encore célécoxib qui inhibe sélectivement la cyclo-oxygénase 2 [29].

Tout criblage virtuel se décompose en trois étapes d'égale importance :

- 1- la mise au point de la chimiothèque de départ.
- 2- le criblage proprement dit,
- 3- la sélection d'une liste de touches virtuelles.

Il est à noter que toute erreur à chacune de ces trois étapes aura des conséquences importantes se traduisant généralement par une augmentation du taux de faux positifs et de faux négatifs. Il convient donc d'être très attentif à chacune d'entre elles [30].

2. Les outils du criblage virtuel

2.1. Les structures protéiques

La majorité des structures protéiques sont disponibles via la «*Protein Data Bank* ». Si cette banque ne contient pas la structure 3D d'une cible souhaitée, la solution à envisager en premier est une approche par modélisation comparative [31].

2.2. Les Chimiothèques

Une chimiothèque est une banque qui regroupe une collection de substances de synthèse et/ou d'extraits naturels. Cette collection de composés est un outil stratégique pour la recherche de nouveaux médicaments. En effet, les chercheurs peuvent y puiser des molécules pour les utiliser à des fins de recherche, dans l'espoir de découvrir des candidats médicaments prometteurs [32].

Il existe à l'heure actuelle deux grands types de chimiothèques : **les chimiothèques réelles** et **les chimiothèques virtuelles**. Les chimiothèques réelles sont souvent sous forme de plaques de puits contenant chacun un produit différent. Ces plaques sont donc prêtes à être testées. Les chimiothèques virtuelles qui nous intéressent dans le présent travail sont un ensemble d'informations plus ou moins organisées et hiérarchisées regroupant toute ou une partie des données concernant un ensemble de composés. Dans ce type de chimiothèques, les coordonnées de chaque composé sont enregistrées dans de fichiers avec les formats SMILES, SDF, MOL2 et PDB. Parmi les chimiothèques virtuelles nous citons : La chimiothèque Nationale Française, la chimiothèque de l'institut de curie, ZINC, PubChem [33].

2.2.1. La chimiothèque de l'Institut Curie

Elle a été créée à partir des molécules chimiques synthétisées par les chimistes de l'Institut Curie. Elle est le fruit de 60 années de synthèse de composés à visée médicinale. Cette chimiothèque académique, l'une des plus importantes de France, contient plus de 14000 substances issues de la synthèse de composés intermédiaires divers ou finaux obtenus au cours des programmes d'optimisation contre différentes cibles thérapeutiques [34].

2.2.2. La chimiothèque Nationale Française

Elle regroupe à l'heure actuelle plus de 63 000 molécules de synthèse et produits naturels issus des laboratoires académiques français. Cette collection est répertoriée dans une base de données et possède plusieurs modes de stockage physique : des solutions dans le DMSO (diméthylsulfoxyde) au format microplaque et des poudres dans des piluliers [5].

2.2.3. Pubchem

C'est une banque de données 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* (NCI). La chimiothèque *PubChem* répertorie 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, environnemental...etc. [35].

2.2.4. Zinc

ZINC est gratuit pour tout le monde à utiliser et à télécharger sur le site Web zinc.docking.org. Le service de cette base de données est fourni par le laboratoire Shoichet dans le Département de chimie pharmaceutique à l'Université de Californie à San Francisco (UCSF). Elle comporte environ 90 millions de composés qui peuvent simplement être achetés [36].

2.3. Les programmes

De nombreuses publications ont proposé des expériences parallèles menées avec un bon nombre de programmes de criblage virtuel (qui sont commercialisés ou non). Les plus fréquemment utilisés sont : AutoDock Vina, Gold, Flex X, Glide et Surflex (voir tableau N°3). Ces programmes reposent sur l'ajustement de fragments, commençant par construire un modèle «en négatif» du site actif dit «*protomol*» dans le cas du programme Surflex. Ce modèle est constitué par le volume accessible du site et les points d'interaction tels que les sites de liaison hydrogène, les charges ou les sites lipophiles. Ces algorithmes sont dits aussi de fragmentation / reconstruction car, dans un premier temps, la molécule est découpée en parties rigides et en liaisons flexibles. Par la suite, les parties rigides sont positionnées en premier et le ligand est reconstruit de proche en proche, explorant diverses conformations lors de la mise en place des liaisons flexibles. Cette approche permet un criblage rapide de vastes librairies de composés [37].

Tableau N°3 : Quelques exemples de logiciels de criblage virtuel.

Programme	Algorithme de recherche	Fonction de score
FlexX [38]	Fragmentation / reconstruction	Basée sur les connaissances
Glide [39]	Monte Carlo	Empirique
Gold [40]	Généétique	Basée sur les champs de force
Surflex-Dock [41]	Hammerhead modifié	Empirique

A decorative border in shades of blue surrounds the text. It features elegant, swirling lines, small five-petaled flowers, and larger, detailed leaves with visible veins. The border is rectangular, with the corners and sides adorned with these floral and leaf motifs.

Chapitre 03 :

Matériel et Méthodes

1. Matériel

1-1 Microordinateur

Dans le présent travail nous avons utilisé :

- Deux micro-ordinateurs avec une mémoire vive de 2 et 4 GO respectivement.

1-2 Programmes

1. Le système d'exploitation Ubuntu 14.04 LTS 64 bits [42].
2. Le programme Surfex v 2.745 [41] pour effectuer les calculs de criblage virtuel.
3. Le programme VMD v 1.9.1 [43] (*visual molecular dynamics*) d'un côté pour l'alignement des protéines et de l'autre côté pour la visualisation moléculaire.
4. Le programme MSViewer v 4.2 [44] pour la visualisation des interactions Protéine-Ligand.
5. Le programme Open Babel (2.0.2) [45] pour l'inter conversion des données chimiques d'un format à un autre de divers types (pdb, mol2, sdf,....etc.).
6. Le programme Gnuplot 5.0.3 [46] servant à produire des représentations graphiques a été utilisé dans le présent travail pour tracer la courbe d'enrichissement.
7. Chimiothèque d'évaluation provenant de la DUD-E (*Database of Useful Decoys : Enhanced*) [47] et contenant 387 molécules actives sur la rénine.
8. 21844 molécules de la chimiothèque Nationale Française [5].

2. Méthodes

2.1. Choix et préparation du récepteur

La structure tridimensionnelle de la rénine, faisant l'objet de notre étude, est disponible sous format *pdb* via la banque de donnée *Protein Data Bank*. Cette dernière nous a proposé 11 structures cristallographiques de complexes "rénine humaine-inhibiteur" avec une résolution inférieure à 2.5 Å (voir tableau N°4).

Tableau N° 4. Les codes PDB des complexes "rénines humaine-inhibiteur" avec leur résolution.

Code	Resolution	Inhibiteurs
3Q5H	2.16 Å	RX6
3Q4B	2.19 Å	RX5
2G21	2.20 Å	L1B
2FS4	2.20 Å	PZ1
2IL2	2.24 Å	LIX
2I4Q	2.30 Å	UA4
1BIL	2.40 Å	0IU
4GJC	2.40 Å	0MJ
2G20	2.40 Å	L1A
2G1R	2.42 Å	3IG
4RYC	2.45 Å	3ZK

Les 11 structures de la rénine présentées au-dessus ont été extraites de la PDB. Dans chaque structure, deux chaînes identiques sont présentes, la chaîne B a donc été supprimée afin de conserver uniquement la chaîne A. Par la suite, les molécules d'eau ont été supprimées. Au final, chaque fichier gardé présente seulement la chaîne A de la rénine.

Afin de sélectionner une structure de la Rénine ayant la cavité catalytique la plus ouverte, nous avons jugé utile d'aligner les 11 structures présentées dans le tableau N°4 en utilisant le programme VMD. Comme le montre la figure N°4, chaque résidu de la cavité catalytique d'une structure donnée est superposable à celui des autres structures (voir Figure N°4). Par conséquent, nous avons choisi parmi ces structures celle portant le code **3Q5H** car il s'agit d'une enzyme correctement résolue avec la plus faible résolution soit 2.16 Å (voir Figure N°5).

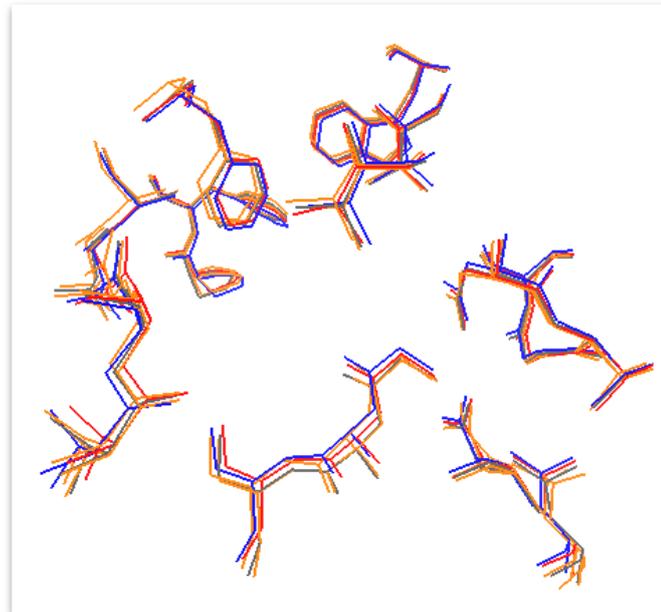


Figure N° 4 : Superposition des résidus de la cavité de la rénine entre les structures PDB étudiées.

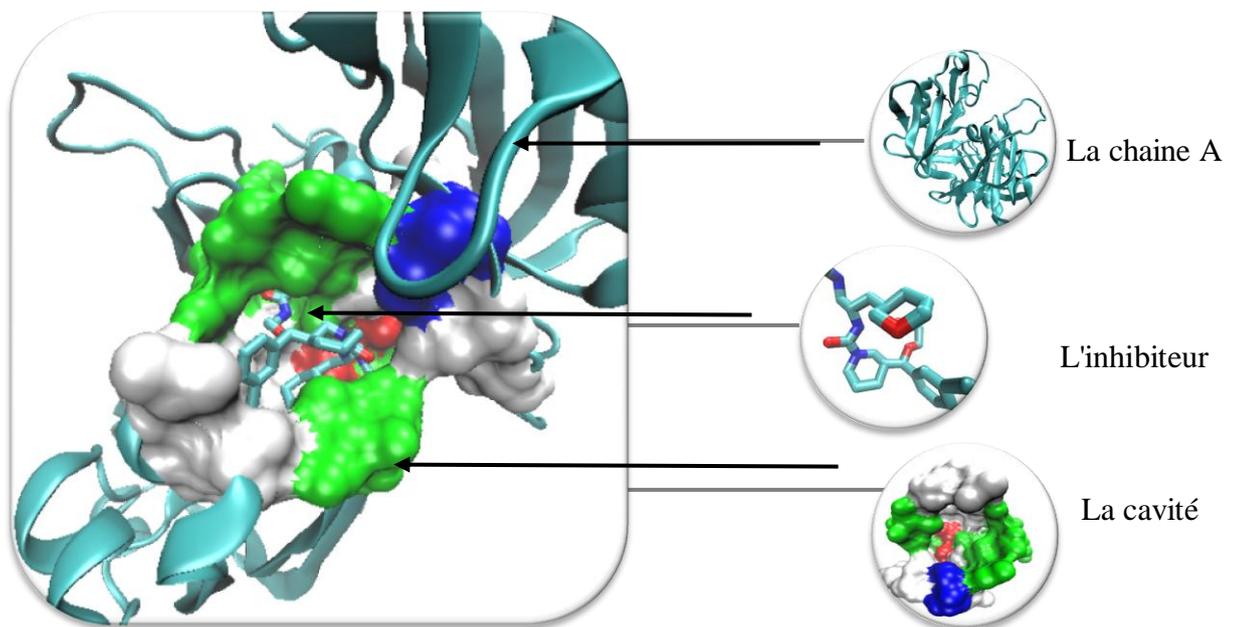


Figure N°5 : La chaîne A de la protéine 3Q5H avec l'inhibiteur RX6 entourant le site d'interaction.

2.2. Définition de la cavité

La cavité catalytique de la structure 3Q5H a été définie en utilisant le programme VMD. La visualisation des résidus entourant l'inhibiteur RX6 sur un périmètre de 6Å permet d'avoir, dans un premier temps, une cavité ayant plusieurs ouvertures (voir Figure N°6).

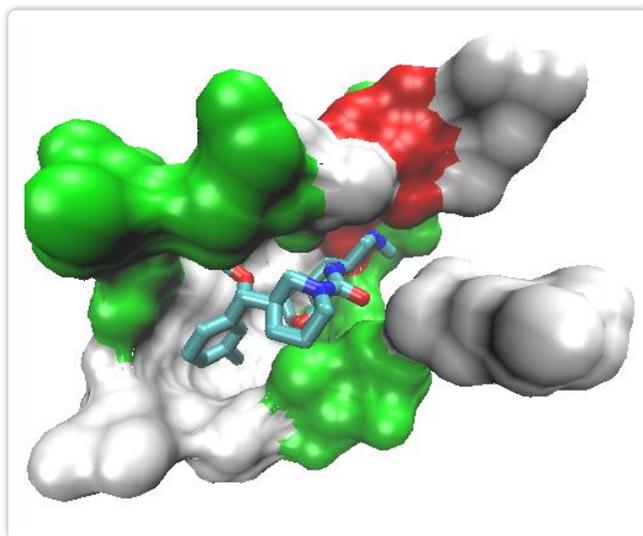


Figure N° 6 : La Présence de plusieurs ouvertures dans la cavité de la protéine.

Dans un deuxième temps, nous avons ajouté les résidus manquants afin d'avoir une cavité entière n'ayant qu'une seule ouverture permettant l'entrée du substrat ou l'inhibiteur. (Voir Figure N°7).

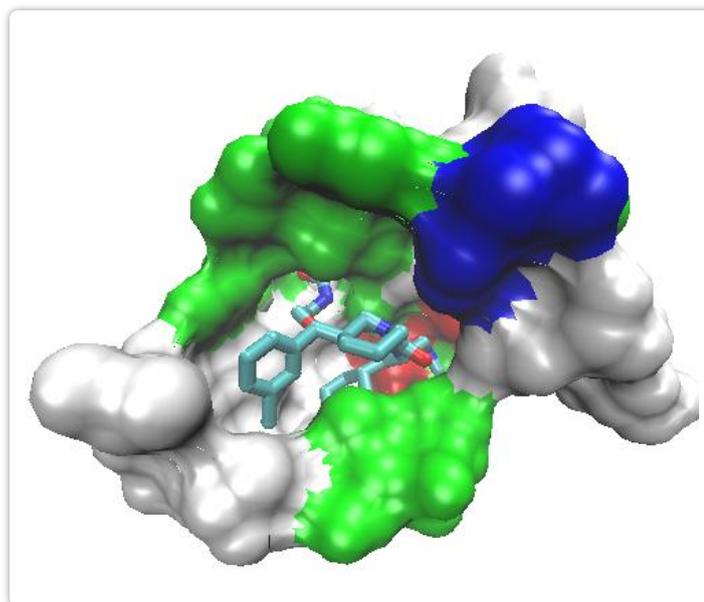


Figure N° 7 : Représentation de la cavité de la rénine préparée.

Avant la génération du protomol par surflex, il est primordial de préparer un fichier texte contenant la liste des résidus de la cavité ainsi préparée. Le nom et la position de chacun de ces résidus sont présentés dans le tableau N°5.

Tableau N° 5. Nom et position de chaque résidu de la cavité de la rénine préparée.

Acide aminée	La position
THR	12
GLN	13
TYR	14
VAL	30
ASP	32
THR	33
GLY	34
SER	35
TRP	39
TYR	75
SER	76
THR	77
PRO	111
PHE	112
LEU	114
ALA	115
PHE	117
VAL	120
TYR	155
LEU	213
ASP	215
THR	216
GLY	217
ALA	218
SER	219
TYR	220
ILE	221
SER	222
HIS	287
MET	289
ILE	291
ALA	300
GLY	302
ALA	303

2.3. Préparation de chimiothèque

Dans le présent travail, nous avons utilisé **14307** molécules provenant de la chimiothèque nationale [5]. Ces molécules ont été préalablement préparées (à l'institut de curie) par l'intermédiaire de «Ligprep» et «mmod search» de «SCHRODINGER» afin d'optimiser leur géométrie tout en tenant compte des formes ionisées et les tautomères de chaque composé. Par la suite, nous avons intégré à cette chimiothèque une autre chimiothèque d'évaluation provenant de la DUD-E [47] et contenant 387 composés actifs sur la rénine. Après génération des tautomères nous avons obtenu au total **22231** composés à cribler virtuellement sur la structure 3Q5H en utilisant le programme Surfex sous linux.

Etant donné le nombre très élevé de molécules à tester, nous avons jugé utile de partager la chimiothèque en plusieurs sous-chimiothèques dont chacune contient 50 molécules, ce qui permet d'accélérer la vitesse de calcul. Au total, nous avons préparé 445 sous-chimiothèques à cribler virtuellement sur la rénine.

2.4. Génération du protomol

Le programme Surfex utilise un algorithme de Hammerhead [48] modifié pour réaliser le docking semi-flexible des ligands dans le site actif d'une cible donnée. La première étape consiste à générer un pseudo molécule idéale pour interagir avec le site de liaison étudié, communément appelé « *protomol* ». Pour cela, trois types de fragments (CH₄, C=O et N-H) sont placés dans de multiples positions dans le site actif et optimisés pour permettre l'établissement d'interactions avec le site de liaison étudié. Les fragments les mieux scorés sont assemblés pour former le protomol qui couvre l'intégralité du site actif (voir Figure N°8)

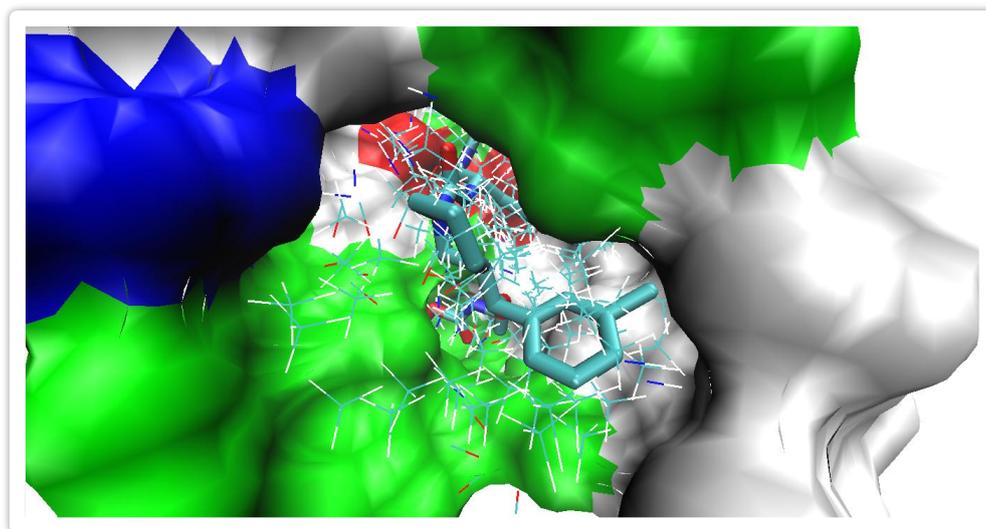


Figure N° 8 : Protomol généré pour la rénine par extension de 6 Å autour du ligand (code PDB : 3Q5H).

Pour générer le protomol, nous avons utilisé la chaîne A du code 3Q5H sous format mol2 ainsi que la liste de résidus du site de liaison préalablement préparée. Cette étape est réalisée grâce à la commande suivante :

```
surflex-dock -proto_thresh 0.5 -proto_bloat 2 resproto liste_residus_surflex.txt protéine.mol2
p1
```

2.5. Criblage Virtuel

Le docking en lui-même débute par la fragmentation des ligands en 1 à 10. Pour chaque fragment, une recherche conformationnelle est menée. Chaque conformation de chaque fragment est ensuite alignée au protomol par une fonction de similarité morphologique [26]. Cette étape nécessite la disponibilité de la protéine format mol2, le protmol généré dans l'étape précédente et les molécules de la chimiothèque.

Grâce à la commande dock-list, il est possible de lancer les calculs du criblage virtuel d'une liste de molécules vis-à-vis du même site étudié. Cette liste peut contenir une dizaine jusqu'à des milliers de molécules. Dans notre cas, chaque liste comprend 50 molécules de la chimiothèque utilisée. Le criblage virtuel par Surflex est réalisé grâce à la commande suivante :

```
surflex-dock -pgeomx +frag +soft_box dock_list list_molécules.txt p1-
protomol.mol2 protéine.mol2
```

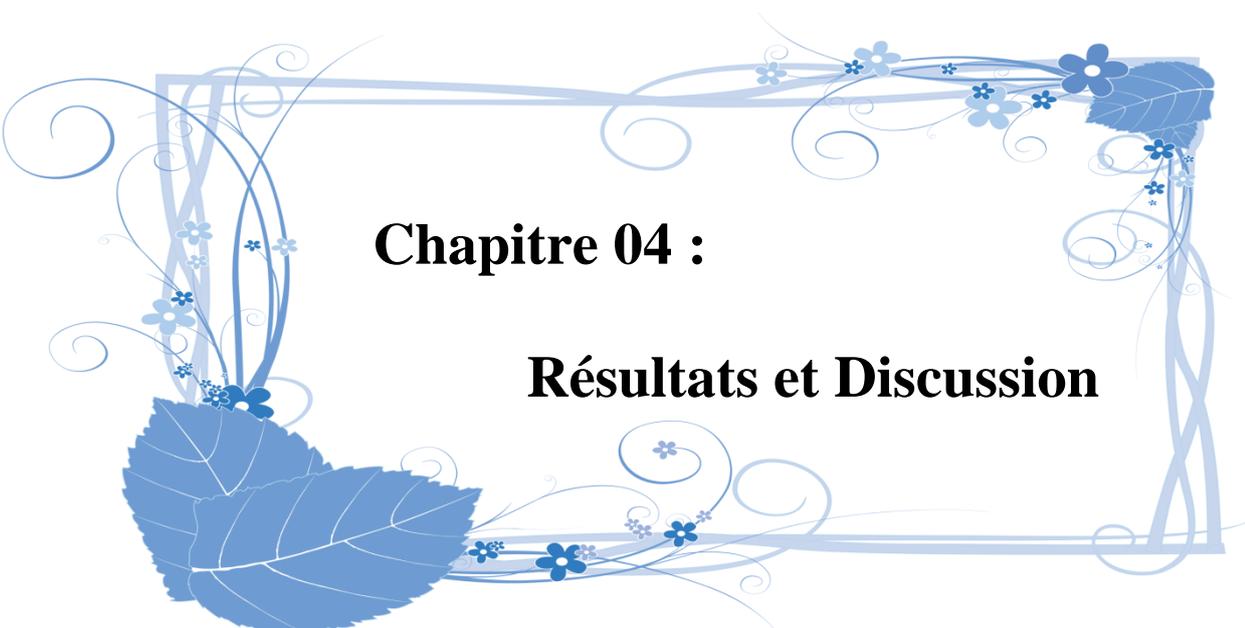
3. Règles de Lipinski

Chaque médicament éventuel doit se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible coût de production, être soluble, stable mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité. Ainsi, en 1997, Lipinski et al [49] proposent ce qu'on appelle couramment la « règle de Lipinski » ou la « règle de 5 » permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure 2D. Selon cette règle un composé possède toutes les chances d'être absorbé par voie orale s'il respecte au moins 3 des 5 critères représentés dans le tableau N°6.

Tableau N°6. Valeurs seuils des différentes propriétés physico-chimiques définissant la règle de Lipinski.

Propriétés Physico- Chimiques	Règle de Lipinski
Poids moléculaire (PM) en Daltons	≤ 500
Lipophile (LogP)	$-2 \leq \log P \leq 5$
Nombre de donneurs de liaisons hydrogène (DLH)	≤ 5
Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (ALH)	≤ 10
Le nombre de liaisons flexibles	≤ 15

Dans notre travail, ces paramètres ont été calculés en utilisant le serveur Molinspiration [50].

A decorative border in shades of blue surrounds the text. It features stylized leaves, small flowers, and elegant scrollwork. The border is thicker at the corners and tapers towards the center.

Chapitre 04 :

Résultats et Discussion

1. Test de fiabilité du programme surflex

Après avoir criblé virtuellement la chimiothèque totale (chimiothèque d'évaluation et chimiothèque de recherche) préalablement préparée, il est possible de préparer un fichier texte contenant le classement des molécules en fonction de leur score. À partir de ce fichier, nous pouvons tester la fiabilité du programme surflex en faisant appel au test par « enrichissement ». Ce test, étant parmi les meilleurs moyens permettant de juger la fiabilité d'un programme de criblage virtuel, consiste à tracer une courbe représentant le pourcentage de molécules biologiquement actives récupérées durant le criblage en fonction de leur classement sur l'ensemble total des molécules criblées. Selon les auteurs, un programme de criblage virtuel est aussi performant s'il est capable de distinguer les molécules réellement actives sur la cible vis-à-vis des autres molécules de la chimiothèque en les classant dans les premières portions du classement. De ce fait, l'allure de la courbe d'enrichissement doit être hyperbolique au-dessus du *random* ($f(x)=x$) [29].

Dans notre travail, la courbe d'enrichissement, présenté dans la figure N°9 a été tracé grâce au programme Gnuplot.

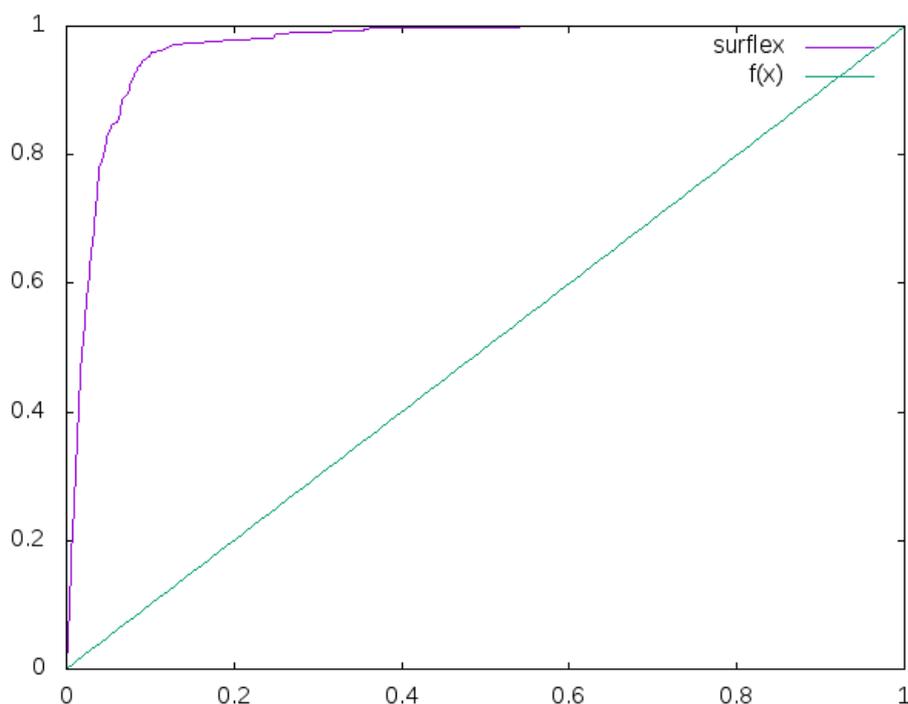


Figure N°9. Pourcentage des actives sorties en fonction du classement du criblage total (courbe d'enrichissement).

L'allure de cette courbe (coloré en violet) est bien au dessus du *random* (coloré en vert), ce signifie que le programme surflex a bien prédit les molécules actives en les classant dans les premières portions du classement. En se concentrant sur les 10 % premières molécules sorties du criblage total, surflex est capable de sortir 95 % molécules actives envers la rénine (voir figure N°10).

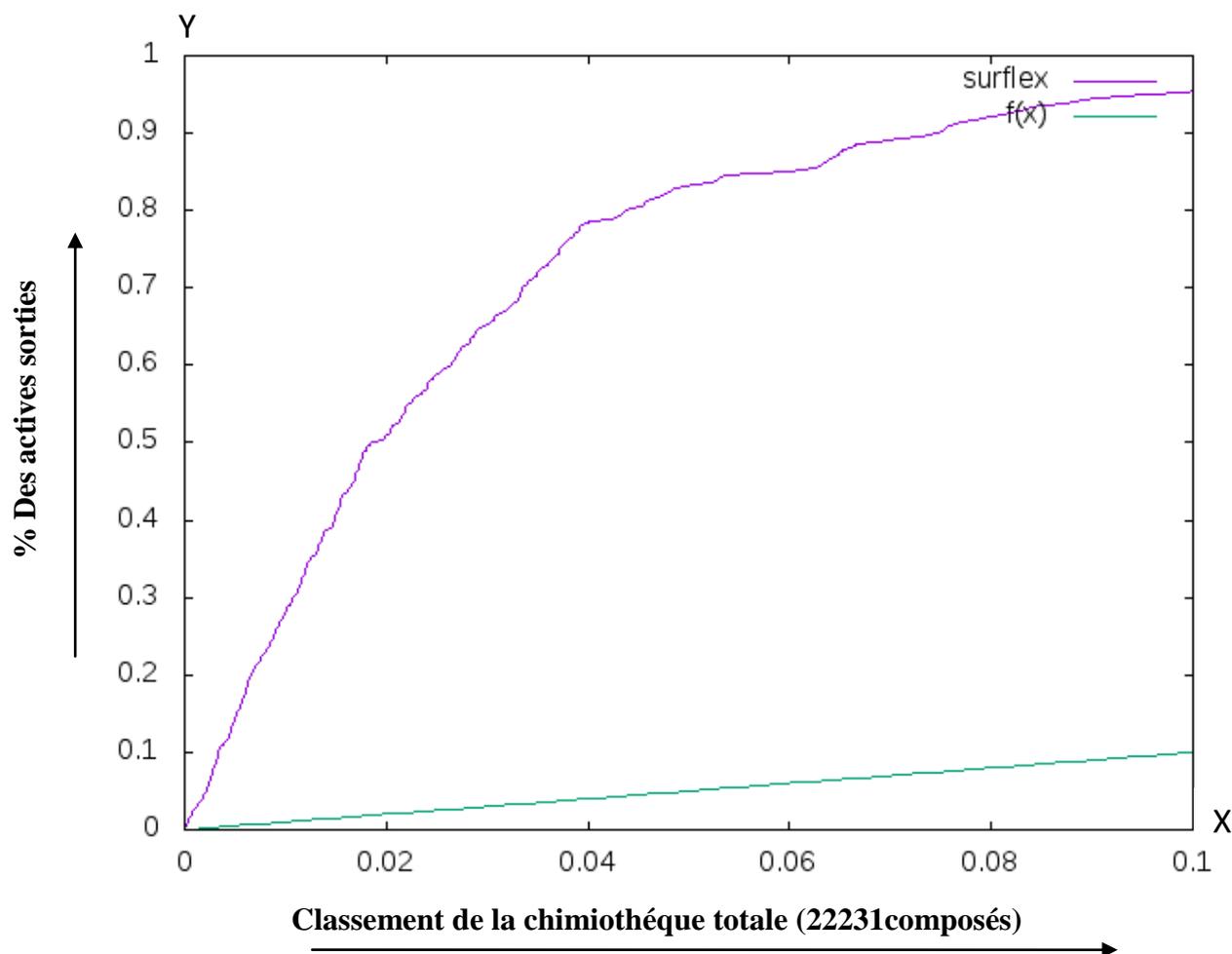


Figure N°10. Courbe qui représente la première portion des actives sorties en fonction du classement des molécules sorties du criblage total.

Conformément aux travaux d'Aurrault et al en 2007 [29], nous pouvons conclure que le programme surflex est suffisamment performant pouvant être utilisé sans trop risque d'erreurs pour concevoir de nouveaux inhibiteurs de la rénine, objet de notre travail.

2. Etude d'interactions Rénine-composé actif (CHEMBL608264-1)

Dans la perspective de proposer de nouveaux inhibiteurs de la rénine, 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 de la molécule CHEMBL608264-1 issue de la chimiothèque d'évaluation utilisée dont le score s'évaluant à **15.4807**. La visualisation des interactions de ce composé au sein du site actif de la rénine a été réalisée à l'aide des programmes ViwerLite 4.2 et VMD.

La Molécule CHEMBL608264-1	Liaisons d'hydrogène	<p>Comme le montre la figure N°11, cette molécule établit 7 liaisons d'hydrogène dont 3 sont formées entre l'azote N°2 de l'inhibiteur, d'un côté, et les fonctions carboxyliques des résidus Asp215 (distance = 2.06 Å) et Asp32 (distance = 1.95) ainsi que l'oxygène de la fonction C-terminale du même résidu (distance = 2.27 Å) de l'autre côté.</p> <ul style="list-style-type: none"> - la 4^{ème} liaison d'hydrogène est établie entre l'oxygène N°29 de l'inhibiteur et l'azote du résidu Tyr14 avec une distance égale à 2.17 Å. - la 5^{ème} liaison est formée entre l'oxygène du Gly217 et l'azote N°27 de l'inhibiteur, séparés par une distance de 1.98 Å. - la 6^{ème} liaison est formée entre l'atome d'oxygène N°15 de l'inhibiteur et l'oxygène du Ser76 avec une distance égale à 1.82 Å. - la dernière liaison d'hydrogène est établie entre l'oxygène N°40 de l'inhibiteur et celui du résidu Ser219, séparés par une distance de 1.78 Å (voir figure N°11).
	Interactions Hydrophobes	<ul style="list-style-type: none"> - La stabilité de ce composé au sein du site actif est assurée également par de nombreuses interactions hydrophobiques faisant intervenir les résidus Thr77, Ala218, Ala115, Leu114 et Thr216.

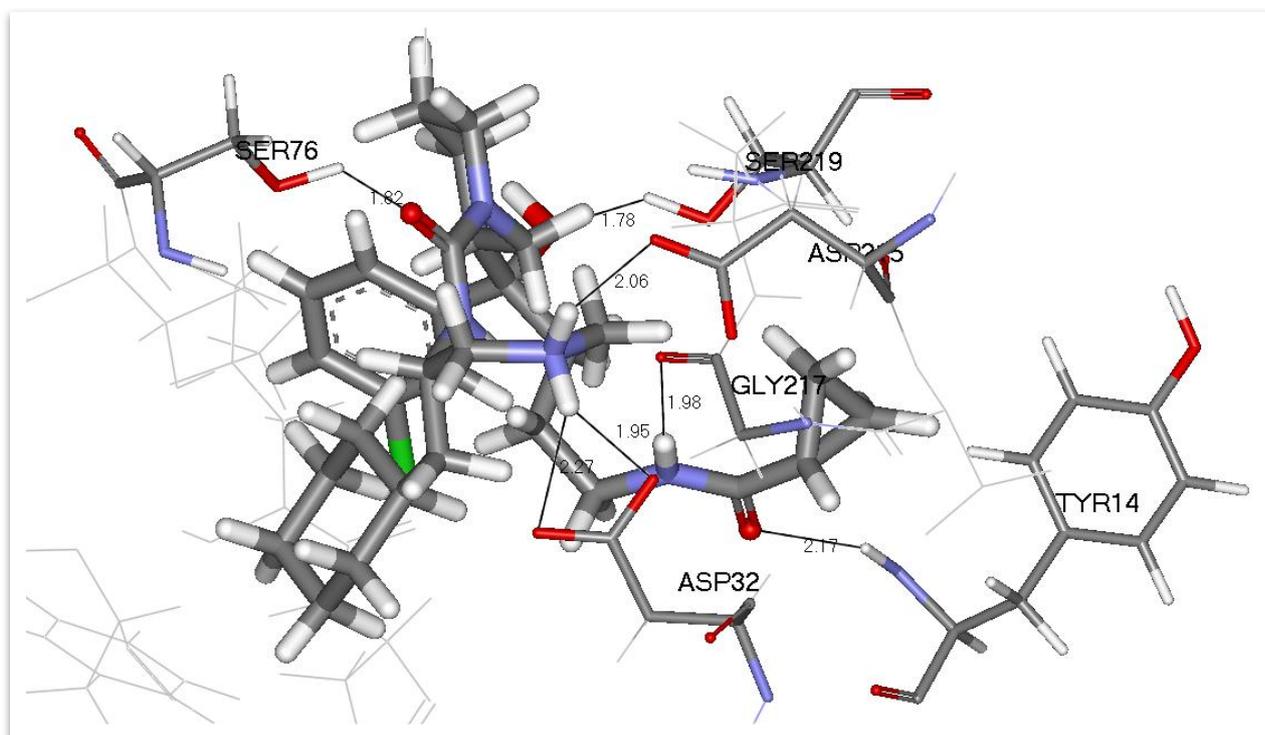


Figure N° 11. Visualisation des interactions Rénine-CHEMBL608264-1.

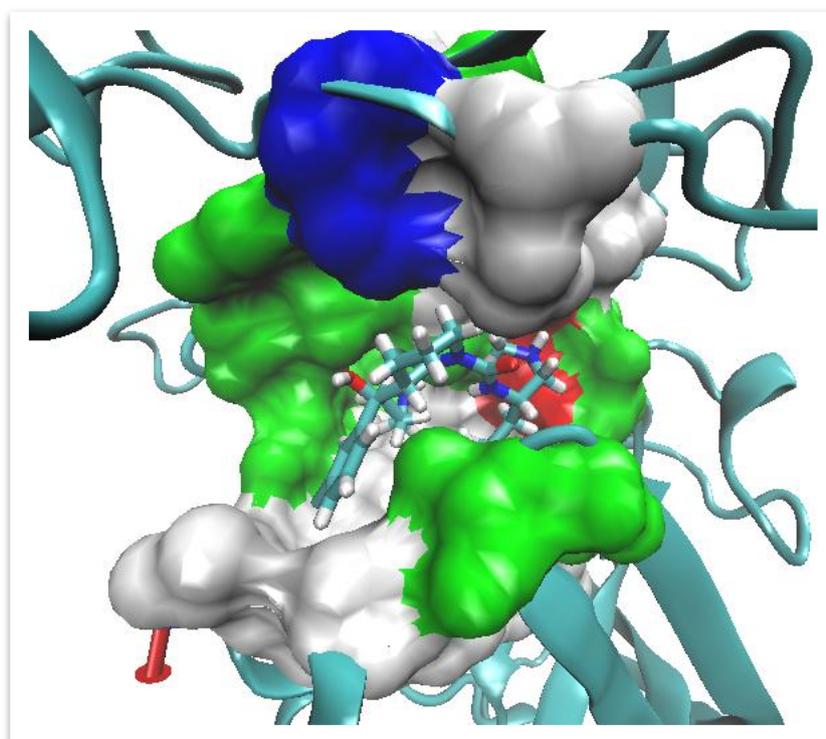


Figure N° 12. Positionnement du composé actif CHEMBL608264-1 au sein du site actif de la rénine.

3. Etude d'interactions de l'enzyme Rénine avec les différents composés proposés

Tableau N°7. Résultats des meilleures molécules sorties du criblage virtuel.

Le nom de la molécule	Score Surflex
CHEMBL608264-1	15.4807
15253-3	15.0265
15254-8	14.9646
14758-3	14.4170
15255-5	14.3133
1643	14.2392
11532	14.1428

A l'heure actuelle, il n'existe qu'un seul médicament mis sur le marché pour traiter l'HTA en inhibant la rénine [22]. Notre travail de master s'inscrit dans ce contexte en contribuant au développement de nouveaux inhibiteurs de la rénine en faisant recours au criblage virtuel d'une collection de molécules appartenant à la chimiothèque nationale française. Ce criblage fait ressortir les composés présentés dans le tableau N°7 comme nouveaux inhibiteurs théoriquement puissants envers la rénine.

Dans un premiers temps, nous avons jugé intéressant de voir le positionnement et de comprendre les mécanismes mis en jeux dans l'interaction de ces composés avec le site actif cible. Pour ce faire, nous avons utilisé les programmes de visualisation moléculaires ViewLite et VMD.

3-1 Le composé 15253-3

La Molécule 15253-3	Liaisons d'hydrogène	Avec un score s'évaluant à 15.0265, le composé 15253-3 se présente comme meilleur inhibiteur sorti de ce criblage. L'analyse visuelle montre que ce composé inhibe la rénine en formant 4 liaisons d'hydrogène avec le site actif dont 3 sont formées entre l'azote N° 16 de l'inhibiteur et les fonctions carboxylique des résidus Asp215 et Asp32 avec les distances respectives de 1.97 et 2.23 Å. C'est l'oxygène de ce même résidu qui établit la troisième liaison distante de 2.26 Å. La dernière liaison d'hydrogène est formée entre l'azote N°4 de l'inhibiteur et l'oxygène du résidu Gly217 avec une distance de 2.17 Å (voir figure N°13).
	Interactions Hydrophobes	Le complexe rénine- 15253-3 est stabilisé également par de nombreuses interactions hydrophobiques précisément avec les résidus Phe112, Phe117, Leu114, Ala115 et Ile291.

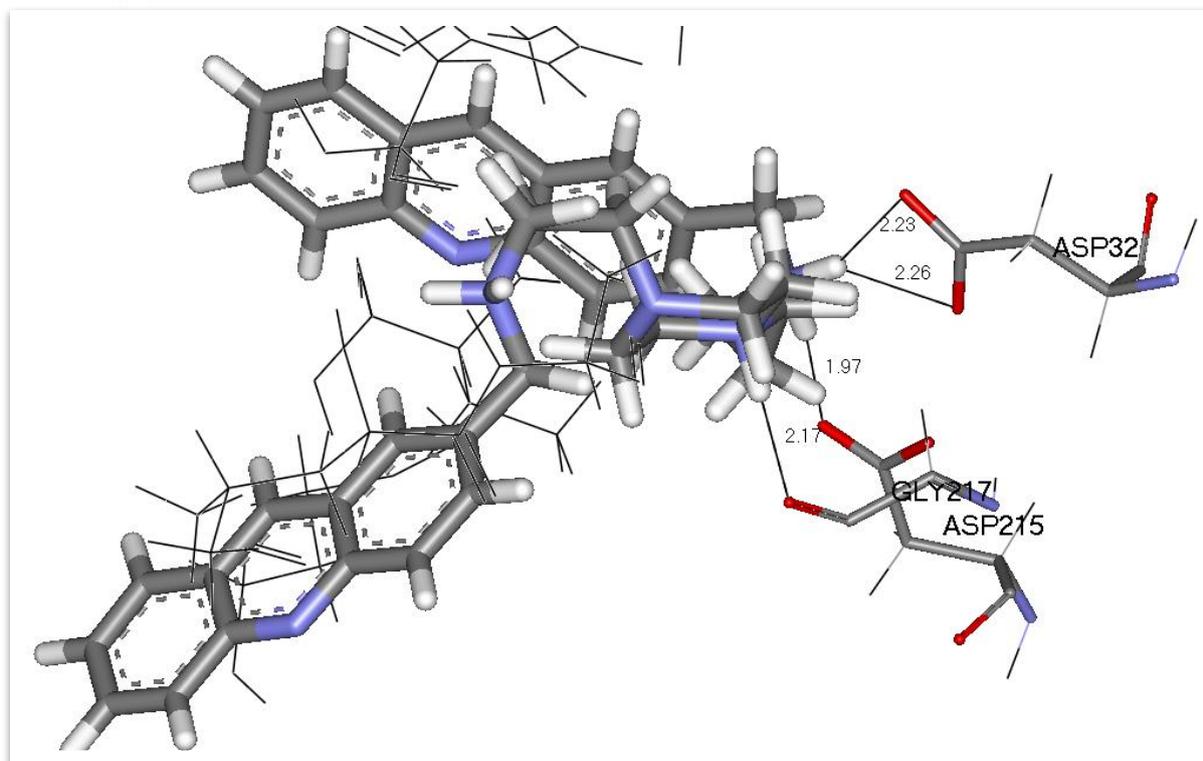


Figure N°13. Analyse visuelle des interactions Rénine-composé **15253-3**.

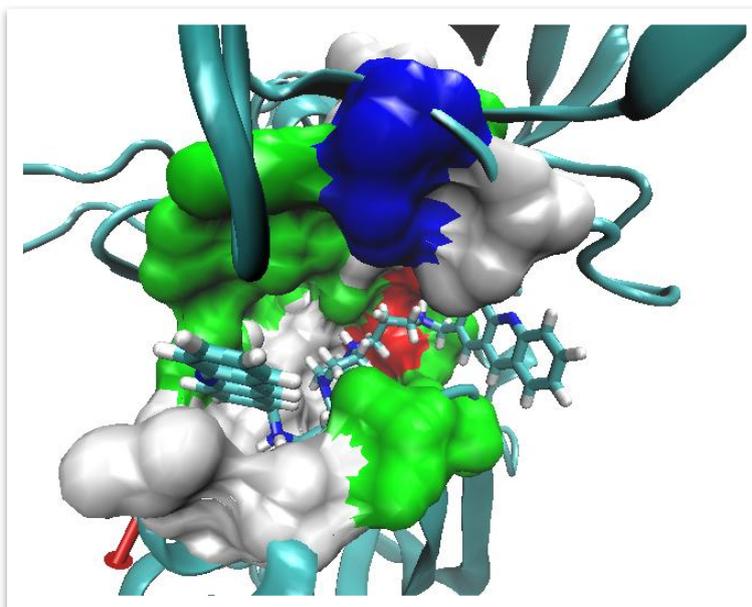


Figure N°14. Représentation du positionnement du composé **15253-3** au niveau du site actif de la rénine.

3-2 Le composé 15254-8

La Molécule 15254-8	Liaisons d'hydrogène	<p>Le composé 15254-8 est considéré comme deuxième meilleur inhibiteur sorti de notre criblage virtuel avec un score égal à 14.9646. Ce score peut être expliqué par la présence de 4 liaisons d'hydrogène ; deux sont formées entre l'azote N°15 de l'inhibiteur et les oxygènes des résidus Gly34 et Asp215 avec les distances respectives de 2.17 et 2.11 Å. Ce dernier résidu s'engage par une autre liaison d'hydrogène avec l'azote N°3 de l'inhibiteur (distance = 1.96Å). la quatrième liaison est formée entre l'azote N°4 de l'inhibiteur et l'oxygène du résidu Thr77 avec une distance= 2.39Å (voir figure N°15).</p>
	Interactions Hydrophobes	<p>De nombreuses interactions de type hydrophobe assurent également la stabilité du complexe rénine-15254-8. Ces interactions sont constatées entre l'inhibiteur et les résidus Ala115 et Ala218, Phe112, Ile291, Tyr75, Pro111 et Met289 du site actif de l'enzyme.</p>

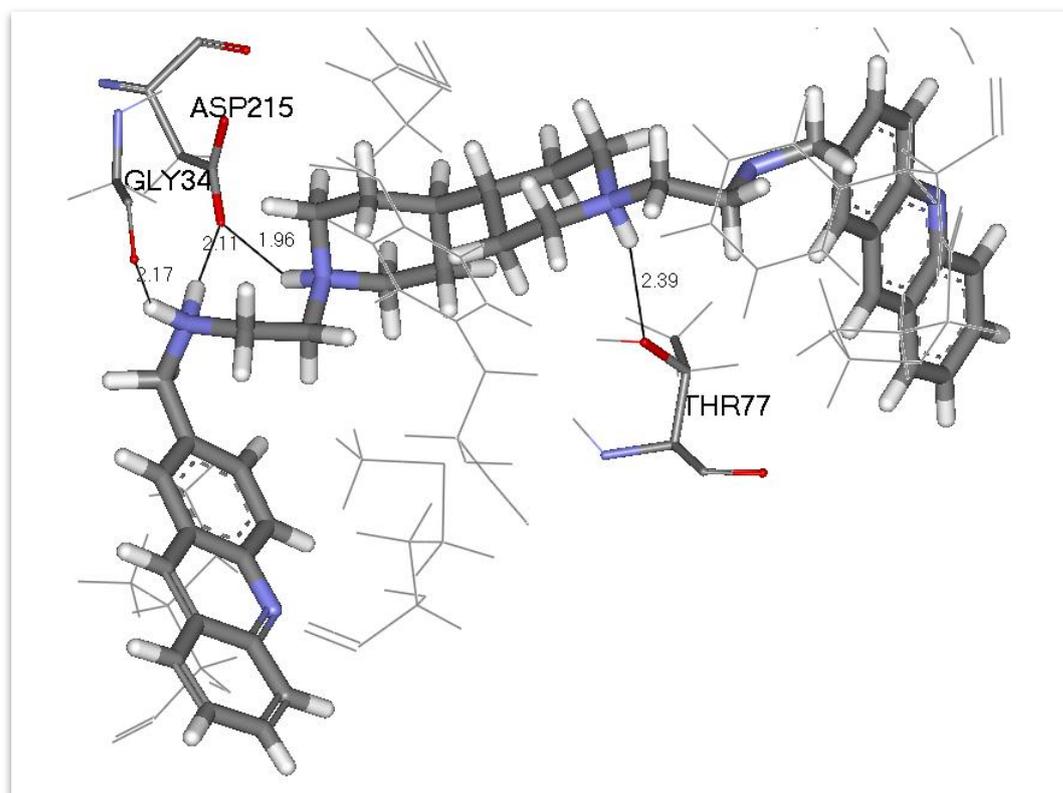


Figure N°15. Analyse visuelle des interactions Rénine-composé 15254-8.

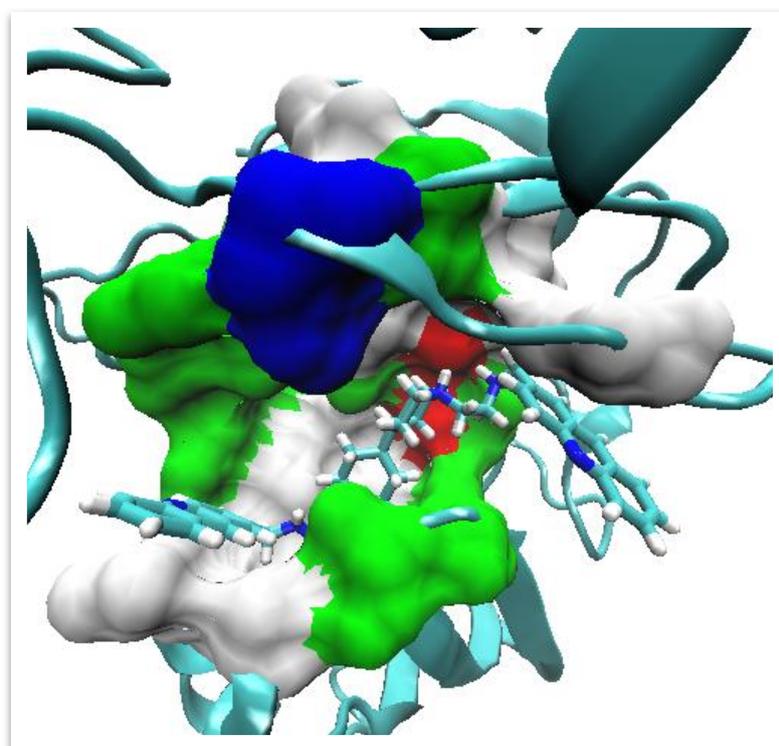


Figure N°16. Représentation du positionnement du composé 15254-8 au niveau du site actif de la rénine.

3-3 Le composé 14758-3

La Molécule 14758-3	Liaisons d'hydrogène	<p>Le tableau N°7 montre que le composé 14758-3 est considéré comme l'un des meilleurs inhibiteurs issus du criblage virtuel avec un score de 14.4170. Ce score résulte de la mise en place de 6 liaisons hydrogène entre l'inhibiteur et le site actif de la rénine. Deux liaisons d'hydrogène sont constatées entre les oxygènes de la fonction carboxylique du résidu Asp32 et l'azote N°23 de l'inhibiteur avec les distances respectives de 2.09 et 2.19 Å. L'oxygène de la même fonction carboxylique de ce même résidu établit en lui-même une 3^{ème} liaison avec l'atome d'azote N°22 de distance = 2.07 Å. De même, l'Asp215 s'engage par deux liaisons d'hydrogène, une avec l'azote N°23 (distance = 1.96 Å) et l'autre avec l'azote N°21 de l'inhibiteur (distance = 2.12 Å). Le même atome d'azote établit la 6^{ème} liaison avec l'oxygène du résidu Gly34 (distance=2.21) voir figure N°17.</p>
	Interactions Hydrophobe	<p>Plusieurs interactions hydrophobiques participent à la stabilité du complexe Rénine-14758-3. Ces interactions sont formées entre l'inhibiteur et les résidus Tyr75, Pro111, Val120, Ala115 et Leu213.</p>

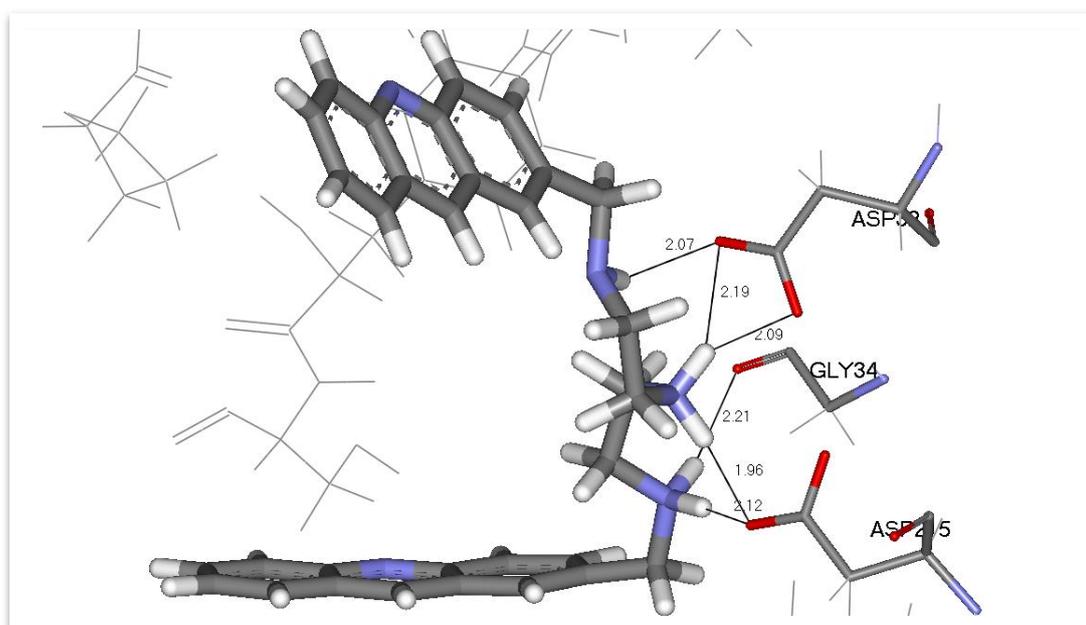


Figure N°17. Analyse visuelle des interactions Rénine-composé 14758-3.

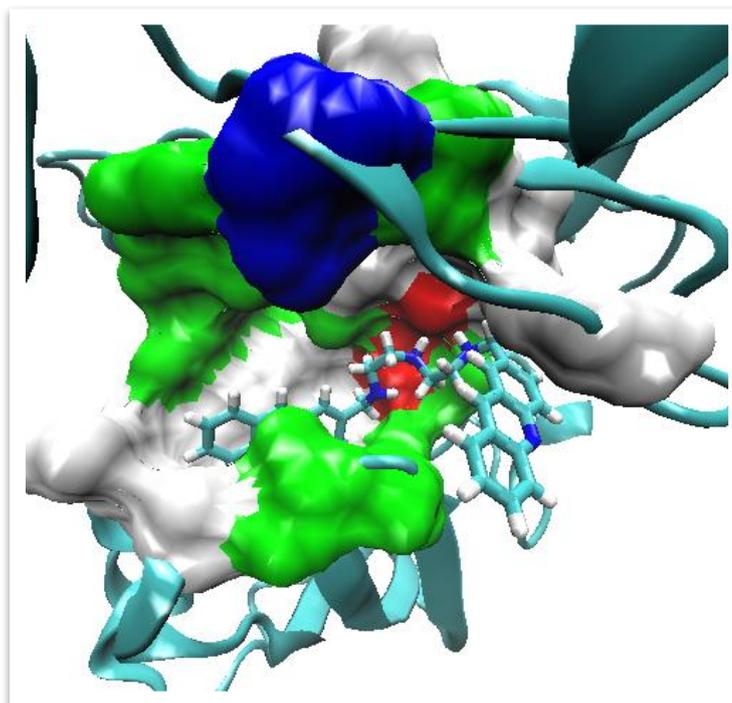


Figure N°18. Représentation du positionnement du composé **14758-3** au niveau du site actif de la rénine.

3-4 Le composé 15255-5

La Molécule 15255-5	Liaisons d'hydrogène	<p>L'analyse visuelle montre que le composé 15255-5 établit 3 liaisons d'hydrogène avec le site actif de la rénine. La première est observée entre l'atome d'azote N°15 de l'inhibiteur et la fonction carboxylique du résidu Asp215 (distance = 2.09 Å) ; deux sont formées entre le même atome d'azote de l'inhibiteur et les oxygènes du résidu Asp32 avec les distances respectives de 2.14 et 2.16 Å (voir figure N°19).</p>
	Interactions Hydrophobe	<p>Ce complexe est également stabilisé par des interactions hydrophobes entre l'inhibiteur et les résidus Tyr75, Tyr 220, Leu213 et Ile291.</p>

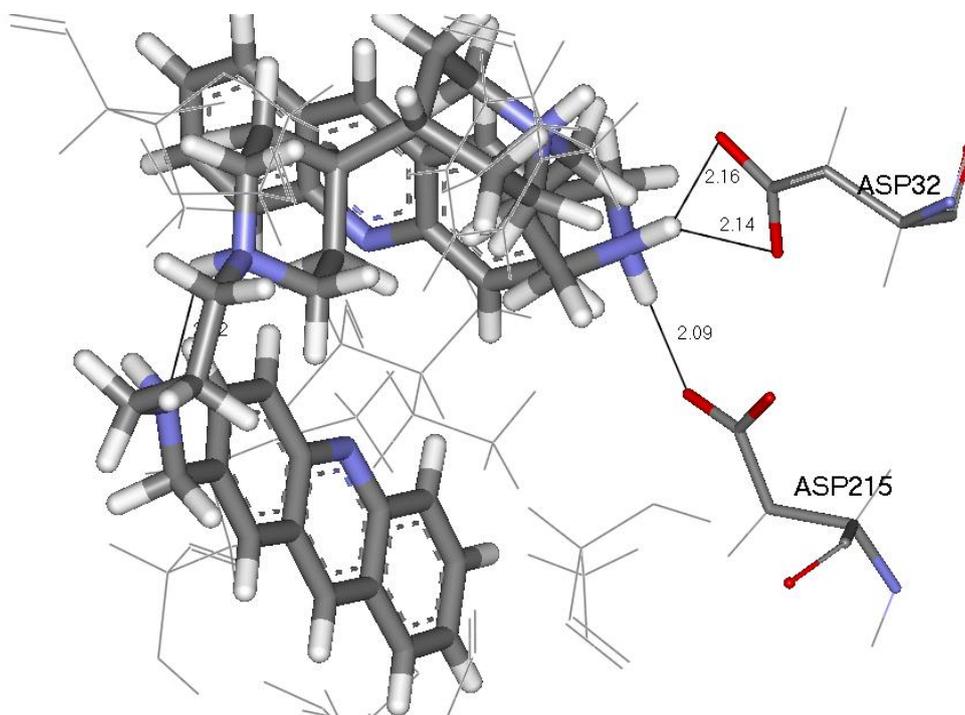


Figure N°19. Analyse visuelle des interactions Rénine-composé **15255-5**.

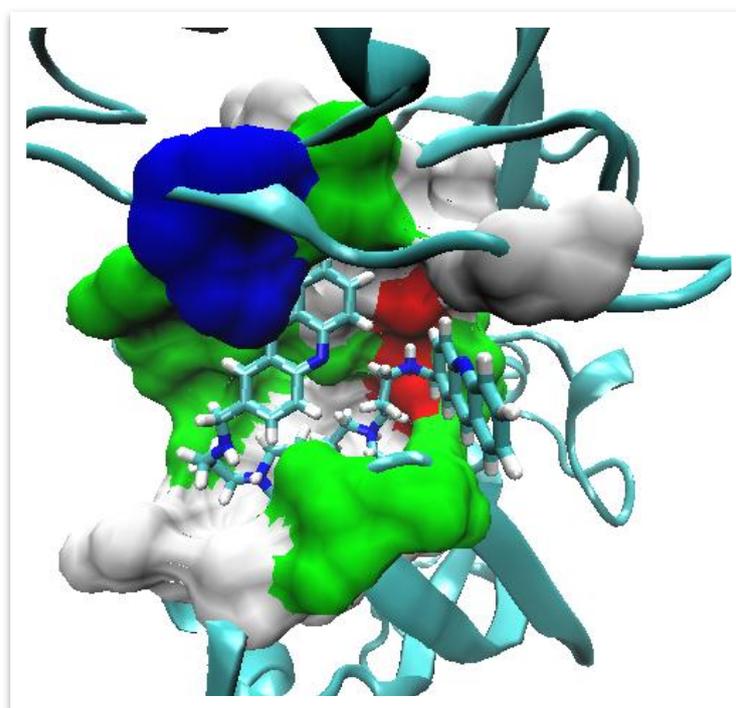


Figure N° 20. Représentation du positionnement du composé **15255-5** au niveau du site actif de la rénine.

3-5 Le composé 1643

La Molécule 1643	Liaisons d'hydrogène	<p>Le criblage réalisé par surflex fait ressortir le composé 1643 en cinquième position parmi 21844 composés testés. Son score s'évaluant à 14.2392 résulte de la mise en place de 5 ponts d'hydrogène entre ce composé et le site actif de la rénine. 4 liaisons d'hydrogène sont formées entre l'azote N°20 de l'inhibiteur, d'un côté, et les deux oxygènes de la fonction carboxylique des résidus Asp215 et Asp32 avec les distances respectives de 1.94, 2.43, 1.99 et 2.13 Å. La dernière liaison hydrogène fait intervenir l'azote N°21 de l'inhibiteur et l'oxygène du résidu Gly34 distantes de 2.01Å (voir figure N°21).</p>
	Interactions Hydrophobe	<p>Il est à noter que ce complexe est également stabilisé grâce à de nombreuses interactions de type hydrophobe faisant intervenir les résidus Ile291, Tyr75, Phe112, Ala300 et Met289 de la rénine.</p>

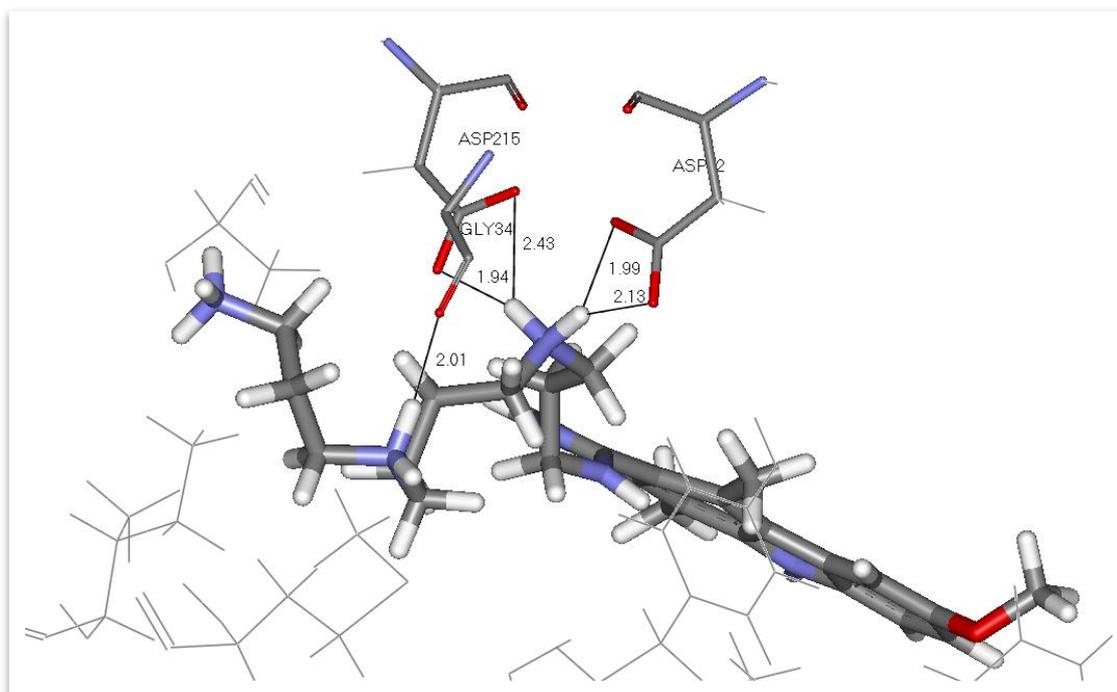


Figure N° 21. Analyse visuelle des interactions Rénine-composé 1643.

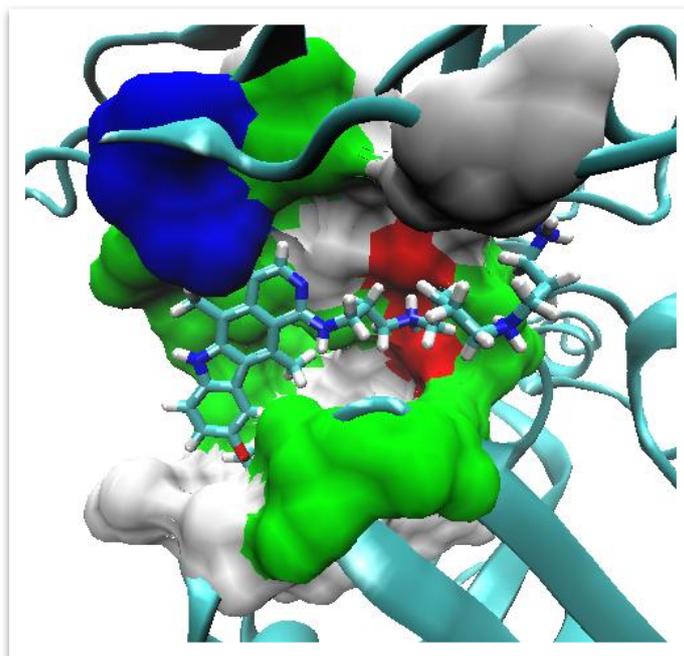


Figure N° 22. Représentation du positionnement du composé **1643** au niveau du site actif de la rénine.

3-6 Le composé 11532

La Molécule 11532	Liaisons d'hydrogène	<p>Le composé 11532 est le dernier inhibiteur issu de la chimiothèque nationale retenu dans ce travail. Grâce à son d'azote N°4, il établit 4 liaisons d'hydrogène avec le site actif de la rénine, dont deux sont constatées avec les oxygènes de la fonction carboxylique du résidu Asp215 distantes de 1.9 et 2.25 Å. De même, les deux autres ponts hydrogènes font intervenir les oxygènes de la fonction carboxylique du résidu Asp32 avec des distances de 2.01 et 2.07 Å (voir figure N°23).</p>
	Interactions Hydrophobe	<p>Il faut également souligner l'intervention des résidus Tyr75, Val120, Pro111, Tyr77 et Phe112 dans la stabilité du complexe Rénine-composé 11532 en permettant la formation de nombreuses interactions de type hydrophobe.</p>

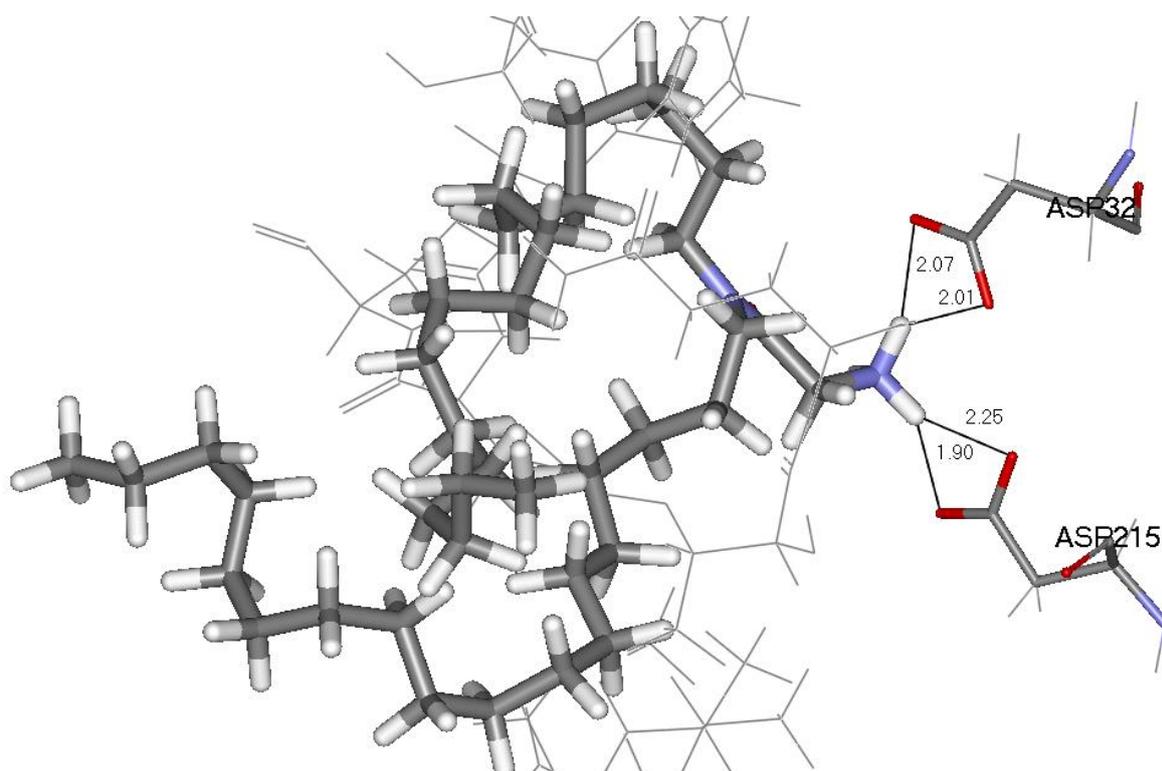


Figure N° 23. Analyse visuelle des interactions Rénine-composé 11532.

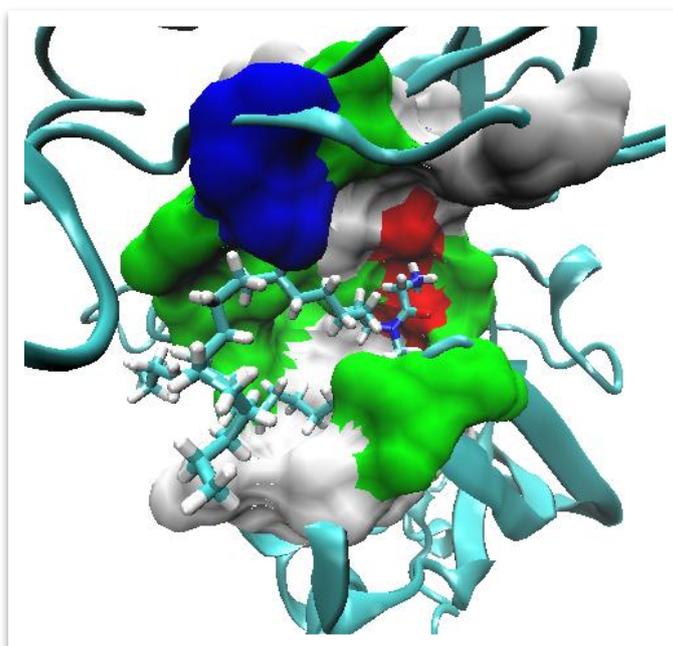


Figure N° 24. Représentation du positionnement du composé 11532 au niveau du site actif de la rénine.

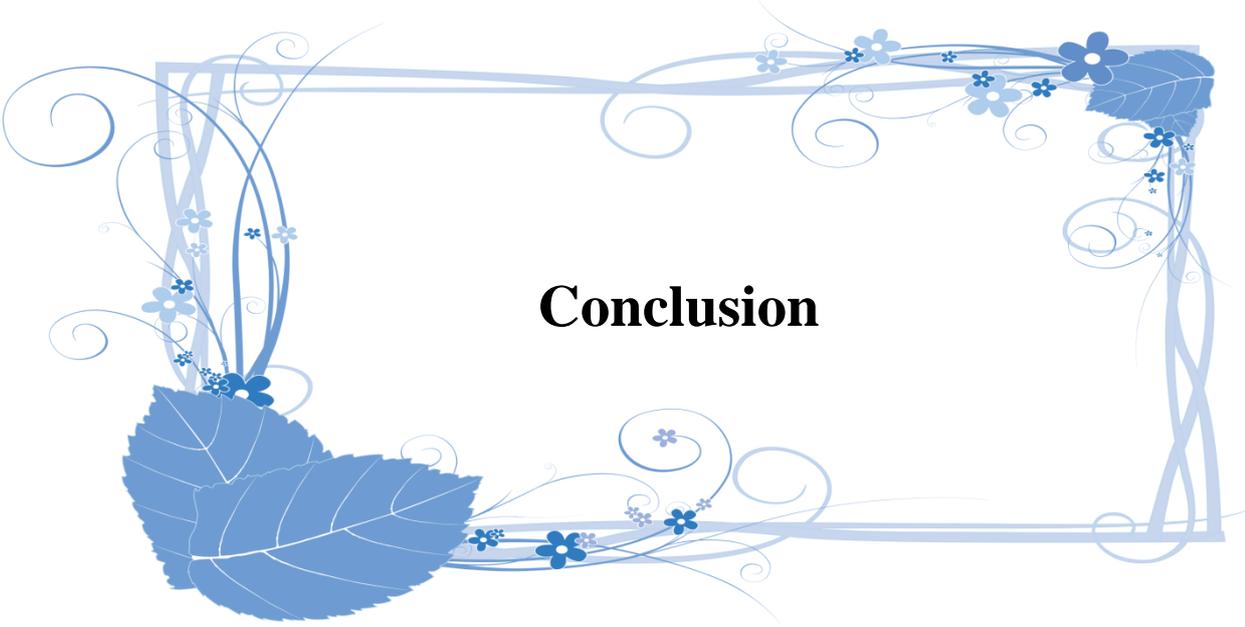
4. Règles de Lipinski

Avant de proposer les composés **15253-3**, **15254-8**, **14758-3**, **15255-5**, **1643** et **11532** comme étant de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la rénine, il était indispensable de compléter leur étude par l'application de la règle de 5 de Lipinski afin de savoir si ces composés peuvent être administrés par voie orale. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau N°8 :

Tableau N° 8 : Critères de règle de Lipinski pour les 7 inhibiteurs étudiés.

Règle de lipinski	Molécules					
	15253-3	15255-5	15254-8	11532	14758-3	1643
PM	585.82	666.96	639.91	580.06	486.64	479.69
Donneur D'Hydrogène	5	4	6	3	4	9
Accepteur d'hydrogène	6	6	5	3	5	7
Liaisons flexibles	12	13	11	35	10	14
Log P	2.48	3.78	3.28	9.85	1.86	1.32

À l'issu de ce test, les composés **15253-3**, **15254-8**, **14758-3**, **15255-5** et **1643** se présentent comme étant de nouveaux inhibiteurs théoriques de la rénine, pouvant être administrés par voie orale, ce conformément à la règle de Lipinski. Cependant, le composé **11532** n'est pas considéré comme candidat potentiel car ne validant pas cette règle.

A decorative border in shades of blue surrounds the text. It features elegant, swirling lines, small five-petaled flowers, and large, detailed leaves with visible veins. The border is rectangular, with the corners and midpoints of the sides adorned with these floral elements.

Conclusion

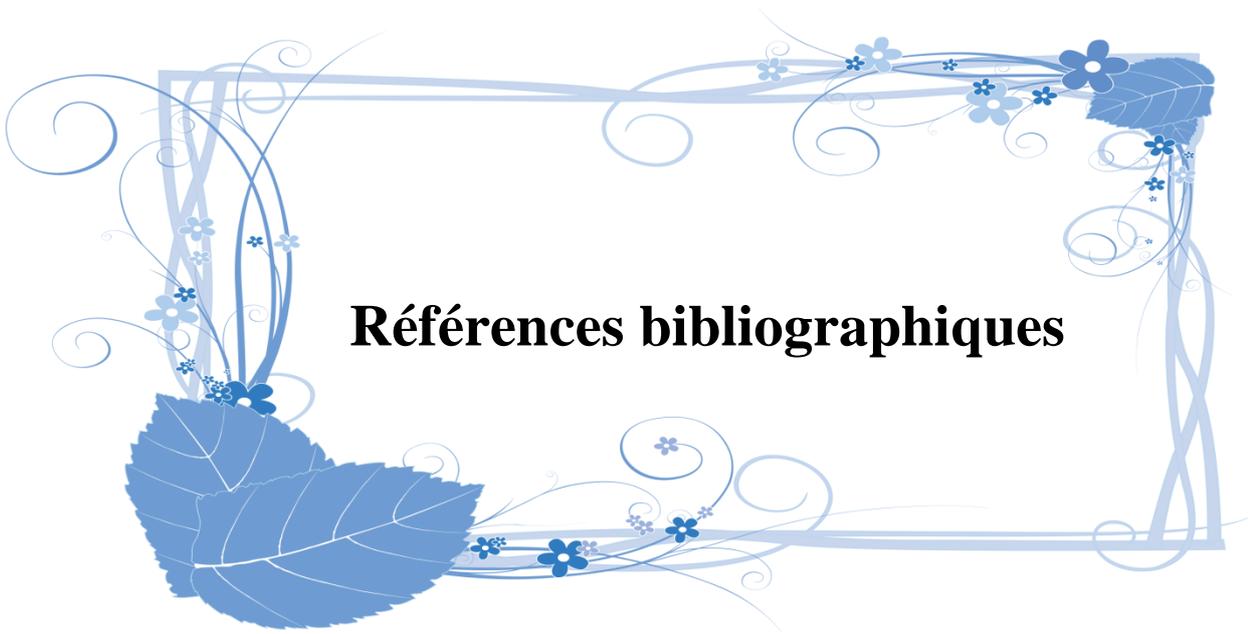
Notre objectif essentiel était d'acquérir des savoirs en simulation informatique, entre autres, le criblage virtuel par Surfex afin de proposer de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de la Rénine : cible thérapeutique validée pour le traitement de l'Hypertension artérielle.

Au préalable, nous avons testé la performance du programme Surfex utilisé dans ce travail en faisant appel au test par « enrichissement ». Ce test consiste à tracer une courbe représentant le pourcentage de molécules biologiquement actives récupérées durant le criblage en fonction de leur classement sur l'ensemble total des molécules criblées. L'allure de la courbe obtenue est bien au-dessus du *random*, ce qui signifie que le programme surflex a bien prédit les molécules actives en les sortants dans les premières portions du classement. Nous pouvons donc s'assurer de la fiabilité des résultats obtenus du criblage virtuel effectué via le programme Surfex.

Le criblage virtuel de 21844 molécules issues de la chimiothèque nationale française envers le site actif de la rénine nous a permis d'évaluer leur score et de faire ressortir les composés : 15253-3, 15254-8, 14758-3, 15255-5, 1643, 11532, comme des inhibiteurs potentiels et puissants de la rénine. Grâce au programme VMD, nous avons pu visualiser le positionnement correct de ces composés dans la cavité catalytique de la rénine en prenant comme repère l'emplacement de l'inhibiteur de référence CHEMBL608264-1 ce qui apporte la preuve de la sélectivité de ces composés envers le site actif étudié.

Enfin, l'application de la règle de 5 de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADME des composés 15253-3, 15254-8, 14758-3, 15255-5 et 1643 qui se présentent comme des inhibiteurs sélectifs et plus puissants envers la rénine.

Il sera idéale dans le prolongement de cette étude de tester *in vitro* et/ou *in vivo* l'activité biologique des composés nouvellement proposés en vue de valider les résultats théoriques.



Références bibliographiques

- [1] Organisation Mondiale de la Santé. Un « tueur silencieux » responsable d'une crise de santé publique mondiale. [En ligne]
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85334/1/WHO_DCO_WHD_2013.2_fre.pdf.
Consulté le : [26-01-2016].
- [2] Biomnis. Rénine. [En ligne] <http://www.biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/renine.pdf>. Consulté le : [26-01-2016].
- [3] Nussberger J. Les inhibiteurs de la rénine comme nouveaux anti-hypertenseurs. *Forum Med Suisse*. 2008 ; **8**: 224–228.
- [4] Azizi M. Blocage pharmacologique du système rénine-angiotensine par les inhibiteurs de la rénine chez l'homme. *Réalités Cardiologiques, Cahier 1*. 2006 ; **219** : 79-82p.
- [5] khoudali S. L'intérêt des inhibiteurs du système rénine-angiotensine dans le traitement de l'hypertension artérielle. Thèse de doctorat en pharmacie. Rabat : Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat. Maghreb. 2009 : 230p.
- [6] Krid Y. Conception *in silico* de nouveaux flavonols inhibant potentiellement l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine pour le traitement de l'hypertension artérielle. Mémoire de Master d'université : Biochimie Moléculaire et Santé. Constantine : Université de Constantine 1. Algerie. 2013 : 52p.
- [7] la chimiothèque nationale. [En ligne] <http://chimiotheque-nationale.cn.cnrs.fr/> Consulté le : [23-04-2016].
- [8] Organisation Mondiale de la santé. Questions-réponses l'hypertension artérielle. [En ligne] <http://www.who.int/features/qa/82/fr/>. Consulté le : [21-01-2016].
- [9] Santepratique.fr. Hypertension artérielle - Définition, Causes, Risques. [En ligne] <http://www.santepratique.fr/hypertension-arterielle.php>. Consulté le : [22-01-2016].
- [10] passeportsante.net .Hypertension artérielle : comment préserver ou soigner saturation artérielle ? [En ligne] http://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=hypertension_pm.
Consulté le : [21-01-2016].

Références bibliographiques

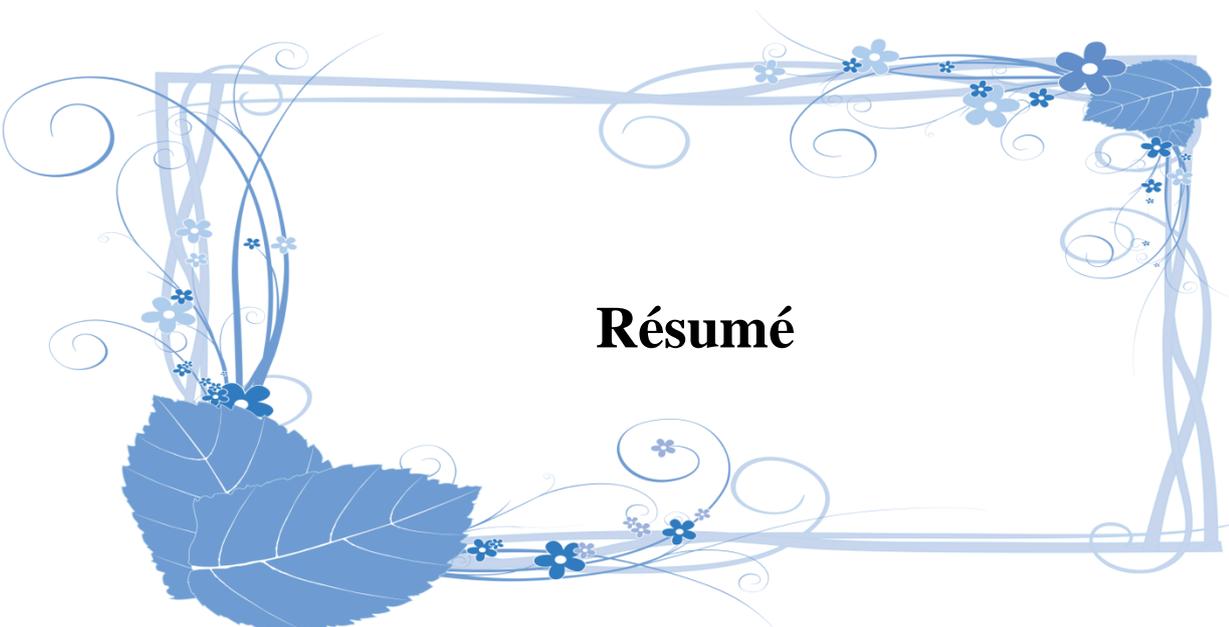
- [11] Société québécoise d'hypertension artérielle. Prise en charge systématisée des personnes atteintes d'hypertension artérielle. [En ligne] http://www.hypertension.qc.ca/gestion/pdf/SQHA_VERSION_FINALE2010.pdf. Consulté le : [21-01-2016].
- [12] Organisation mondial de la santé. Journée mondiale de la Santé : mesurez votre tension artérielle pour rester en bonne santé. [En ligne] http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2013/world_health_day_20130403/fr/. Consulté le : [05-03-2016].
- [13] L'Algérie profonde/Actualités Thème d'une journée nationale de formation à blida. L'hypertension atteint 35% de la population algérienne des plus de 18 ans. [En ligne] <http://www.liberte-algerie.com/lalgerie-profonde/lhypertension-atteint-35-de-la-population-algerienne-des-plus-de-18-ans-85378/pprint/1>. Consulté le : [20/02/2016].
- [14] CUEN. Physiologie et physiopathologie rénales : les diurétiques. [En ligne] <http://cuen.fr/lmd/spip.php?rubrique22>. Consulté le : [21-04-2016].
- [15] Beta bloquants. [En ligne] <http://ifsigoness.free.fr/Pub/1re%20Annee/Cours/0-Transverses/Pharmac/Betabloquants.pdf>. Consulté le : [16-02-2016].
- [16] Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine. Rénine. [En ligne] <http://dictionnaire.academie-medecine.fr/?q=r%C3%A9nine>. Consulté le : [03-02-2016].
- [17] Alan H., Gradman A.H., Kad R. Renin inhibition in Hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*. 2008; **51**: 519-528.
- [18] William F., Ganong. Physiologie médicale : les fonctions endocrines du rein, du cœur et de la glande pinéale,. 2ed. France : De Boeck Supérieur. 2005 : 849 p.
- [19] Cisbio Bioassays. Renin III generation. [En ligne] <http://riacis.iba.globulevs.com/sites/default/files/ressources/01-FR-RENINIII-Mod16.pdf>. Consulté le : [05-03-2016].
- [20] Systeme renine-angiotensine (SRA) et antagonistes du SRA [En ligne] http://louis.dewey.free.fr/Cours/D1/pharmac/premier_semestre/SRAA-IEC-ARA2_CRG_.pdf. Consulté le : [18-03-2016].

- [21] MEDIX. Physiologie et méthodes d'exploration du système rénine-angiotensine-aldostérone. [En ligne] <http://www.medix.free.fr/cours/renine-angiotensine-aldosterone.php>. Consulté le : [10-03-2016].
- [22] Leclerc A. M., Cloutier L., Longpré S., Grenier-Michaud S. traitement pharmacologique de l'HTA partie 2. Pratique clinique. 2013 ; **10** : 37-43.
- [23] European Medicines Agency. Rasilez. [En ligne] http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR__Summary_for_the_public/human/000780/WC500047005.pdf. Consulté le : [02/02/2016].
- [24] Elkaïm J. Drug design *in silico* criblage virtuel de protéines à visée thérapeutique. Thèse de doctorat d'université : chimie-physique. Bordeaux : L'université de bordeaux 1. France. 2011 : 159p.
- [25] Meslamani J. Développement de nouvelles méthodes de criblage *in silico* en chémogénomique. Thèse de doctorat d'université : Chémoinformatique. Strasbourg : Université de Strasbourg. France. 2012 : 238p.
- [26] Lagarde N. Méthodes de criblage virtuel *in silico* : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de doctorat du Conservatoire National des Arts et Métiers : bioinformatique. Paris : École Doctorale Abbé Grégoire. France. 2014 : 284p.
- [27] Louacheni F. Développement d'un portail web pour le criblage virtuel sur la grille de calcul. Mémoire de Master d'université : informatique. Hanoï : Institut de la Francophonie pour l'Informatique. vietnamien. 2013 : 65p.
- [28] Beautrait F. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel vsm-g et étude du domaine fat de la kinase d'adhérence focale fak. Thèse de doctorat de l'université : chimie et physique moléculaires. Nancy : Université d'Henri Poincaré Nancy1. France. 2008 : 222p.
- [29] Arrault A. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de doctorat de l'université : Modélisation Moléculaire et Chémoinformatique. Orléans : Université d'Orléans. France. 2007 : 183p.

- [30] Rognan D. Criblage virtuel par docking moléculaire. . [En ligne] <http://bioinfo-pharma.u-strasbg.fr/labwebsite/publications/paper99.pdf>. Consulté le : [21-01-2016].
- [31] Chikhi A. Calculs et modelisations des interactions peptide deformylase – substances antibacteriennes a l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moleculaire. Thèse de doctorat d'état : Microbiologie. Constantine : Université Mentouri de Constantine. Algérie. 2007. 98p.
- [32] Sanofi. Une Chimiothèque : un lieu unique pour servir la recherche de nouveaux médicaments. [En ligne] <http://labsante.sanofi.fr/partenariats/une-chimiotheque-un-lieu-unique-pour-servir-la-recherche-de-nouveaux-medicaments/>. Consulté le [24-04-2016].
- [33] Chibat F., Guechiri A. Contribution à la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase par *docking* moléculaire. Mémoire de Master d'université : Biochimie Moléculaire et Santé. Constantine : Université de Constantine 1. Algérie. 2015 : 41p.
- [34] Institut Curie. Plateforme de Chimiothèque [En ligne]. <http://curie.fr/recherche/plateforme-chimiotheque>. Consulté le : [24/04/2016].
- [35] PubChem. [En ligne] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consulté le : [05/05/2016].
- [36] UCSF. Zinc. [En ligne]. <http://zinc.docking.org/>. Consulté le : [04/05/2015].
- [37] Mokrani E. H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Thèse de magister d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 75p.
- [38] Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm. *Journal of Molecular Biology*. 1996; 261: 470-489 p.
- [39] Friesner R. A., Banks J. L., Murphy R. B., Halgren T. A., Klicic J. J., Mainz D. T., et al. Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2004; 47: 1739-1749 p.
- [40] Jones G., Willett P., Robert C., Glen. Andrew R., Reach et al. Development and validation of a Genetic Algorithm for Flexible Docking. *Journal of Molecular Biology*. 1997; **267**: 727-748 p.

Références bibliographiques

- [41] Ajay N., Jain. Surfex: Fully Automatic Flexible Molecular Docking Using A Molecular Similarity-Based Search Engine. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2003; **46**: 499-511p.
- [42] Ubuntu [En ligne] <https://www.ubuntu-fr.org/>. Consulté le : [16/05/2016].
- [43] VMD.1.9.1. [En ligne] <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/vmd-1.9.1/>. Consulté le [14/05/2016].
- [44] Viewerlite4.2. [En ligne] <http://viewerlite.software.informer.com/4.2/>. Consulté le [14/05/2016].
- [45] Openbabel. [En ligne] <http://openbabel.org>. Consulté le : [14/05/2016].
- [46] Gnuplot homepage. [En ligne] <http://www.gnuplot.info>. Consulté le : [14/05/2016].
- [47] DUD-E. [En ligne] <http://dude.docking.org>. Consulté le : [15/05/2016]
- [48] Welch W., Ruppert J., Jain AN. Hammerhead: fast, fully automated docking of flexible ligands to protein binding sites. *Chemistry biology*. 1996 ; **3**(6) :P.449-62.
- [49] Lipinski C. A., Lombardo F., Domini B. W., Feney P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997 ; **23** : 3-25.
- [50] Molinspiration. [En ligne] <http://www.molinspiration.com>. Consulté le : [19/05/2016]

A decorative rectangular frame in a light blue color. The frame is composed of thin, elegant lines that curve and swirl at the corners. At each of the four corners, there is a stylized leaf and a small cluster of flowers. The leaves are detailed with vein patterns, and the flowers are simple five-petaled shapes. The overall design is delicate and artistic.

Résumé

Résumé :

Pour contourner les limites du criblage expérimental, une nouvelle approche alternative basée principalement sur des techniques informatiques a été envisagée : c'est le criblage virtuel. Cette approche permet de modéliser les interactions entre une protéine et des milliers de candidats moléculaires. Dans notre travail, nous avons utilisé le programme Surflex afin de rechercher de nouveaux inhibiteurs de la rénine ; cible thérapeutique validée pour le traitement de l'HTA. Le criblage virtuel d'une collection de 21844 molécules appartenant à la chimiothèque nationale française fait ressortir les composés : 15253-3, 15254-8, 14758-3, 15255-5, 1643 et 11532 comme nouveaux inhibiteurs de la rénine avec les scores respectifs de 15.02, 14.96, 14.41, 14.31, 14.23 et 14.14. L'application de la règle de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés physico-chimique de ces nouvelles molécules.

Mots clés : Criblage virtuel, Surflex, inhibiteur, rénine.

Sammary

To work around the limitations of the experimental screening, a new alternative approach based primarily on computer techniques has been envisaged: the virtual screening. This approach allows modeling the interactions between a protein and thousands of molecular candidates. In our work, we used the program Surflex to seek new renin inhibitors; validated therapeutic target for the treatment of hypertension. Virtual screening of a collection of 21844 molecules belonging to the French national chemical library highlights the compounds: 15253-3, 15254-8, 14758-3, 15255-5, 1643 and 11532 as new renin inhibitors with respective scores of 15.02, 14.96, 14.41, 14.31, 14.23, and 14.14. The application of the Lipinski rule informs us positively on the physicochemical properties of these new molecules.

Keywords: Virtual screening, Surflex, HTA (Hypertension), inhibitor, renin.

ملخص:

كمحاولة للتغلب على حدود الفحص التجريبي (Criblage expérimental) ، قمنا بانتهاج طريقة جديدة تعتبر بديلة وتستند بصفة أساسية على تكنولوجيا المعلومات هاته الطريقة البديلة تسمى: الفحص الظاهري (Criblage virtuel). وتمكننا بإيجاد نموذج للتفاعلات بين البروتينات وآلاف الجزيئات المرشحين. فيعملنا هذا قمنا باستخدام برنامج Surfex للحصول على مثبطات جديدة لأنزيم الرينين الذي يعتبر هدف علاجي مؤكد من اجل علاج ارتفاع ضغط الدم. الفحص الظاهري (Criblage virtuel) لمجموعة متكونة من 21844 الجزيئات التي تنتمي إلى المكتبة كيميائية وطنية الفرنسية سمح بإبراز المركبات: 15253-3-15254،8-14758،3-15255،5-1643،11532 كمثبطات جديدة لأنزيم الرينين بنتائج 15.02 ، 14.96 ، 14.41 ، 14.31 ، 14.23 ، 14.14. تطبيق قاعدة ليبينسكي يمكننا وبطريقة إيجابية من الاطلاع على الخصائص الفيزيوكبماوية لهذه الجزيئات الجديدة.

الكلمات المفتاحية:

الفحص الظاهري، Surfex، HTA (ارتفاع ضغط الدم)، المثبط، الرينين

**CONCEPTION *IN SILICO* DE NOUVEAUX INHIBITEURS DE LA RENINE PAR
CRIBLAGE VIRTUEL.**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Moléculaire et Santé.

Résumé :

Pour contourner les limites du criblage expérimental, une nouvelle approche alternative basée principalement sur des techniques informatiques a été envisagée : c'est le criblage virtuel. Cette approche permet de modéliser les interactions entre une protéine et des milliers de candidats moléculaires. Dans notre travail, nous avons utilisé le programme Surflex afin de rechercher de nouveaux inhibiteurs de la rénine ; cible thérapeutique validée pour le traitement de l'HTA. Le criblage virtuel d'une collection de 21844 molécules appartenant à la chimiothèque nationale française fait ressortir les composés : 15253-3, 15254-8, 14758-3, 15255-5, 1643 et 11532 comme nouveaux inhibiteurs de la rénine avec les scores respectifs de 15.02, 14.96, 14.41, 14.31, 14.23 et 14.14. L'application de la règle de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés physico-chimiques de ces nouvelles molécules.

Mots clés : Criblage virtuel, Surflex, inhibiteur, rénine.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biologie Appliquée et Santé.

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Mr Chikhi A.* (Professeur - UFM Constantine)

Rapporteur : *Mr Mokrani E.H.* (Maitre-assistant « A » - UFM Constantine),

Examineur : *Mr Bensegueni A.* (Professeur - UFM Constantine).

Date de soutenance : 13/06/2016