



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Département de Biochimie et Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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 Appliquée

Intitulé :

***Inhibition in Silico du Facteur XI impliqué
dans la formation de thrombose veineuse***

Présenté et soutenu par : GHENAM Ahlem

Le : 04/07/2018

GASMI Chiraz

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr. BENSEGUENI A . Professeur - UFM Constantine.

Encadreur : Mr. CHIKHI A. Professeur - UFM Constantine.

Examineur : Mr.MOKRANI E.H. Maître Assistant A - UFM Constantine.

Année universitaire

2017-2018

Remerciements

La fin d'une longue aventure n'est que le début d'une autreencore plus longue.

La rédaction de ce manuscrit venant clore l'aventure que constitue un mémoire. Nous tenons donc à utiliser le fait que cette page soit la première à être lue pour examiner nos sincères remerciements à tous ceux qui ont joués un rôle dans la concrétisation de ce travail.

Avant tout, Louange à DIEU tout puissant et Miséricordieux , de nous avoir donné le courage , la force , la santé et la persistance qui nous ont permis de finaliser ce travail .

*Nous ne pouvons commencer sans évoquer notre encadreur **Pr CHIKHI. A.** qui, malgré son temps si précieux, nous a suivies et soutenues tout au long de cette étude et surtout pour*

Nous avoir accordées sa confiance.

*Nous voudrions également remercier **Mr BENSEGUENI A.** pour avoir accepté d'honorer ce jury en qualité de président.*

*Notre gratitude aussi à **Mr MOKRANI E.H.** pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Nous tenons à adresser nos plus sincères remerciements à **Nos chers parents.***

Un grand merci et une profonde reconnaissance à tous nos enseignants pour leurs

Efforts dans tout notre parcours.

Nos remerciements vont également à l'encontre de toutes les personnes qui ont participées de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail

Merci à tous.

Dédicaces

Avec mes sentiments les plus sincères et mes émotions les plus intenses, je dédie ce travail :

*A mes parents «**FAROUK** et **YASMINA** » pour leur soutien permanent dans mes études et dans ma vie, pour leur amour .Votre fidélité et votre attention à l'égard de vos enfants sont sans faille Que ce travail qui est aussi le votre , soit pour vous le gage de mon amour infini .*

Que Dieu vous préserve et vous prête longue vie de joie.

*A ma chère sœur **NASSIMA** et mes chers frères **RAOUF** et **AKRAM** pour leur aide et leurs encouragements. Je vous souhaite tout le bonheur du monde, une vie pleine*

de joie et de Succés .

*A mon mari **Mohamed** ces prières ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui et son soutien, aussi à Ma belle famille*

*A toute ma famille **GHENAM** et **ATTAFI** : mes oncles et mes tantes .*

*A toutes mes amies **MOUNA** ,**ABIR**,**BAYA** ,**MERTEM** ,**MINA**, **MIMI**,**SOFIA***

Enfin , à tous ceux qui ,par leur présence et leur amitié ; ont joué un rôle important durant

Ce modeste travail.

Dédicaces

A mes très chers parents pour
m'avoir toujours écoutée, pour leurs soutiens
et leurs précieux conseils ...

A Mon mari BOUBAKER
qui m'a encouragé, qui m'a donné la force et
la volonté de surmonter toutes les difficultés,
aussi à toute sa famille.

A tous mes frères et mes sœurs :
Wahiba Ouarda Abd el malek Farida Billel
et Kenza .

A mes chères amies : Houda
Meroua Rayen Amira Rym et Asma.

A toute la famille GASMI et
BOULAHIA.

A mon binôme Ahlem et toute sa
famille.

Titres	Page
INDRODUCTION	1
INDRODUCTION	2
CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.	
Introduction.	3
I. La coagulation.	3
1- Définition.	4
2- Les étapes de la coagulation.	4
2.1- Initiation de la coagulation par le facteur tissulaire (FT)	4
2.2- L'amplification de la coagulation	4
2.3- L'étape finale - la transformation de fibrinogène en fibrine	4
II LES FACTEURS DE LA COAGULATION.	5
1- NOMENCLATURE	5
2- les facteurs de coagulation	6
3- LE SYSTEME DE REGULATION DE LA COAGULATION.	6
4- Les troubles de la coagulation	7
5- Inhibiteurs de la coagulation	7
III Le facteur XI	7
1- Définition	7
2- Le facteur XI plaquettaire	8
3- Le structure du facteur XI	8
4- Le rôle de facteur XI	8
5- Activation du Facteur XI	8
6. Le déficit en facteur XI	9
6.1 Le déficit constitutionnel	9
6.2- Le déficit acquis.	10
7- Les symptômes	10
7.1- Symptômes courants.	10
7.2- Autres symptômes	10
8- Le diagnostic d'un déficit en facteur XI	11
9- Traitements	11
10- Inhibition	12
11- L'anti-facteur XI	12
12 Les inhibiteur anti-facteur XI	13
CHAPITRE II : DOCKING MOLECULAIRE.	
1- Définition	14
2 - Principe du docking	14
2.1- Docking	14
2.2- Scoring	14
3- Modalisation moléculaire	15
4- Les interactions	15
4.1- Les interactions protéines-ligand :	15
4.2- Les interactions intermoléculaires	16
4.2.1 - Les forces de van der waals	16
4.2.2 - les liaisons hydrogènes	17
4.2.3- L'effet hydrophobe	17
5- Les approches de docking moléculaire :	18
6- Applications	18

7- Programmes du docking les plus cités :	19
CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES	
1- Matériels.	20
1.1- Micro-ordinateur.	20
1.2- Le réseau internet.	20
1.2.1- La banque de données protéique.	20
1.2.2- Le serveur Molinspiration	20
1.3- Programmes	20
1.3.1- Arguslab (4.0.1).	20
1.3.2- Titan (2.4)	21
1.3.3- Surflexe (2.5)	21
1.3.4- viewerlite (4.2)	21
1.3.5- Openbabel (-2.4.1)	21
1.3.6- Excel Microsoft office (2007)	21
2- METHODE	21
2.1. Le protocole d'utilisation des logiciels	21
2.1.1. Arguslab.	21
2.1.2. Surflexe	21
2.1.3. Le logiciel viewerlite	22
2.2. Le test de fiabilité du SURFLEX	22
2.2.1. RMSD	22
2.2.2. Coefficient de corrélation :	22
3. inhibition de facteur XIa.	23
3.1. choix de facteur XIa	23
3.2. Calcul des interactions (enzyme –composés substitués)	23
3.2.1. Les mono-substitutions	24
3.2.2. les bi-substitutions.	25
3.3. La visualisation des liaisons hydrogènes établies entre le ligand et les acides aminés du site actif.	27
CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION	
1- Test de fiabilité des programmes de docking :	28
1.1- Le test RMSD (Root Mean Square Deviation)	28
1.2 - Calcul du coefficient de corrélation (r)	29
1.3 - L'analyse visuelle	31
2- Etude et proposition des nouvelles molécules bioactives	33
2.1- Les mono substitutions	33
2.2- Les bi substitutions	34
3- Etude des interactions des composés testés	36
Conclusion	43
Conclusion	44

Liste des tableaux

tableaux	Page
tableau 01: la liste des facteurs de coagulation figure .	6
Tableau 02 : Principaux programmes de docking moléculaire.41.	19
Tableau 03 : les mono-substitutions du BVM.	25
Tableau 04 : les bi-substitutions du BVM.	26
Tableau 05: Valeurs de l 'affinité et du log IC 50 de 24 composé étudiés.	30
Tableau 06: l'affinité des meilleurs composés mono substitués.	33
Tableau 07: l'affinité des meilleurs composés bi substitué.	34
Tableau 08: Diverses propriétés pharmacologiques de la molécule de base et des composés choisis.	35
Tableau 9: Les différentes liaisons d'hydrogéné générées entre les composés substitués et le facteur XI.	42

Liste des figures

Figures	Page
Figure 01: formation d'un caillot sanguin	3
Figure 02: L'activation en chaîne des différents facteurs de la coagulation pour former un caillot.	5
Figure 03 : les forces de van der waals.	16
Figure 04 : la liaison hydrogène.	17
Figure 05 : les différentes valeurs de r.	23
Figure 06 : structure du BVM	24
Figure 07 : Résultats en % obtenus par Surfex à deux intervalles de RMSD (Å).	28
Figure 08: corrélation entre l'activité biologique (log IC50) et l'affinité donnée par Surfex des 24 complexes choisis.	31
Figure 09: Superposition de l'inhibiteur (coloré en bleu ciel) et finale-O calculé par surfex (colore en bleu roi) du complexe 1X70 (RMSD = 0.47 Å).	32
Figure 10: Comparaison de l'inhibiteur (coloré en bleu ciel) et finale-O calculé par surfex.	32
Figure 11: Représentation des liaisons hydrogène formées pour le composé 2 dans le site actif.	37
Figure 12 : structure chimique de composé 2 .	37
Figure 13: Représentation des liaisons hydrogène formées pour le composé 12 dans le site actif.	38
Figure 14 : structure chimique de composé 12	38
Figure 15 : Représentation des liaisons hydrogène formées pour le composé 18 dans le site actif .	39
Figure 16 : structure chimique de composé 18.	39
Figure 17: Représentation des liaisons hydrogène formées pour le composé 28 dans le site actif.	40
Figure 18: structure chimique de composé 28.	41

Liste Des Abréviations

2D : Deux dimensions

3D : Trois dimensions

Å : Angstrom

ADME/TOX : absorption, distribution, métabolisme, excrétion et de toxicité.

AH : Accepteur d'hydrogènes

DH : Donneurs d'hydrogènes

FXa : facteur X activé

FVa : facteur V activé

FXI : facteur XI

FVIIIa : facteur VIII activé

Go : Giga Octet

IC50 : Inhibitory Concentration 50

KHPM : Kininogène de Haut Poids Moléculaire

LH : Liaisons Hydrogènes

Log p : Coefficient de Partition eau/octanol

MS DOS : Microsoft Disk Operating System

MOL2 : sybyl mol2 format

PDB : Protein Data Bank

PM : poids moléculaire

r : coefficient de corrélation linéaire

RMSD : Root Mean Square Deviation

SDF : Structure-Data File

INTRODUCTION

Un mode plus rapide, moins coûteux, associant la biologie à l'informatique, constitue un nouvel univers de recherche : la bioinformatique ou la biologie '*in silico*', une discipline qui a donné naissance au "docking" ou arrimage moléculaire. En effet, à la synthèse de médicaments, généralement pratiquée en mode «*in vitro*» ou même en mode «*in vivo*», expérimentations à la fois onéreuses et fastidieuses, sont substituées des expériences menées en mode dit «*in silico*».

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

Dans le contexte de cette étude nous avons opté pour l'application du docking dans la conception de nouvelles molécules actives en utilisant le logiciel Surflex pour tester des molécules qui pourraient inhiber le facteur XI (FXI), dont une élévation des taux plasmatiques représente un facteur de risque de thrombose veineuse profonde.

La coagulation est une réaction normale de l'organisme dont le but est la formation d'un caillot qui sert à stopper une hémorragie à la suite d'une brèche dans un vaisseau sanguin. C'est un phénomène essentiel dans la protection du système vasculaire. Les maladies en relation avec la coagulation peuvent résulter d'un défaut de coagulation ou au contraire d'une coagulation excessive. Les causes en sont variées, que ce soit à la suite de maladie ou suite à certains traitements médicamenteux. Les facteurs de coagulation sont des protéines du sang qui arrêtent les saignements. De nombreux différents facteurs de coagulation travaillent ensemble, au fil d'une série de réactions chimiques, pour arrêter les saignements.[1]

L'objectif de notre travail est de développer de nouveaux inhibiteurs plus efficaces du FXI en testant l'activité inhibitrice de quelques composés mono substitués et bi substitués à partir d'un inhibiteur de référence présent dans le complexe 5qcn.

Pour terminer cette étude nous proposerons, à la lumière des résultats précédents, des structures nouvelles présentant une meilleure affinité à l'enzyme pouvant ainsi être considérées comme de nouveaux inhibiteurs potentiels théoriques du facteur XI.

Notre travail est divisé en deux grandes parties comprenant deux chapitres chacune :

- La première partie sera consacrée à une étude bibliographique et regroupera un premier chapitre qui décrit la réaction de coagulation et le rôle du facteur XI dans la coagulation ainsi

que ses différents inhibiteurs, un deuxième chapitre concernant une nouvelle méthode de recherche qui est le docking moléculaire, son principe ainsi que la notion de score.

- La seconde constituera notre partie pratique et rassemblera un chapitre exposant le matériel et les méthodes utilisés, suivi d'un chapitre dans lequel seront présentés les résultats obtenus et leurs interprétations.

Enfin, la conclusion à tirer et les recommandations à proposer seront fonction de ces résultats.

CHAPITRE I

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction

La capacité de l'organisme à faire coaguler le sang est essentielle à l'être humain: c'est elle qui nous permet de survivre à une blessure.

Le processus de coagulation entraîne la fermeture des blessures afin d'empêcher que le blessé perde une quantité de sang trop importante. [2]

I. la coagulation :

1. Définition :

Transformation d'une substance organique liquide en une masse solide ou demi-solide, de consistance plus ou moins molle et gélatineuse. [3]

La coagulation correspond à la conversion du fibrinogène soluble en fibrine insoluble qui constitue l'armature du caillot. Cette conversion est la conséquence d'une cascade des réactions enzymatiques à laquelle participent plusieurs protéines plasmatiques appelées facteurs de la coagulation [4]

La coagulation peut être divisée schématiquement en trois phases, l'initiation, l'amplification, enfin la formation d'une quantité importante de thrombine. [5]

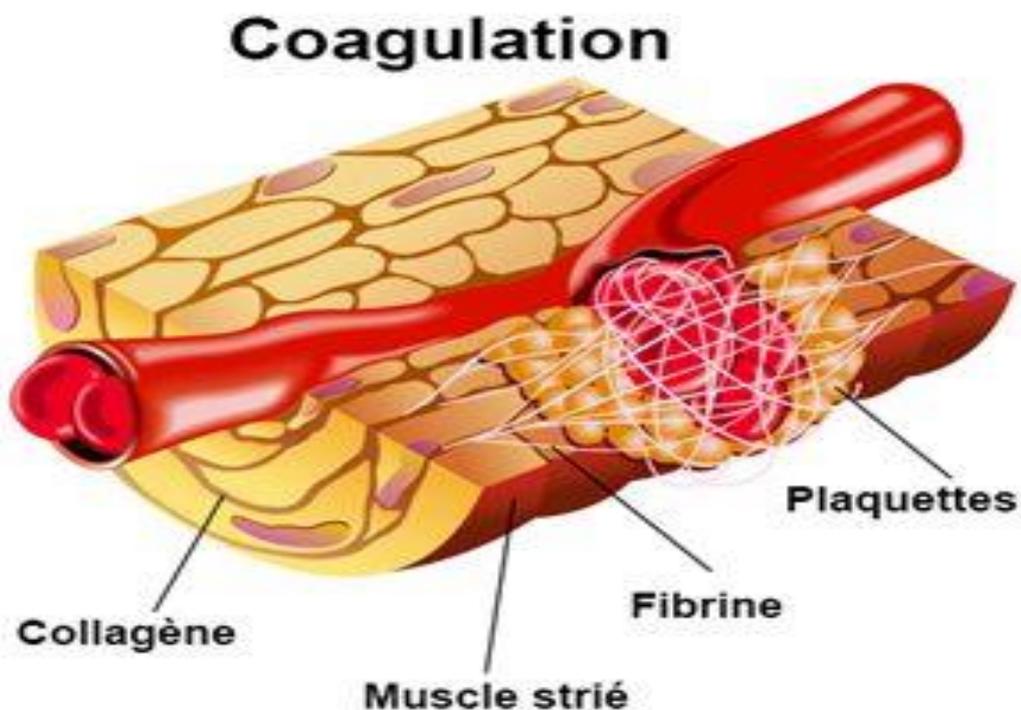


Figure 1 : Formation d'un caillot sanguin

2. Les étapes de la coagulation:

2.1. Initiation de la coagulation par le facteur tissulaire (FT) :

Lors d'une lésion vasculaire, le FT présent dans l'adventice fixe à la fois le F. VII et les traces de F. VIIa du sang circulant, avec auto activation immédiate du F. VII Le complexe binaire FT/VIIa active ensuite simultanément les FIX et X fixés sur les surfaces membranaires, initiant ainsi la voie exogène de la coagulation. [6]

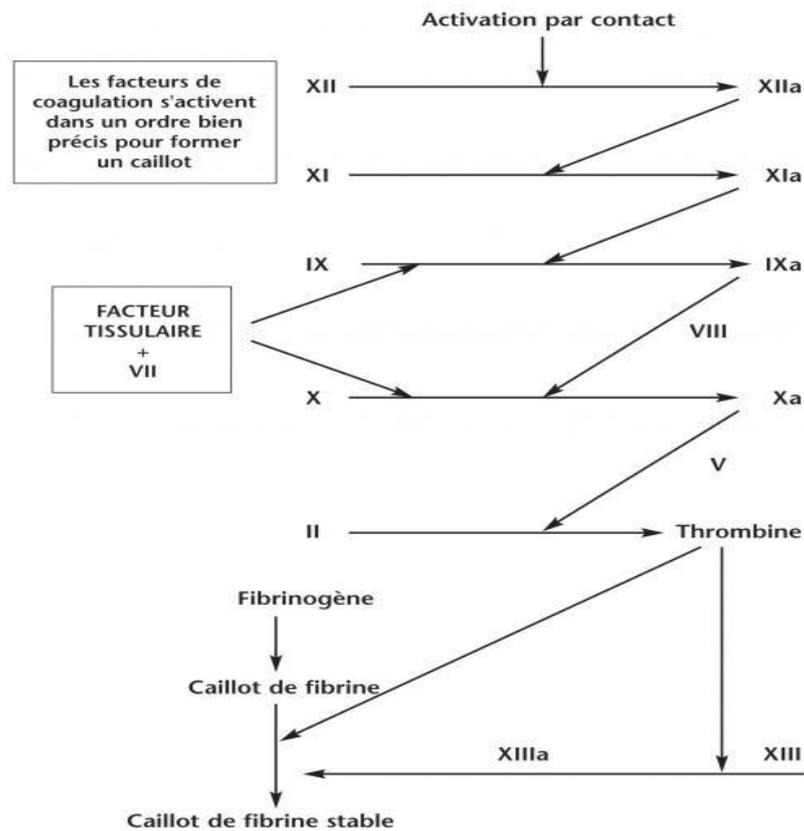
2.2. L'amplification de la coagulation :

Le FXa généré va propager la coagulation en se liant, sur les phospholipides plaquettaires, au FVa pour former un complexe appelé prothrombinase. Ce complexe va permettre la transformation de prothrombine en thrombine, enzyme-clé de la coagulation. La thrombine va permettre l'amplification du système de la coagulation en transformant le FXI en FXIa en présence des plaquettes ainsi que les cofacteurs FVIII en FVIIIa et FV en FVa [5]

2.3. L'étape finale . la transformation de fibrinogène en fibrine :

La dernière étape repose sur la transformation du fibrinogène soluble par l'hydrolyse de ces différentes chaînes polypeptidiques en monomères de fibrine, qui s'associent les unes aux autres pour former un gel de fibrine, ou le caillot de fibrine, qui est tout d'abord instable. Le facteur XIII, facteur de stabilisation de la fibrine, préalablement activé par la thrombine, solidifie alors les molécules de fibrine. [7]

Le diagramme suivant présente de façon schématique l'ordre de l'activation en chaîne des différents facteurs de la coagulation pour former un caillot.



Patricia Blake, Senior Coagulation Technologist, St. Michael's Hospital, Toronto, Ontario, 1994.

Figure N2 : L'activation en chaîne des différents facteurs de la coagulation pour former un caillot.

II. LES FACTEURS DE LA COAGULATION :

1. NOMENCLATURE

Les facteurs de la coagulation ont été découverts et décrits comme une activité biologique présente chez l'homme normal et absente au cours de maladies hémorragiques héréditaires. On leur a attribué un numéro en chiffre romain. On regroupe certains facteurs dans diverses classes, ce qui permet d'évoquer rapidement certains diagnostics [4]

2. les facteurs de coagulation

Dans le plasma circulent des pro enzymes, inactifs, appelés facteurs de coagulation (exemple : facteur X, facteur VII). Lorsque ces pro enzymes sont activés on parle de facteurs de coagulation activés (exemple : facteur Xa, VIIa). Deux facteurs de la coagulation sont dépourvus d'activité enzymatique. le facteur VIII et facteur V ce sont des cofacteurs qui augmentent la vitesse d'activation des autres enzymes sont synthétisés la plupart par le foie, [8]

Tableau 01 : la liste des facteurs de coagulation .

N° Facteur	Nom
Facteur I	Fibrinogène
Facteur II	Prothrombine
Facteur V	Proaccélérine
Facteur VII	Proconvertine
Facteur VIII	Anti-hémoph A
Facteur IX	Anti-hémoph B
Facteur X	Stuart
Facteur XI	Rosenthal
Facteur XII	Hageman
Facteur XIII	Stabilisant fibrine

[9]

3. Le système de régulation de la coagulation.

Les facteurs de la coagulation sont présents en excès dans le sang. Etant donné le caractère autocatalytique des réactions de coagulation, l'activation des facteurs se propagerait de proche en proche s'il n'existait des mécanismes régulateurs puissants.

La coagulation reste focalisée à la surface du thrombus blanc plaquettaire qui adhère à la paroi du vaisseau. L'excès en facteurs de coagulation activés est dispersé par le flux sanguin. Par ailleurs, la fibrine adsorbe la thrombine et l'inactive.

4. Les troubles de la coagulation

Les troubles de la coagulation (thrombopathies) peuvent avoir de nombreuses origines.

La coagulation trop importante, appelée également hypercoagulation, ou surcoagulation, ayant pour conséquence la formation d'un caillot sanguin, dans une artère, ou dans une veine (thrombose).

-Augmentation du taux des facteurs de coagulation (pathologies liées à la protéine S, protéine C).

-Affection survenant la fin d'une grossesse.

-Diminution de la quantité d'enzymes anticoagulantes dues à une atteinte hépatique.

-Ralentissement du flux sanguin (se caractérisant par une hyperviscosité sanguine [10])

5. Inhibiteurs de la coagulation

Dans le plasma, il existe plusieurs systèmes anticoagulants physiologiques dont le rôle est de maintenir l'équilibre hémostatique en contenant les réactions pro coagulantes à un niveau basal. Les principaux inhibiteurs sont l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI pour Tissue Factor Pathway Inhibitor), l'antithrombine (AT), ainsi que les protéines C et S (PC et PS). [8]

L'antithrombine inhibiteur physiologique majeur de la coagulation a aussi des propriétés anti inflammatoire plusieurs étude clinique randomisées ont montré l'effet bénéfique sue les paramètres biologique la durée de la civd et les fonctions organique des patients en choc septique traité par des concentrés d'antithrombine pour maintenir un taux plasmatique supérieur à 70% [11]

III. Le facteur XI :

1. Définition

Le facteur XI est une glycoprotéine dimérique de la coagulation, formée de deux sous-unités identiques unies par un pont disulfure. Il appartient, avec le facteur XII, la prékallicroïne et le kininogène de haut poids moléculaire (KHPM), au système contact de la coagulation. Ce zymogène est activé en sérine-protéase après protéolyse par le facteur XII activé et la thrombine. [12]

- ❖ Synonymes : facteur Rosenthal , plasma thromboplastine antécédente PTA [13]
- ❖ PM : 160 kDa ; 607 aa
- ❖ Concentration plasmatique : 3-6 mg/l
- ❖ Demi-vie : 40-80 h

2. Facteur XI plaquettaire :

Le Facteur XI plaquettaire représente 0,5 % de l'activité totale du facteur XI sanguin.

Il est normal dans les déficits en facteur XI.

Il se substitue au facteur XI plasmatique dans l'hémostase.

PM : 220 kDa, donc différent du facteur XI plasmatique (produit de l'épissage alternatif du gène du XI manque l'exon V. l'ARNm du facteur XI existe dans les mégacaryocytes et dans les plaquettes.

3. La structure du facteur XI

Structure : Le XI est une glycoprotéine formée de deux chaînes de 80 Kda chacune, reliées par des ponts disulfures.

Le fac XI a 4 domaines "apple" A1 à A4.

Le facteur XI est présent dans la membrane plaquettaire.

Gène : le gène du XI est porté par le chromosome 4 en 4q35.

Le facteur XI circule dans le plasma sous forme d'un homodimère de PM 143 kDa ; le XI est sous forme d'un complexe avec le kininogène de haut PM, ce qui facilite la liaison aux surfaces négatives et l'activation du XI par le XIIa. [14]

4. Le rôle de facteur XI :

Le facteur XI participe à la phase contact qui initie la voie intrinsèque de coagulation. Il est activé par le facteur XIIa en facteur XIa qui va lui-même activer le facteur IX en présence d'ions calcium. [13]

Le FXI ne jouerait pas de rôle dans le déclenchement de la coagulation, mais permettrait de maintenir une génération de thrombine suffisante pour assurer la croissance et la stabilisation du caillot, lorsque la voie du facteur tissulaire « starter de la coagulation » est inactivée .

5. Activation du Facteur XI :

Le FXI peut être activé par le FXIIa, la thrombine ou également par le FXIa lui-même (auto-activation). L'activation du FXI résulte du clivage d'une seule liaison peptidique en Arg 369-Ile 370 conduisant à la formation de deux chaînes lourdes contenant les domaines Apple et de deux chaînes légères contenant deux sites actifs.

la dimérisation serait nécessaire à l'activation du FXI, l'un des monomères serait lié à la thrombine ou au FXIIa permettant l'activation de l'autre monomère, par un mécanisme de transactivation [15]

6. Le déficit en facteur XI :

Le déficit en facteur XI, appelé autrefois hémophilie C, a été décrit pour la première fois en 1953 par Rosenthal. Depuis cette description princeps, de très nombreuses études ont rapporté des déficits dans des familles de toutes origines. Les déficits sont de type autosomal et donc trouvés dans les deux sexes. Sur le plan clinique les individus affectés par un tel déficit saignent moins que les individus atteints d'hémophilie A ou B ; ils ont en effet une diathèse hémorragique modérée, qui est typiquement provoquée par une intervention chirurgicale. Les complications hémorragiques ne sont que partiellement corrélées avec le taux de facteur XI. La nature imprévisible des complications hémorragiques fait que le traitement des déficits en facteur XI est plus compliqué que celui des hémophilies A et B. Depuis la découverte de son activation par la thrombine, le rôle physiologique du facteur XI dans la coagulation est devenu plus clair. [16]

6.1. Le déficit constitutionnel

Le déficit constitutionnel en facteur XI est rare dans la population général mais s'observe plus fréquemment dans la population juive ashkénaze les déficits homozygotes ou hétérozygotes composés s'expriment par des manifestations hémorragiques de sévérité variables maladie de Rosenthal. Il n'existe pas de relation étroite entre l'importance du déficit et l'expression hémorragique du déficit héréditaire.

Chez les hétérozygotes le risque hémorragique est discuté il est toujours modéré et généralement secondaire à un geste invasif le taux de facteur résiduel n'est pas prédictif du risque hémorragique le diagnostic de déficit constitutionnel n'est porté qu'après avoir contrôlé le déficit sur un second prélèvement effectué à distance et après avoir éliminé les causes de déficit acquis. [13]

Etiologie

Le déficit congénital en facteur XI est dû à des mutations du gène F11 (4q35) qui contrôle la production du facteur XI plasmatique. Contrairement à la majorité des déficits en facteurs de coagulation, la sévérité des saignements n'est pas corrélée au taux du FXI.

6.2. Le déficit acquis

Le déficit acquis peut être observé en présence d'un inhibiteur spécifique dirigé contre le facteur XI. Les inhibiteurs spécifiques d'un facteur de la coagulation sont des anticorps circulants pouvant être dirigés contre n'importe lequel des facteurs de la coagulation. Ils peuvent se rencontrer chez des sujets déficitaires ayant été transfusés, ou apparaître spontanément en l'absence de tout déficit constitutionnel. Les inhibiteurs les plus fréquemment rencontrés en pratique courante sont des anti-facteurs VIII, IX et Will brand.

En revanche, les inhibiteurs des facteurs contact sont particulièrement rares. [12]

7. Les symptômes

La plupart des personnes présentant un déficit en facteur XI ont peu ou pas de symptômes. [17]

Il est donc très difficile de prédire la sévérité et la fréquence des saignements simplement en se basant sur le pourcentage de facteur XI sanguin. [18]

Les symptômes varient considérablement d'une personne à l'autre, même parmi les membres d'une famille, ce qui rend le problème difficile à diagnostiquer. [17]

7.1. Symptômes courants

-Saignements de nez (épistaxis).

-Ecchymoses fréquentes.

-Saignements menstruels abondants ou prolongés (ménorragie).

-Saignements excessifs pendant ou après une blessure, une chirurgie ou un accouchement.

7.2. Autres symptômes

- Saignements du tube digestif (hémorragies gastro-intestinales)
- Saignements buccaux, surtout après une chirurgie dentaire ou l'extraction d'une dent
- Présence de sang dans l'urine (hématurie) [19]
- Des selles noires.
- Présence de sang dans les vomissements.
- Des changements de serviettes sanitaires ou tampons fréquents et sur une période prolongée.[18]

8. Le diagnostic d'un déficit en facteur XI

En raison du caractère peu prédisposant aux hémorragies du déficit, le diagnostic d'un déficit en facteur XI est fait le plus souvent de façon fortuite lors d'un bilan pré-opératoire. L'aPTT est isolément allongé avec un temps de prothrombine normal et un taux de fibrinogène normal. Les autres facteurs de la coagulation sont normaux. Il peut être utile de faire également un dosage du facteur von Willebrand et des fonctions plaquettaires pour rechercher une anomalie associée. [16]

9. Traitements

On peut contrôler les saignements chez une personne atteinte d'un déficit en facteur XI au moyen des produits suivants:

- concentré de facteur XI [17]
- agents antifibrinolytiques

Les agents antifibrinolytiques (acide tranexamique, acide aminocaproïque, nafamostat et aprotinine) sont des médicaments qui agissent en inhibant le processus de dissolution des caillots, réduisant ainsi les saignements. [20]

- colle de fibrine.
- plasma frais congelé (PFC).

Le plasma frais congelé apporte l'ensemble des protéines de la coagulation en particulier le FXI mais à des concentrations faibles. Il est admis que l'apport de 10 mL.kg⁻¹ de PFC augmente d'environ 10 % l'activité plasmatique du F XI. Il est donc parfois nécessaire d'administrer de gros volumes de PFC pour atteindre un taux de FXI plasmatique suffisant.[15]

Les saignements menstruels excessifs chez une femme qui présente un déficit en facteur XI peuvent être maîtrisés par un contraceptif hormonal (« la pilule »), un dispositif de contraception intra-utérin (DIU), ou des agents antifibrinolytiques. [17]

Les femmes ressentent plus intensément les effets de la maladie, comparativement aux hommes. [18]

10. Inhibition :

Le facteur XIa plasmatique est inhibé par : l'AT3, 1a protéase inhibiteur, l'antiplasmine, le PAI-1 et le PCI (inhibiteur de la Protéine C).

Dans l'environnement des plaquettes et des cellules endothéliales, le Xia est inactivé par des inhibiteurs sécrétés par les plaquettes : protéase-nexine 2 (PN2 inhibe XIa, $K_i = 2,9-4,5 \times 10^{-10}$ M). Cette inhibition est augmentée par l'héparine.

Le XIa lié aux plaquettes est protégé de l'inhibition par PN2 et PI.

XIa est inhibé en solution ou sur la cellule endothéliale qui porte des GAGs héparane-sulfates.[14]

11. L'anti-facteur XI

Les anticorps anti-facteur sont des inhibiteurs pathologiques acquis de la coagulation. Ils sont dirigés spécifiquement contre un facteur de l'hémostase et exposent à des accidents hémorragiques. Les anticorps anti-facteurs sont de nature immunoglobulinique. Ils n'ont pas d'activité antiphospholipides. Leur présence dans le plasma est caractérisée par l'allongement d'un ou plusieurs test(s) de la coagulation (temps de céphaline avec activateur (TCA), temps de Quick (TQ), temps de thrombine (TT)), non corrigé par l'ajout de plasma témoin et non corrigé par l'ajout de phospholipides (à la différence des anticoagulants lupiques), associé à un déficit en facteur de la coagulation contre lequel est dirigé spécifiquement l'anticorps [21]

12. Les inhibiteurs anti-facteur XI

Les inhibiteurs anti-facteur XI sont très rares, leur découverte peut être fortuite à l'occasion de la réalisation d'un bilan d'hémostase et se traduit par un allongement du TCA et du TCK, en présence d'un TP normal. Les hémorragies sont modérées ou absentes, et l'instauration d'une thérapeutique visant à éradiquer l'inhibiteur doit être discutée en fonction de l'apparition de manifestations cliniques hémorragiques, et non pas sur le seul taux plasmatique de facteur XI déficitaire.

CHAPITRE II

DOCKING

MOLECULAIRE

1. Définition:

Le docking moléculaire consiste à déterminer la position relative de deux molécules un ligand qui est une petite molécule organique et un récepteur qui est en généralement de nature protéique qui possède un ou plusieurs sites actifs. la structure obtenue confère les propriétés à l'ensemble (le complexe) ainsi formé. la liaison entre le ligand et le récepteur introduit un signal biologique qui peut avoir diverses formes [22]

Il est fréquemment utilisé sur l'étude de la cible moléculaire des médicaments et réduire les essais expérimentaux.

Deux approches

Basée sur la complémentarité des surfaces

Basée sur le calcul de l'énergie du complexe [23]

2. Principe du docking :

Le docking moléculaire s'accomplit en deux étapes complémentaires :

2.1. Docking

qui consiste à rechercher les conformations du ligand capables à établir des interactions idéales avec le récepteur en utilisant des algorithmes de recherche : algorithme génétique, la méthode de Monte Carlo (qui utilise des procédés aléatoires)...

2.2. Scoring :

qui sont des méthodes mathématiques et des fonctions discriminant les poses de docking correctes de celles incorrectes. Ces méthodes sont utilisées pour estimer la puissance d'interaction et l'affinité de liaison et qui permet d'évaluer les conformations par un calcul rapide d'énergie d'interaction des ligands avec un récepteur pour ne retenir que la meilleure. [24]

3. Modalisation moléculaire:

la modalisation moléculaire est une méthode utilisée en chimie pharmaceutique pour le développement de nouveaux médicaments [25]

le mécanisme d'action de nombreux médicaments consiste à agir comme inhibiteur (ligand) d'une enzyme (récepteur) impliquée dans le développement de la maladie [26]

IC50 : Concentration inhibitrice moyenne [27]

4. Les interactions:

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 [28]

4.1. Les interactions protéines-ligand:

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 basé sur 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 et génèrent une énergie appelée énergie libre de GIBBS qui se calcule selon l'équation 1 [30]

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

R : constante de gaz (8.314 J K⁻¹ mol⁻¹)

T : température (K)

K_i : constante d'inhibition

Les molécules organiques sont capables de s'auto-associer les unes aux autres grâce à plusieurs types de liaisons faibles, dont les forces électrostatique les forces de van der waals les liaisons hydrogènes et les interactions hydrogènes.

Les associations sont dues aux propriétés chimiques électronique et géométriques des molécules à l'inverse des liaisons covalentes les liaisons faibles permettent une grande flexibilité et plasticité des macromolécules (protéine ,enzyme , complexes protéine-ligand ou protéine. protéine

Les interaction qui stabilisent les structures tridimensionnelles des macromolécules sont [31]

4.2. Les interactions intermoléculaires:

4.2.1. Les forces de Van Der Waals:

Ces forces résultent de l'interaction des nuages électroniques d'atomes ou de molécules ces forces résultent de l'interaction des nuages électroniques d'atomes ou des molécules proches les uns des autres (figure 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. [32 33 34]

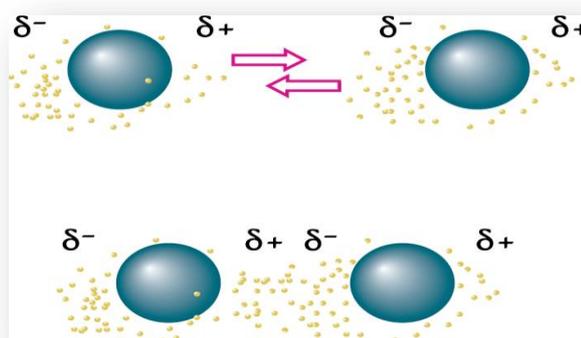


Figure 03 : les forces de Van Der Waals

4.2.2. les liaisons hydrogènes:

Très important en biologie les liaisons hydrogène assurent la stabilité de nombreux biopolymères, protéines, acides nucléiques.

La liaison hydrogène est une liaison chimique non covalente de type dipôle-dipôle entre 2 molécules ou entre 2 groupements d'une molécule.

Nature de la liaison : Elle consiste essentiellement dans l'interaction entre deux molécules :

1 molécule possédant un atome donneur d'électrons (O, N, F)

1 molécule possédant un atome H accepteur d'électrons (OH, NH₂)

La liaison résulte d'un transfert partiel d'un e. célibataire sur le groupement H.

Les liaisons hydrogène peuvent être intramoléculaires ou intermoléculaires. [35]

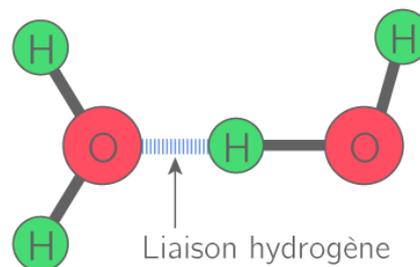


Figure 04 : la liaison hydrogène

4.2.3. L'effet hydrophobe :

Les molécules ou groupes non polaires ne sont pas capables de former des liaisons hydrogène et ne peuvent donc pas s'hydrater: on les nomme pour cette raison substance 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 [32]

5. Les approches de docking moléculaire :

Le docking ou amarrage arrimage est une procédé très utile qui vise à prédire l'interaction potentiel de la structure d'un complexe moléculaire à partir des petite molécules

dans les sites de liaison de protéine afin d'accélérer la recherche et découverte des nouveaux médicaments in-silico c.-à-d. à l'aide d'ordinateur

De façon générale le docking a pour but de simuler l'interaction entre les molécules in-silico et les résultats obtenus servent à prédire la structure et les propriétés de nouveaux complexes [28]

trois degrés sont en général considérés :

-le docking rigide : considérant que chacune des deux molécules conserve une géométrie interne fixe

-Le docking semi-flexible est souvent appliqué dans le cas protéine-ligand où une des deux molécules (le ligand) de taille moindre est considérée comme flexible et la protéine comme rigide de façon à ne pas trop complexifier le système.

-Le docking flexible considérée que les deux flexibles [36]

6. Applications:

Il y a deux principales applications au programme de docking.

La plus ancienne est la prédiction du mode d'interaction. La seconde consiste à optimiser des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur. Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer les performances des différents programmes de docking pour chaque application.

L'aptitude d'un algorithme à trouver l'emplacement correct du ligand par rapport

à son récepteur est habituellement déterminée au moyen de la déviation quadratique

moyenne ou RMSD (root-mean-square deviation) du modèle conçu par le logiciel vis à vis de la structure du cristal. [37]

7. Programmes du docking les plus cités :

Plus de 30 logiciels de docking sont actuellement disponibles. Les trois les plus fréquemment cités pèsent 53% du total de citations trouvées dans la littérature sont: Auto Dock (27 %), GOLD(15 %) Flex X (11 %) [38]

Tableau 02 : Principaux programmes de docking moléculaire. [39]

Nom	Editeur	Site Internet
AutoDock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Gold	CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred	OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
Glide	Schrödinger	http://www.schrodinger.com/Products/glide.html
Dock	UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/ceius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html

CHAPITRE III

MATIERIEL

ET

METHODES

1. Matériel :

Le docking moléculaire nécessite l'utilisation des outils suivants :

1.1. Micro-ordinateur :

Nous avons utilisé dans notre étude deux micro-ordinateurs le premier ASUS ayant un processeur AMD A4-5100 APU et une mémoire vive de 4,00 Go. Sous un système d'exploitation Windows 8.1 bits.

Le deuxième TOSHIBA Intel(R) Core(TM) i3CPU et une mémoire vive de 2.00Go. sous un système d'exploitation Windows 7 professionnel.

1.2. Le réseau internet :

Il constitue un outil indispensable dans notre étude pour le téléchargement des complexes protéiques et celui des ligands à partir des différentes banques de données.

1.2.1. La banque de données protéiques :

Protein Data Bank ou PDB est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (ou structure 3D) de macromolécules biologiques: protéines, essentiellement, et acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN. Ces données expérimentales sont déposées dans la PDB par des biologistes et des biochimistes du monde entier et appartiennent au domaine public. Leur consultation est gratuite et peut se faire directement depuis le site web de la banque.[40]

La 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 [41].

1.2.2. Le serveur Molinspiration :

On l'utilise pour l'application de la règle de 5 (de Christopher Lipinski)[42].

1.3. Programmes :

Nous avons utilisé les programmes suivants pour la réalisation de docking moléculaire

1.3.1. Arguslab (4.0.1) :

Logiciel de dessin des molécules (ligands...) et de docking moléculaire.

1.3.2. Titan (2.4) :

C'est un outil de dessin qui permet la construction de molécules tridimensionnelles "3D" et leur enregistrement dans différents formats (pdb, mol2, sdf...).

1.3.3. Surflex (2.5):

C'est un algorithme de doking rapide, capable d'arrimer les ligands dans un environnement constitué d'acide aminés avec une bonne précision [43].

1.3.4. Viewerlite (4.2) :

Permet la visualisation du ligand dans le site de liaison de la cible et des différentes interactions existant entre ce ligand et les acides aminés du site actif (liaisons hydrogène surtout). Il permet également de calculer la distance entre les atomes du ligand et ceux des acides aminés de l'enzyme impliqués dans les interactions.

1.3.5. Openbabel (2.4.1) :

C'est un logiciel qui est utilisé pour faire l'inter conversion des données chimiques d'un format à un autre de fichiers de divers types (pdb, mol2, mol...etc.).

1.3.6. Excel Microsoft office (2007) :

On l'utilise pour le traçage de la courbe de corrélation ainsi que pour calculer le coefficient de corrélation linéaire.

2. METHODES :**2.1. Le protocole d'utilisation des logiciels :****2.1.1. Arguslab :**

On l'utilise pour réaliser la séparation de la protéine et du ligand.

2.1.2. Surflex :

Une étape préliminaire est nécessaire : c'est la préparation de la protéine et du ligand et leur enregistrement sous format .mol2.

Pour réaliser le docking on utilise l'invite de commande MS DOS :

1. pour la création du site d'interaction (protomol) il faut lancer la commande suivante :

```
Surflex-dock proto ligand.mol2 protéine.mol2 pl
```

2. Docking :

```
Surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 protéine.mol2
```

3. calcul du RMSD :

```
Surflex-dock rms final-0.mol2 ligand.mol2
```

4. Dans le cas où le rms obtenu est supérieur à 2 et inférieur à 3 on peut lancer la commande suivante pour obtenir l'optrms

```
Surflex-dock optrms final-0.mol2 ligand.mol2.
```

2.2. Le test de fiabilité du Surflex :

La fiabilité du logiciel peut être jugée au moyen de deux critères :

-La détermination du RMSD complétée par une visualisation des complexes formés.

-Le calcul du coefficient de corrélation.

2.2.1. Le RMSD :

Correspond à la moyenne de la déviation de chacun des atomes du ligand (ligand du calcul) par rapport à ceux de la molécule d'origine (ligand de référence).

La performance d'un programme de docking est évaluée en termes de capacité à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux, le mieux possible signifie que la valeur du

RMSD entre la pose du ligand calculée par le logiciel et la conformation dans le complexe expérimental est la plus petite possible. Le positionnement correspond à l'identification correcte du site de liaison sur la protéine. L'orientation et la conformation du ligand influent sur la valeur du RMSD [44].

104 complexes protéine-ligand tirés de la PDB ont été testés (la liste sera retrouvée dans les annexes)

2.2.2. Le coefficient de corrélation :

Le coefficient de corrélation de Pearson permet d'évaluer l'intensité et le sens de la relation linéaire entre deux séries de données provenant de l'échantillonnage de deux variables métriques. Le coefficient de corrélation indique le degré de relation linéaire entre les deux séries de données, et il prend des valeurs situées entre -1 et 1 . S'il n'y a pas de relation linéaire entre les deux séries de données, le coefficient de corrélation est très proche de zéro, et on dira que les deux variables ne sont pas corrélées.

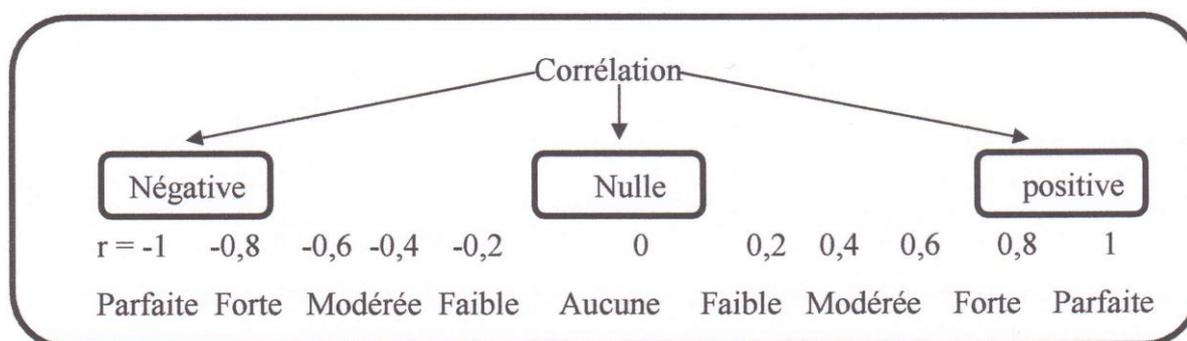


Figure 05 : les différentes valeurs de r

Pour étudier la corrélation entre le score (affinité) obtenu par le docking moléculaire par le logiciel surflex et l'activité biologique (IC50), nous avons utilisé 24 complexes issus de la PDB.

IC50: c'est la concentration d'inhibiteur nécessaire pour atteindre 50% d'inhibition de l'enzyme.

3. Inhibition de facteur XIa :

3.1. choix du complexe 5qcn:

Nous avons choisi le complexe 5qcn en raison surtout de sa valeur de K_i qui est égale à 0.7 nM.

3.2. Calcul des interactions (enzyme-composés substitués) :

Pour développer de nouveaux inhibiteurs plus efficaces du FXI nous avons utilisé comme structure de départ le ligand de référence BVM du complexe 5qcn. Afin d'améliorer son affinité, plusieurs groupements fonctionnels présentant la capacité d'engager des liaisons hydrogène avec le site actif de la protéine ont été introduits sur différentes positions de la molécule.

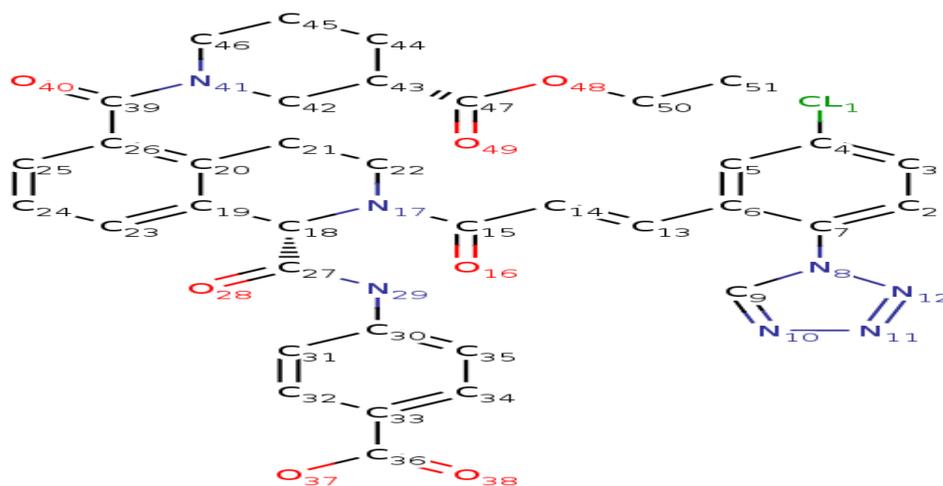


Figure 06 : structure du BVM

3.2.1. Les mono-substitutions :

Les mono-substitutions ont été réalisées de la façon suivante :

Tableau 03 : les mono-substitutions du BVM

		Mono-substitutions													
composés	C3	C36	C51	C15	C3	C36	C24	C46	C39	C27	C47	C50	C13	C14	C45
1	OH														
2		NH 2													
3			NO												
4				NH											
5					NH 2										
6						NH									
7							OH								
8								OH							
9									NH						
10										NH					
11											NH				
12												NH 2			
13													OH		
14														OH	
15															OH

3.2.2. les bi-substitutions :

Les bi-substitutions ont été réalisées de la façon suivante :

Tableau 04 : les bi-substitutions du BVM

Bi-substitutions																					
composés	C3	C5	C8	C13	C14	C15	C22	C24	C25	C27	C29	C34	C36	C39	C42	C43	C44	C45	C47	C50	C51
16	O H		O H																		
17	O H	O H																			
18												O H	NH 2								
19																	OH				NH 2
20								OH	N H2												
21																		NH 2	OH		
22														N H	O H						
23								OH	O H												
24										N H	N H										
25						NH				N											

3.4. Application de la règle de Lipinski

Chaque médicament éventuel doit de se conformer à plusieurs critères de base, tels son faibles cout de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologique d'absorption, de distribution, de métabolisme d'excrétion et de toxicité [45]. En 1997, lipinski a défini un ensemble de critères 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 disponible oralement s'il respecte au moins 3 critères des 5 critères de la règle de lipinski.[46]

CHAPITRE IV

RESULTATS

ET

DISCUSSION

1. Test de fiabilité du programme de docking :

Avant d'aborder l'étude de l'inhibition par diverses molécules à savoir le composé BVM et ses dérivés mono et bi-substitués, Nous avons jugé utile d'évaluer tout d'abord la performance et la fiabilité du programme Surflex par trois tests différents : le RMSD et le coefficient de corrélation linéaire et l'analyse visuelle.

1.1. Le test RMSD (Root Mean Square Deviation)

Après avoir séparé la protéine de son ligand les 2 fichiers sont enregistrés séparément pour reconstituer de nouveau le complexe par docking moléculaire et calculer le RMSD entre la meilleure conformation du ligand générée par Surflex (final-0) et celle de référence issue de la PDB les résultats des 104 complexes sont représentés dans l'annexe 1.

La prédiction est correcte si la valeur du RMSD est $\leq 2\text{\AA}$. Ce test a été réalisé sur 104 composés choisis arbitrairement à partir de la PDB.

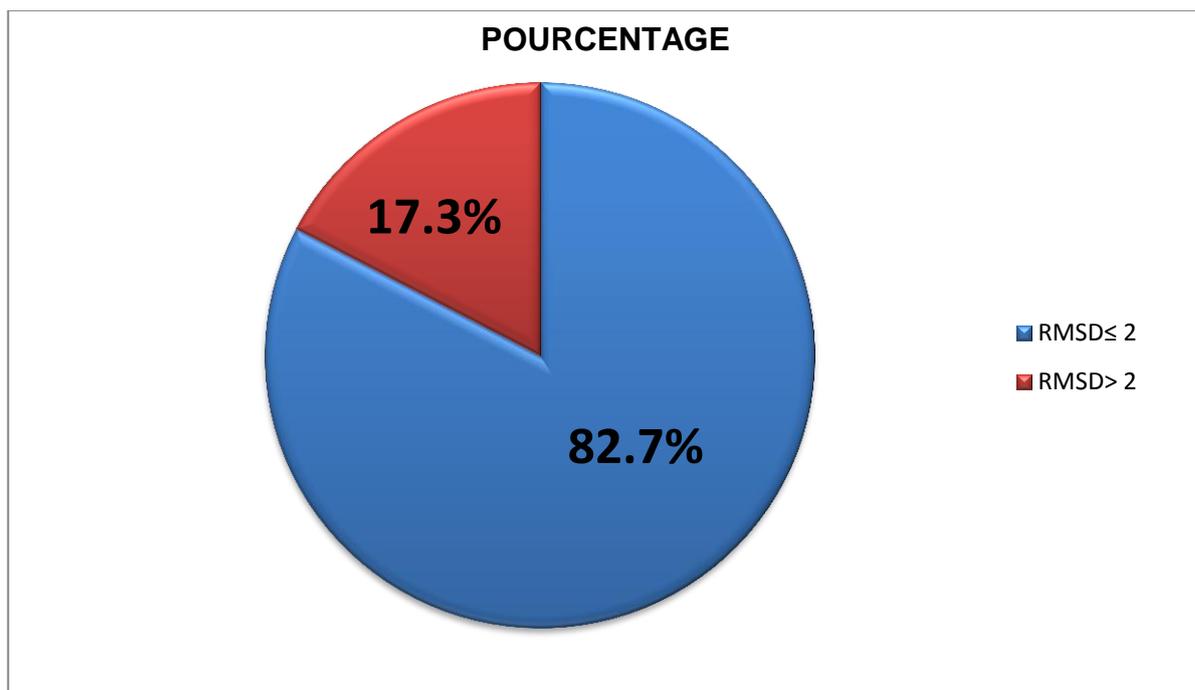


Figure 07 : Résultats en % obtenus par Surflex à deux intervalles de RMSD (Å).

D'après nos résultats, les valeurs de RMSD obtenues sont de 82,7 % inférieures ou égales à 2 Å et que seulement 17,3 % des résultats sont supérieurs à 2 Å, conformément aux travaux de Teniou S. (2012) et Merzoug et al. (2015) qui révèlent un taux de RMSD inférieur ou égal à 2 Å de 85,8% et de 83 %. Respectivement[47] [48].

1.2. Calcul du coefficient de corrélation (r)

Afin de nous assurer davantage que le programme Surfex peut être utilisé, nous avons fait un deuxième test, celui du coefficient de corrélation (r).Ce test consiste à évaluer le degré de corrélation qui existe entre les affinités calculées par Surfex de 24 complexes différents et leur activité biologique(IC50).

Ces complexes sont téléchargés à partir de la PDB dans le format pdb portant des codes et des IC50 différentes, dans le tableau ci-dessous nous présentons les valeurs suivantes: IC50, log IC50 et les affinités calculées par Surfex.

Tableau 05: Valeurs de l'affinité et du log IC50 des 24 composés étudiés

N	CODE PDB	IC50 (nM)	LOG IC50	L'affinité (M ⁻¹)
1	3OX2	704	2.84	3.01
2	3OWX	17600	4.16	0.88
3	3Q3K	7.4	0.86	4.67
4	1SV5	370	2.56	2.99
5	1X70	18	1.25	3.57
6	3O9V	18	1.25	5.30
7	4AZO	38	1.57	4.07
8	4E90	8	0.90	5.57
9	4GH6	21	1.32	5.42
10	3HSC	280	2.44	4.07
11	3EQ9	41	1.61	2.10
12	3W12	92	1.96	5.13
13	2YM4	1500	3.17	4.44
14	3DRP	0.2	-0.69	7.12
15	3CCC	1.36	0.13	4.95
16	2RIP	1.02	0.008	6.40
17	2OPH	3.54	0.54	2.82
18	2QOE	0.76	-0.11	6.64
19	2ONC	1.11	0.04	5.31
20	2QJR	5.00	0.69	6.14
21	2IIV	1.98	0.29	3.01
22	2OLE	0.71	-0.14	5.17
23	3C43	1.14	0.05	7.54
24	3D4L	0.47	-0.32	8.79

La valeur du coefficient de corrélation trouvé est égale **0,70**.

L'analyse par régression linéaire a permis d'obtenir la courbe de corrélation suivante

(Voir la Figure 08).

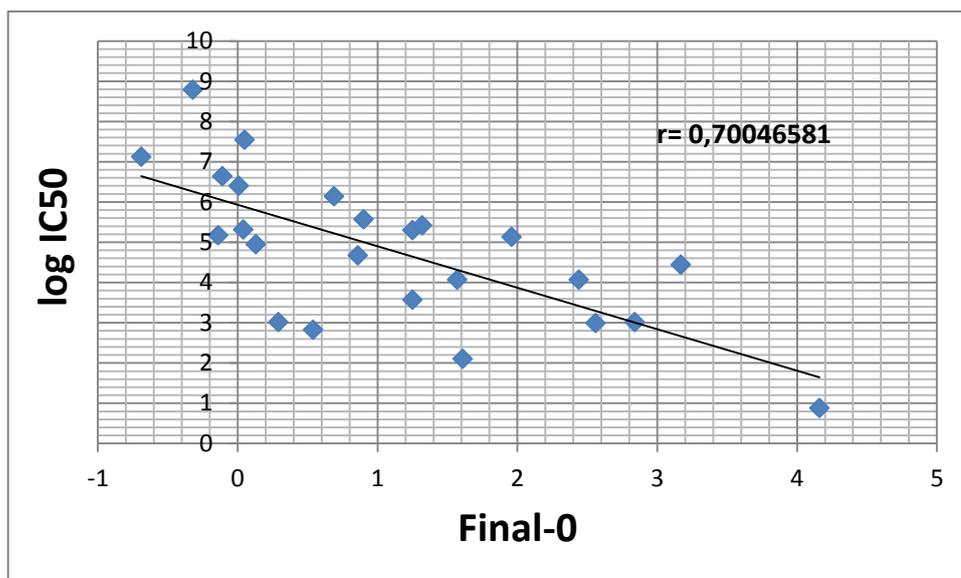


Figure 08: corrélation entre l'activité biologique (logIC50) et l'affinité donnée par Surfex des 24 complexes choisis.

La valeur de r égale à 0.70 montre qu'il y a une forte corrélation entre les deux paramètres analysés, à savoir l'activité biologique représentée ici par log IC50 et les résultats du docking donnés par Surfex (les affinités).

Surfex établit une bonne corrélation ce qui est en accord avec les résultats de

Boucherit H (2012): $r = 0.76$. [49]

1.3. L'analyse visuelle :

L'analyse visuelle faisant suite au test RMSD est aussi une étape essentielle pour juger la performance du programme Surfex. Elle permet de visualiser les résultats décrits par la valeur numérique du RMSD. Pour cela, 2 complexes ont été sélectionnés : l'un possédant un bon RMSD = 0.47Å pour le complexe 1X70 et l'autre un mauvais RMSD = 6.49Å pour le complexe 4CUM.

La comparaison des conformations expérimentales du ligand de référence et des conformations optimales calculées par le logiciel Surfex des 2 complexes est montrée dans les figures suivantes :

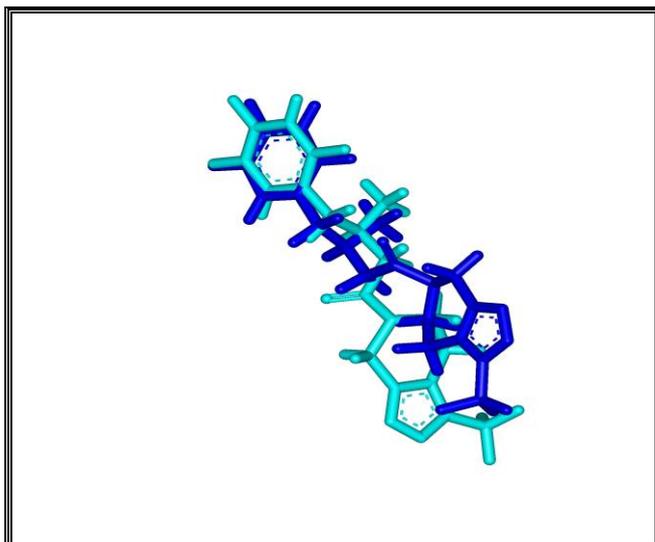


Figure 09: Superposition de l'inhibiteur de référence (coloré en bleu ciel) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en bleu roi) du complexe 1X70 (RMSD = 0.47 Å)

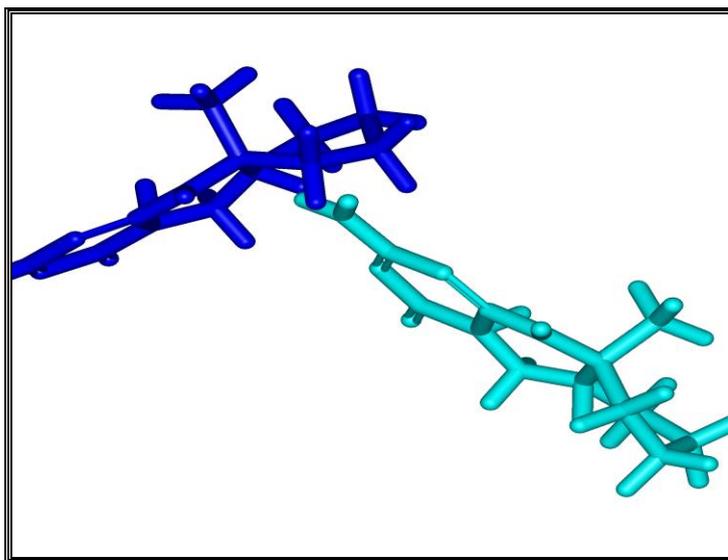


Figure 10: Superposition de l'inhibiteur de référence (coloré en bleu ciel) et du finale-0 calculé par surflex(coloré en bleu roi) du complexe 4CUM (RMSD = 6.49)

Dans le premier complexe avec un RMSD de 0.47Å on obtient une bonne superposition de la solution du docking avec la structure observée expérimentalement. De ce fait la superposition est presque parfaite (figure 09); alors que pour le deuxième complexe, avec un RMSD de 6.49Å il n'y a aucune superposition (figure 10).

Conclusion:

Nous retenons le programme Surflex pour suivre notre étude de docking moléculaire.

Le programme Surflex peut être considéré assez performant et peut être utilisé pour simuler la formation des complexes enzyme-inhibiteur puisqu'il reproduit assez bien les résultats expérimentaux avec presque 82.7 % de résultats positifs pour le RMSD et présente une forte corrélation entre les deux paramètres analysés avec un coefficient de corrélation r égal à 0.70.

2. Etude et proposition des nouvelles molécules bioactives**✓ Les substitutions du composé BVM**

Elles ont été réalisées dans le but de découvrir des nouveaux inhibiteurs plus efficaces et plus puissants que le ligand de référence BVM.

2.1. Les mono substitutions :

Parmi les 15 mono substitutions réalisées, sept composés sont présentés des affinités supérieures à celle du composé BVM qui est 3.63

Tableau 06: l'affinité des meilleurs composés mono substitués

Composé	Affinité
2	4.15
3	4.15
5	4.16
6	3.64
10	3.87
11	5.11
12	5.19

Parmi ces résultats obtenus lors de la première substitution nous avons choisi 5 composés qui présentent une affinité élevée (2,3,10,11,12) et aussi 4 composés ayant une moindre affinité (1,4,7,9) pour faire une bi substitution.

.

2.2. Les bi substitutions

Les résultats des meilleurs composés bis substitués sont représentés dans la tableau N7

Tableau 07: l'affinité des meilleurs composés bi substitués

Composé	Affinité
16	5.23
17	6.15
18	4.9
19	4.67
23	4.13
24	6.49
28	5.47
30	4.14

Nous remarquons, d'après les résultats de ce tableau, que les composés des monosubstitutions ayant des affinités faibles peuvent présenter, après une deuxième substitution, des affinités plus élevées comme le composé N24 par exemple.

➤ Règle de lipinski

Avant de proposer les composés (N2, N12 ,N18,et N28) comme étant de nouveaux inhibiteurs plus puissants du facteur XI il était nécessaire de compléter cette étude par l'application de la règle de Lipinski, pour déterminer les propriétés physico-chimiques de ces composés et donc prédire leurs propriétés ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion).

Ces propriétés ont été déterminées par le programme Molinspiration. En effet ce programme calcule les propriétés moléculaires importantes (LogP, la surface polaire, le nombre de donneurs et accepteurs de liaison hydrogène...etc.) de la molécule après lui avoir fourni le dessin de celle-ci ou sa formule SMILES.

Pour être disponible par voie orale, toute molécule doit répondre au moins à trois des cinq critères (voir tableau 8).

Tableau 08: Diverses propriétés pharmacologiques de la molécule de base et des composés choisis.

Composé		Paramètres de la règle de Lipinski				
		Log p	PM	noN	Nohnh	Nrotb
		≤ 5	≤ 500	≤ 10	≤ 5	≤15
Molécule de base		3.53	712.16	14	2	10
Mono-substitutions	2	2.26	692.78	14	5	10
	3	-0.58	692.76	16	7	11
	5	2.97	708.78	15	6	10
	6	2.61	694.79	14	5	11
	10	3.71	692.78	14	5	3
	11	3.51	692.78	14	5	10
	12	-0.9	663.69	14	3	8
Bi. substitutions	16	3.55	723.74	16	4	10
	17	3.16	723.74	16	4	10
	18	2.84	708.78	15	4	11
	19	-1.68	709.74	16	6	10
	23	3.29	723.74	16	4	10
		3.61	706.76	15	3	11
	28	2.10	722.76	16	5	11
	30	-1.21	723.77	16	6	10

PM : poids moléculaire.

nOH, NH : nombre de donneurs de liaison H

nO,N : nombre d'accepteurs de liaison H

log P : coefficient de partition calculé.

nrotb : liaisons rotables .

Selon le tableau nous constatons que les composés étudiés et la molécule de base répondent à la règle de lipinski.

Cependant, pour certains composés les accepteurs de liaisons H et le poids moléculaire sont supérieurs à la norme. Il faut noter que la réalisation de trois critères seulement de la règle de Lipinski est suffisante pour dire qu'un composé répond à cette règle.

Conclusion :

D'après les résultats du tableau précédent nous pouvons conclure que le complément d'information sur les autres propriétés physico-chimiques nous confirme qu'il s'agit de molécules biologiquement actives dont l'effet inhibiteur sur le facteur XI doit être vérifié expérimentalement par des tests *in vitro* et *in vivo*.

3. Etude des interactions des composés testés :

Pour faire cette étude nous avons choisi les quatre molécules ayant les meilleures propriétés parmi les composés étudiés précédemment.

Donc l'étude de ces quatre composés a été complétée par une visualisation des interactions établies entre ces composés et le facteur XI

✓ Interactions du composé N2 :

Nous observons la présence de trois liaisons hydrogènes formées par l'inhibiteur mono substitué (composé N° 2) schématisées dans la figure N°11 et dont les propriétés sont regroupées dans le tableau N°9

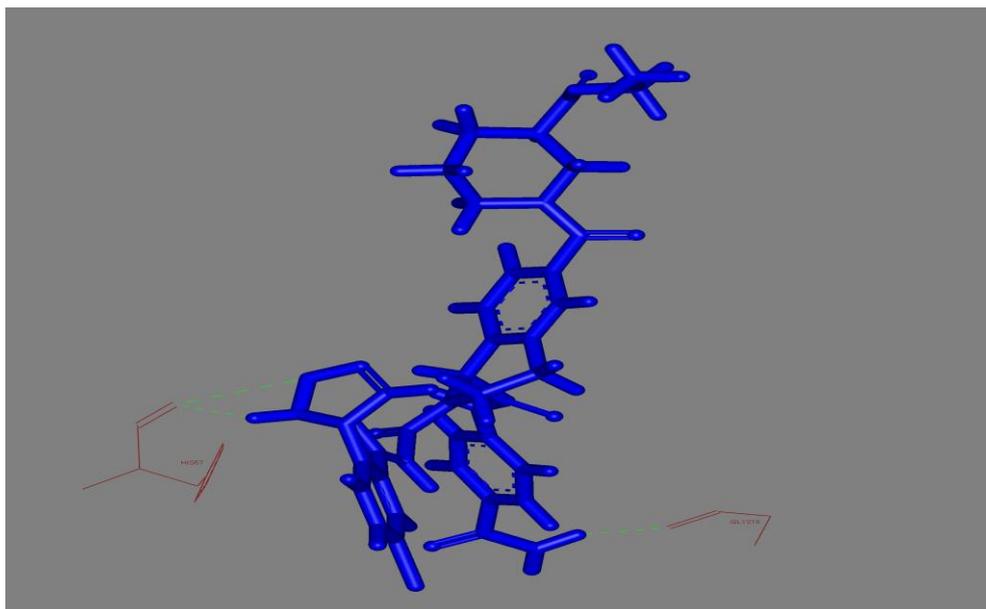


Figure11 : Représentation des liaisons hydrogène formées par le composé 2 dans le site actif.

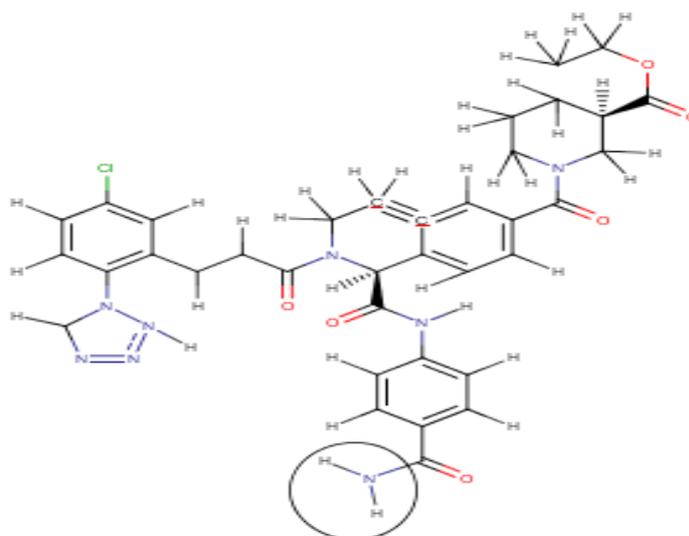


Figure 12 : structure chimique de composé 2

✓ **Interactions du composé N12 :**

L'analyse visuelle du complexe mono substitué N12 nous révèle 5 liaisons hydrogènes schématisées dans la figure N°13 et détaillées dans le tableau N° 9.

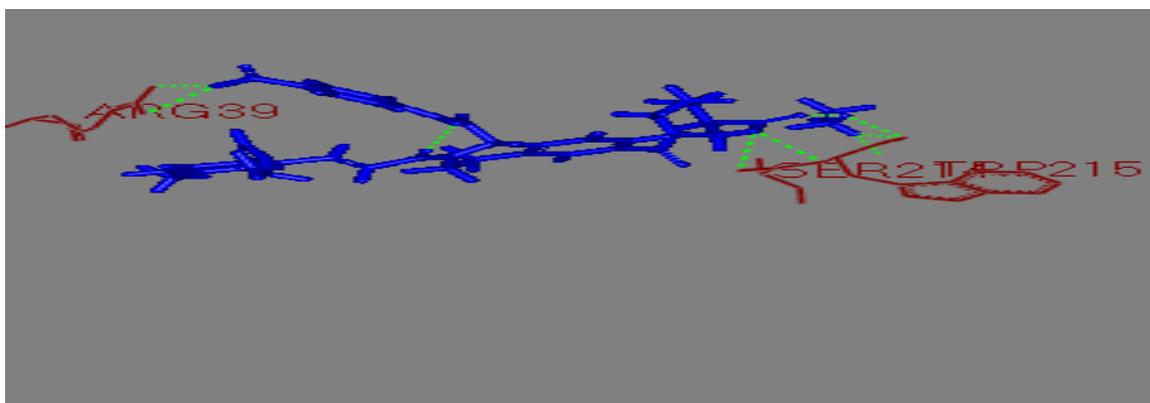


Figure13: Représentation des liaisons hydrogène formées par le composé 12 dans le site actif.

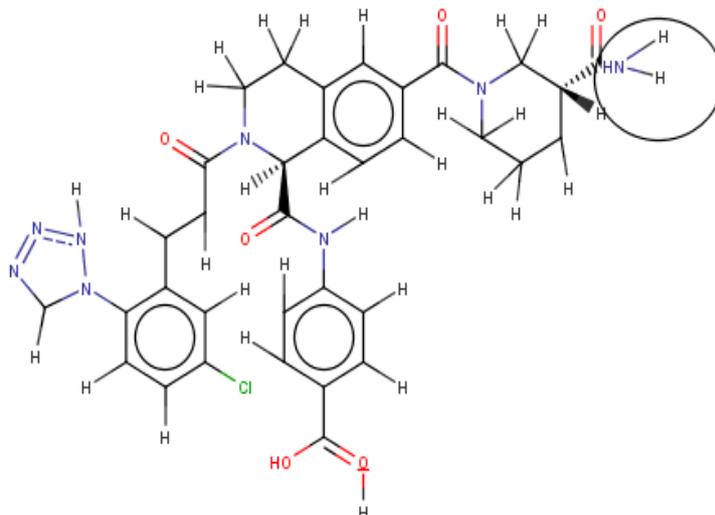


Figure14 : structure chimique de composé 12

✓ **Interactions du composé N18 :**

La visualisation des interactions entre le composé N° 18 et le facteur XI montre la formation d'une seule liaison hydrogène schématisés dans la figure N° 15 et détaillés dans le tableauN°9

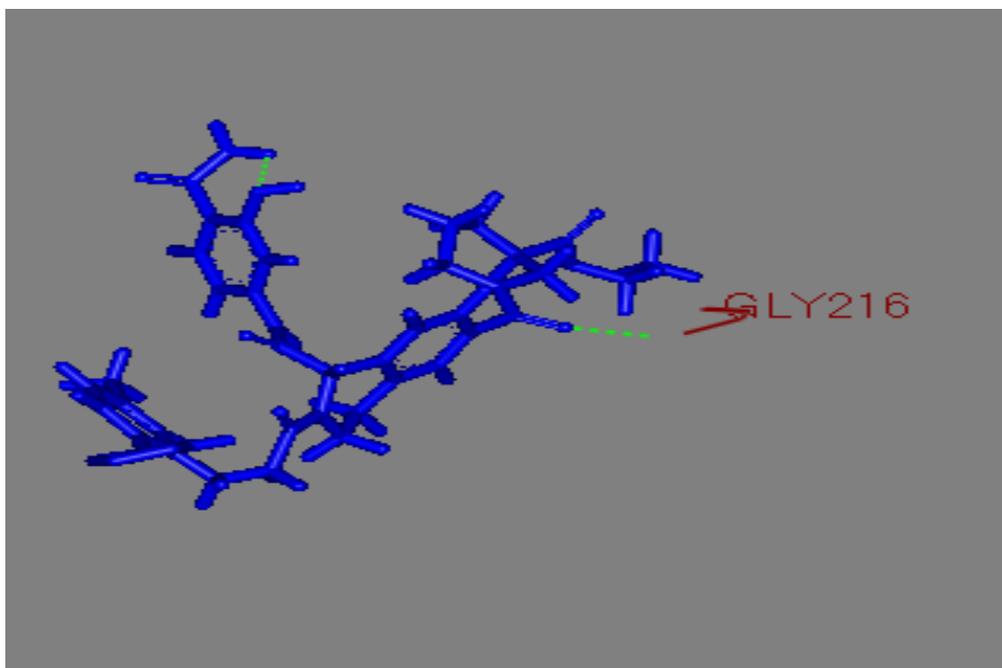


Figure15: Représentation des liaisons hydrogène formées par le composé 18 dans le site actif.

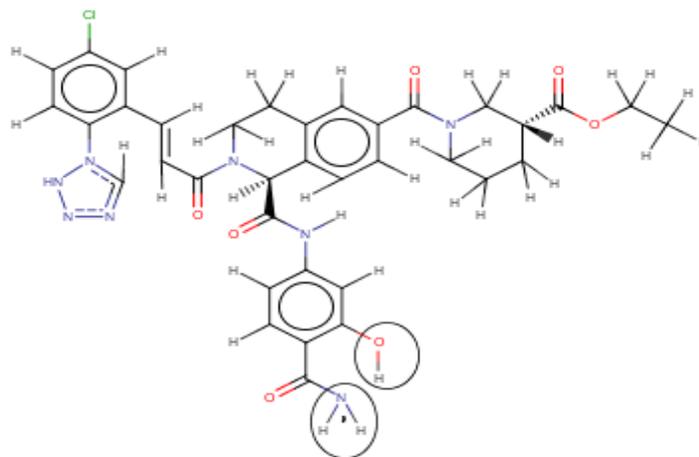


Figure 16 : structure chimique de composé 18

✓ **Interactions du composé N°28 :**

La visualisation des interactions entre le composé N° 28 et le facteur XI montre la formation de 4 liaisons hydrogène schématisés dans la figure N°17 et détaillés dans le tableau N°9

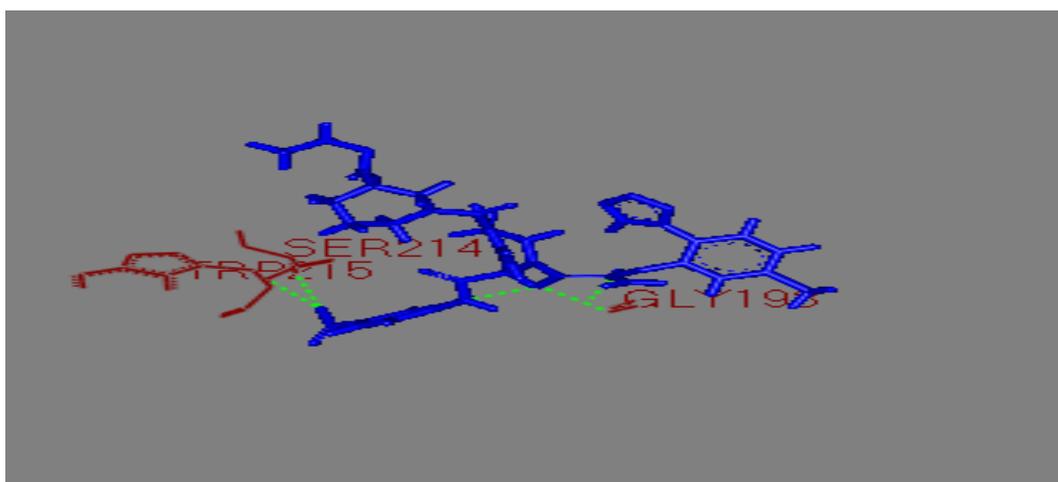


Figure17:Représentation des liaisons hydrogène formées par le composé 28 dans le site actif.

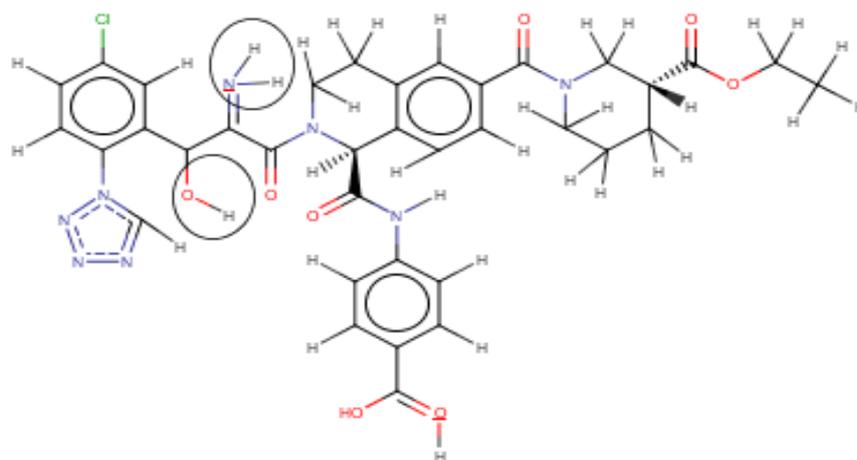


Figure 18: structure chimique de composé 28

Tableau 9: Les différentes liaisons hydrogène générées entre les composés substitués et le facteur XI .

Composés substitués	Nombre des Liaisons H	Les interactions hydrogènes	Distance(Å)
2	1	Gly218 : CA -C=O...H...N85	2.96
	2	His57 : CA-C=O...H...N15 CA-C=O...H...N14	2.70
12	1	Trp215 : CE1-C=O...H...N51	2.69
	1	Ser214 : CA-C=O...H...O49	2.94
	1	Trp215 : CA-N...H...O49	2.85
	2	Arg39 : CZ-NH2...H...O32 CZ-NH1...H...O32	2.86
18	1	Gly216 : CA-NH...H...O35	2.94
28	2	Gly139 : CA-N...H...O12 CA-NH...H...O29	2.62
	1	Ser214 : CA-N...H...O28	2.77
	1	Trp215 : CA-N ...H...O28	2.95

Conclusion :

Nous pouvons conclure d'après ces résultats que les quatre composés étudiés à savoir les composés N°2, 12, 18 et 28 ayant des affinités respectives de (4.15; 5.1; 4.9 et 5.45) sont plus élevées que celle de la molécule de base, le BVM ($3,63 \text{ M}^{-1}$), et un nombre de liaisons hydrogène formées lors de leurs interactions avec le facteur XI (3, 5, 1 et 4) supérieur à celui des liaisons hydrogène formées par le BVM.

Cette amélioration de l'affinité entre le facteur XI et les quatre composés résulte probablement de la formation des nouvelles liaisons hydrogènes avec le site actif.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'objectif de notre travail est de développer *in silico* de nouveaux inhibiteurs du facteur Xla par le biais du docking moléculaire.

Pour cela, nous avons utilisé le logiciel Surflex. Afin de vérifier la fiabilité de ce programme informatique il était indispensable de procéder, en premier lieu, à une confrontation de ses résultats théoriques aux données expérimentales. Le premier test consiste à calculer le RMSD (Root Mean Square Déviation) pour évaluer la déviation de la conformation du ligand simulé par Surflex à sa conformation de référence qu'on retrouve dans la *PDB*. Sur les 104 complexes pris depuis la *PDB*, 82.7% ont présenté des valeurs dans les normes (inférieures ou égales à 2 Å). Un deuxième test confirmant la validité du programme consiste à déterminer le coefficient de corrélation linéaire entre $\log CI_{50}$ et les scores d'affinité. Les résultats de la régression linéaire donnent un coefficient de corrélation égal à 0.70. Suite à ces résultats positifs, nous considérons que le programme Surflex peut être exploité dans la recherche de nouveaux inhibiteurs de facteur Xla.

En second lieu, nous avons déterminé l'affinité du composé BVM considéré comme inhibiteur naturel de facteur Xla. Enfin, nous avons tenté de développer de nouveaux inhibiteurs en prenant comme structure de base le BVM. L'activité inhibitrice de ce dernier a pu être améliorée grâce à une approche très utilisée dans le domaine de la conception rationnelle des médicaments : la mono substitution (15 composés) et la bi substitution (15 composés). Les deux composés 2 et 12 résultant de la mono substitution présentent une légère amélioration de l'affinité qui passe de 3.64 à 4,15 pour le composé 2 et à 5,19 pour le composé 12. Aussi nous avons obtenu une autre amélioration de l'affinité des deux composés bi substitués 18 et 28 qui est égale à 4.9 pour le composé 18 et 5,47 pour le composé 28.

La dernière étape de notre travail a consisté à appliquer la règle de cinq de Lipinski afin de nous renseigner sur les propriétés pharmacocinétiques ADME de ces inhibiteurs. Les résultats obtenus sont positifs car les quatre composés 2, 12, 18 et 28 ont respecté au moins 3 des 5 critères de la règle de Lipinski. Leur utilisation comme médicaments potentiels ne posera donc aucun problème de biodisponibilité par voie orale. Pour leur validation, ces résultats obtenus *in silico* doivent être complétés et confirmés par des études expérimentales *in vitro* et/ou *in vivo*.

- [1] Coagulation du sang [en ligne] <http://www.docteurcliv.com/encyclopedie/coagulation-du-sang.aspx> .consulté le:[31/03/2018].
- [2] Coagulation sanguine: comment fonctionne-t-elle? Que se passe-t-il lorsqu'elle est perturbée ou excessive?. [En ligne] https://www.santeweb.ch/santeweb/Sujets_Prioritaires/Coagulation_sanguine_thrombose/Faits/Coagulation_sanguine_comment_fonctionne_t_elle_Qu_e_se_passe_t_il_lorsqu_elle_est_perturbee_ou_excessive.php . consulté le:[31/03/2018].
- [3]Dr F.LeSaché .Hémostase. Service d'Anesthésie –Réanimation .CHU La Pitié-Salpêtrière. Faculté de médecine. 13 /02/ 2015.
- [4] Dr JPCambus..2002 . Physiologie de l'hémostase.http://www.medecine.ups-tlse.fr/pcem2/cardio_vasc/telechargement/Physiologie_de_l_hemostase.pdf consulté le:[02/03/2018].
- [5] P. de Moerloose, G. Reber, J. Pugin .Activation et inhibition de la coagulation : que se passe-t-il en cas de coagulopathie intravasculaire disséminée ? . 2002 ; 11 : 584-90.
- [6] Coagulation plasmatique Physiologie [En ligne] <https://tenma123.files.wordpress.com/2008/10/17-coagulation-1.pdf>. consulté : le [15/03/2018]
- [07]T.de Revel, K Doghimi. Physiologie de l'hémostase , EMC vol 1 fév.2004. p.71-81.
- [8] Philippe de Moerloose, Françoise Boehlen. HEMOSTASE. Service d'Angiologie et Hémostase Hôpitaux.Universitaires et Faculté de Médecine de Genève ,2005-5006.
- [9]L'hémostase.[En ligne] http://promo2004.2007.free.fr/APP/7_HEMOSTASE.htmconsulté le:[03/04/2018].
- [10] coagulation : symptômes.[En ligne] <https://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/coagulation/symptomes>consulté le:[04/04/2018].
- [11]coagulation intravasculaire disséminée. [En ligne]http://www.labac.eu/telechargements_labac/2016/11/CIVD-etat-de-lieu-EMC.pdf. consulté : le [31/03/2018].
- [12]S. Billon, M.-T. Blouch et autres . Annales de Biologie Clinique : Les inhibiteurs anti-facteur XI , caractéristiques cliniques et biologiques. Laboratoire d'hématologie, CHU Morvan. 2001. 183-6.
- [13] Facteur XI.[En ligne] https://www.eurofins-biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/FACTEUR_XI.pdf.consulté le:[04/04/2018].
- [14]Coagulation plasmatique. [En ligne]<http://www.hematoweb.org/Coagulation-plasmatique-359-198-0-0.html>.consulté le:[16/04/2018].

- [15] Emmanuelle de Raucourt¹, Frédéric Bauduer². Déficit en facteur XI. 1 Laboratoire d'hématologie, Hôpital de Poissy-Saint-Germain-en-Laye, CTH de Versailles, Hôpital Mignot. volume, 16, numéro. 4 juillet- août -2010.
- [16] M. Germanos-Haddad, M. Neerman-Arbez P. de Moerloose, Le facteur XI : des déficits constitutionnels à un nouveau schéma de la coagulation. Rev Med Suisse 2003; volume -1. 22661
- [17] Troubles de coagulation. [En ligne] <https://www.wfh.org/fr/page.aspx?pid=1138> consulté le: [016/04/2018].
- [18] La Déficience en facteur II : Une maladie héréditaire de la coagulation du sang. [En ligne] http://www.hemophilia.ca/files/Facteur_II.pdf. consulté le: [10/04/2018].
- [19] déficit en facteur XI. [En ligne].
<https://www.wfh.org/en/page.aspx?pid=464&txtSearch=d%C3%A9ficite+en+facteur+xi+con> sulté le: [10/04/2018].
- [20] Prutsky G, Domecq JP, Salazar CA, Accinelli R. Traitement antifibrinolytique pour réduire l'hémoptyse. 10 juillet 2013.
- [21] Frédéric Bauduer, Brigitte Pan-Petes, Jenny Goudemand. Hématologie : Déficit en facteur XI. Volume 16, numéro 4, juillet-août 2010.
- [22] Karim mezhoud. Doking Moléculaire -LISIC.I [En ligne]
<http://www-lisic.univ-liuoral.fr/-vereVTEACHINGII3-14/RO-M1/prjDoking.pd>. consulté le: [17/04/2018].
- [23] Molecular Graphics and Modelling Society. American Chemical Society. Division of Computers in Chemistry. Journal of molecular graphics and modelling. 1997. Volume 15. Edition Elsevier Science Inc. P 9..
- [24] Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble: Université. Joseph Fourier. France. 2007. 90p
- [25] Bendamene S, Zahrouif Z. Simulation par docking moléculaire des interactions enzyme-inhibiteur : cas de la MMP-13. Mémoire présenté du Diplôme de Master. 2016.
- [26] Chikhi K, Oumeima A. Inhibition in silico de l'ARN polymérase NS5B pour combattre le virus de l'hépatite C. Mémoire présentée du diplôme de master 201
- [27] Farida Louacheni. Développement d'un portail web pour le criblage virtuel sur la grille

de calcul. Institut de la Francophonie pour l'Informatique - Master 2 Informatique 2013.

[28] Grosdidier A. 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. 2007.90p

[29] Chikhi A. calcul et modélisation des interaction peptide deformylase-substances antibactériennes à l'aide de technique de docking (amarrage) moléculaire .Thèse Doctorat d'université :Biochimie appliquée.Constantine :Université Mentouri Constantine.Algérie.2007.

[30] Arrault A .Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutique COX-2 et PPAR gamma .Thèse Doctorat d'université : Université d'Orléans.2007.

[31] Wanen G.L, Andrews C.W, Capelli A. M, Clarke B, Lalonde J, Lambert I.D et al. A .Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions. Journal of Medicinal Chemistry.2006;4: 599 1 2-5931.

[32] Karp G. Biologie moléculaire et cellulaire. 2004.3ème édition. France: De Boeck.850.

[33] Voet D, Voet J.G.Biochimie. 2005.2ème édition. France:DeBoeck1. 600.

[34] Gauchard P. Les interactions de faible énergie.

[35] http://www.umvf.biomedical.uniparis.fr/...gauchard_pierre_alexis_P05.pdf.consulté le:[10/05/2018].

[36] Les liaisons Hydrogène. [En ligne]

http://untori2.crihan.fr/unspf/2009_Strasbourg_Pigault_ForcesIntermoleculaires/co/12_Contenu_FI.htmlconsulté le:[15/05/2018].

[37]-Vieth.M,Hirst J.D, Kolinski A, Brooks C .L. Assessing energy functions for flexible Docking J.Comput. Chem.1998. 19 1612-1622.

[38] Sousa S.F, Fernandes P.A, Ramos M .J. Protein ligand docking: current statusand future Challenges. Proteins.2006,65 , 15-26.

[39] Taylor R .D,Jewsbury P.J, Essex J .W.F DS: flexible ligand and receptor docking with a continuum model and soft-core energy function. J .ComputChem.2003, 24 (13): 1637-1656.

[40] Protéine Data Bank.[en ligne] <http://www.rcsb.org/pdb/search/advSearch.do> consulté le [23/05/2018].

[41] [En ligne] https://fr.wikipedia.org/wiki/Protein_Data_Bank. consulté le [31/5/2018]

- [42] [En ligne] <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>. consulté le (22/5/2018)
- [43] [En ligne] surflex manuel :doking and similarity. biopharmics LLC. www.biopharmics.com Août 2010.
- [44] Miteva M.A ,Violas S.,Montes M.,Gomez D.,villoutreix B.O.FAF-Drugs :free ADME/tox filtering of compound collections.filtering of compound collections.Nucleic Acids Reaserch.2006 ;34 :738-744.
- [45] Chaib E, Guemour S inhibition in silico de la beta secrétase 1, enzyme clef de la maladie d'alzheimer, par la méthode du doking moléculaire mémoire de master en biochimie moléculaire et santé .université constantine1 Algérie. 2015
- [46] Chaib E, Guemour S inhibition in silico de la beta secrétase 1, enzyme clef de la maladie d'alzheimer, par la méthode du doking moléculaire mémoire de master en biochimie moléculaire et santé .université constantine1 Algérie. 2015.
- [47] Teniou S. (2012) : Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Thèse de magistère : Technologie des Explorations Biochimiques, Université Frères Mentouri Constantine.
- [48] Merzoug , A. , Mermoum S. , Khaled S. , Chikhi A. , Bensegueni A. , Boucherit H. (2015). Theoretical Study of the Interactions Involved in the Inhibition of Staphylococcus aureus Peptide Deformylase by GSK1322322 Derivatives, Journal Academica Vol. 5(2), pp. 16-29.
- [49] Boucherit H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine amino peptidase et de mycobacterium tuberculosis par diverses molécules. Thèse de Magistère .Univ Mentouri Constantine .Algérie.2012.

ANNEXES

Annexe 1
Liste des 104 complexes utilisés pour tester le programme Surflex par RMSD

Numéro	Code PDB	Final0	RMSD(Å)
1	5QCN	3.63	3.04
2	1MS6	1.83	1.60
3	3RCF	2.53	1.81
4	2IKH	5.61	1.27
5	3G5E	18.43	0.54
6	3DRP	8.11	1.64
7	1EET	22.75	1.03
8	2PEV	22.16	0.43
9	1EP4	10.35	0.58
10	2fdr	2.21	0.78
11	3off	1.98	8.11
12	3fqz	9.07	4.25
13	1ZHM	5.95	0.84
14	1ZOM	5.46	0.48
15	1ZPC	4.94	0.54
16	2QCG	3.16	0.15
17	2QCD	1.69	0.71
18	2QCF	5.89	1.52
19	2QCN	7.07	1.26
20	2QCH	3.02	1.23
21	2QCM	4.57	1.89
22	3K37	13.73	0.64
23	3QWJ	6.66	1.03
24	3CCC	4.82	1.38
25	2RIP	6.23	1.18
26	1XOE	5.26	0.52
27	1HGG	4.65	0.85
28	1RWQ	1.28	3.57
29	2OGZ	-1.05	1.60
30	2OPH	1.1	1.62
31	2QOE	6.43	0.74
32	3GOB	8.00	1.01
33	2ONC	0.81	0.99
34	2QJR	0.27	1.51
35	2RGU	0.72	2.10
36	1N1M	1.98	0.98
37	1IA4	3.75	2.61
38	2QTB	1.16	2.07
39	3D4L	6.68	0.70
40	1SNK	6.35	1.57
41	2IIV	3.44	1.96
42	1IA1	2.22	2.05
43	2ole	0.60	1.32

Annexe 1
Liste des 104 complexes utilisés pour tester le programme Surfex par RMSD

44	1IA3	9.90	0.66
45	3C43	1.72	1.59
46	4EY7	2.69	1.67
47	3OMV	-3.01	1.08
48	2AJ8	4.12	1.89
49	2EI6	7.74	0.55
50	3GHT	22.75	0.38
51	1ecc	4.05	2.21
52	1WU1	9.12	0.54
53	3OX3	1.39	4.19
54	3OX2	3.01	4.87
55	3ox1	2.36	1.19
56	3OWH	0.79	0.62
57	3OWX	0.88	1.56
58	3Q3K	4.67	0.84
59	1SV5	2.99	3.04
60	1FAX	6.55	0.77
61	1IOE	-3.66	5.57
62	1X70	3.57	0.47
63	3O9V	5.30	0.89
64	1HVB	0.77	1.99
65	4NCT	4.64	4.14
66	1IQE	3.86	1.83
67	4AZO	4.07	0.69
68	2AJB	1.34	1.38
69	4CUN	4.48	5.75
70	4CUM	3.13	6.49
71	3N3Z	2.20	1.02
72	4E90	5.57	1.88
73	4GH6	5.42	1.27
74	4Y86	5.10	3.58
75	1GPM	3.34	0.78
76	1FXY	5.42	0.77
77	1DAN	2.45	0.53
78	1W2K	5.12	1.78
79	2J2U	1.43	1.24
80	1LQE	0.98	1.39
81	1OYT	9.70	0.79
82	2YY2	3.69	1.50
83	4Y87	5.31	0.62
84	2VJK	13.13	1.11
85	3HSC	4.07	1.93
86	3LDQ	6.66	1.09
87	3 BLK	2.62	1.93

Annexe 1

Liste des 104 complexes utilisés pour tester le programme Surflex par RMSD

88	3 UGC	9.89	0.67
89	5NGF	8.41	0.73
90	3EQ9	2.10	1.61
91	3 EQ8	3.42	1.62
92	3 W I 2	5.13	1.54
93	2 FDU	4.32	0.72
94	1 FDW	3.09	0.89
95	2YM4	4.44	1.36
96	4LM1	2.93	0.98
97	5BNR	9.17	1.13
98	1xkb	4.22	0.82
99	3GHT	22.75	0.38
100	2FDY	0.29	1.99
101	1IA2	8.28	1.33
102	2BUC	7.24	2.01
103	2FJP	5.73	1.52
104	1ZZ3	3.04	3.22

Résumé :

Notre travail permet de rechercher de nouveaux inhibiteurs du facteur XI qui participe à l'amplification de la coagulation sanguine et dont une élévation des taux plasmatiques représente un facteur de risque de thrombose veineuse profonde.

Le programme d'arrimage moléculaire Surflex-dock a été développé pour aider à la mise au point des molécules à activité thérapeutique. Avec un taux de valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2 Å de 82.7 % et un coefficient de corrélation de 0.70, les performances du programme Surflex-dock sont avérées.

Nous avons testé dans ce but 15 composés monosubstitués et 15 composés bisubstitués de l'inhibiteur retenu ou de référence, le composé BVM. Les résultats du docking montrent que les affinités de 4 de ces composés : 2 monosubstitués N2 (4.15 M^{-1}) et N12 (5.19 M^{-1}) et 2 bisubstitués N 18 (4.9 M^{-1}) et N 28 (5.47 M^{-1}) sont supérieures à celle du composé BVM (3.63 M^{-1}).

De ce fait, nous proposons ces quatre composés comme de nouveaux inhibiteurs potentiels du facteur XI cependant des tests complémentaires in vitro et in vivo sont nécessaires pour valider ces résultats.

L'application de la règle de 5 de lipinski montre que ces composés possèdent des propriétés pharmacocinétiques ADME acceptables et que leur biodisponibilité par voie orale ne posera aucun problème.

Mots clés : inhibiteurs, facteur XI, la coagulation sanguine , l'arrimage moléculaire, Surflex, RMSD, le composé BVM.

Abstract:

Our work aims to investigate new factor XI inhibitors that participate in the amplification of blood coagulation whose plasma level evaluation represent a risk factor for deep vein thrombosis.

The Surflex-doc molecular docking program was developed to help in the molecules development with a therapeutic activity. Surflex- dock program performance is proven with a RMSD value rate less or equal to 2 (82.7%) and a correlation coefficient of 0.70.

For this purpose, we have tested 15 monosubstituted and bisubstituted compounds of the selected or reference inhibitor the compound BVM.

The results of docking show that the affinities of these compounds: monosubstituted N2 ($4.15M^{-1}$), N12 ($5.19M^{-1}$) and 2 bisubstituted N 18 ($4.9M^{-1}$), N28 ($5.47M^{-1}$) are superior than that of the compound BVM ($3.36M^{-1}$).

Based on this fact, we propose these 4 compounds as new potential inhibitors of XI factor, however complementary tests in vitro and in vivo are needed to validate these results.

The application of the lipinski 5 rule shows that these compounds have an acceptable ADME pharmacokinetic properties and that their oral bioavailability will not cause any problem.

Key Words: inhibitors, factor XI, blood coagulation, molecular docking, Surflex, RMSD, compound BVM.

المخلص

المخلص:

يهدف عملنا للبحث عن مثبطات جديدة بخصوص العامل FXI الذي يعمل على زيادة تخثر الدم والذي بدوره يمثل مستوى البلازما فيه خطر حدوث جلطة وريدية عميقة.

لقد تم تطوير البرنامج الجزيئي SURFLEX DOCK للمساعدة في التطوير الجزيئي مع النشاط العلاجي، ان أداء هذا البرنامج لقد أثبت بمعدل RMSD بأقل أو يساوي 82.7% ومعامل ارتباط يقدر ب 0.70.

قد اختبرنا لهذا الغرض 15 مركبا احدي الاستبدال و15 ثنائي الاستبدال من المثبط المرجعي المركب BVM ومنه فإن نتائج هذا البرنامج تبين أن 4 من هذه المركبات 2 نوع أحادي الاستبدال و 2 من نوع ثنائي الاستبدال هم أكبر من المركب ($3.63M^{-1}$) BVM لذلك بالاستناد إلى هذه الدلائل نقدم هذه المركبات 4 كمثبطات جديدة محتملة للعامل XI، ولكن يجب أن تجرى اختبارات تكميلية في vitro .vivo

للتحقق من صحة هذه النتائج، تنص المادة 5 من قانون Lipinski أن هذه المركبات لديها ADME دوائي مقبول وأن التوافر البيولوجية الفموي لن يشكل اي مشكلة.

Année universitaire : 2017/2018

**Présenté par : GHENAM Ahlem
GASMI Chiraz**

**Thème : INHIBITION *IN SILICO* DU FACTEUR XI IMPLIQUÉ DANS LA FORMATION DE
THROMBOSE VEINEUSE**

**Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de master en
Biochimie appliquée**

Résumé :

Notre travail permet de rechercher de nouveaux inhibiteurs du facteur XI qui participe à l'amplification de la coagulation sanguine et dont une élévation des taux plasmatiques représente un facteur de risque de thrombose veineuse profonde.

Le programme d'arrimage moléculaire Surflex-dock a été développé pour aider à la mise au point des molécules à activité thérapeutique. Avec un taux de valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2 Å de 82.7 % et un coefficient de corrélation de 0.70, les performances du programme Surflex-dock sont avérées.

Nous avons testé dans ce but 15 composés monosubstitués et 15 composés bisubstitués de l'inhibiteur retenu ou de référence, le composé BVM. Les résultats du docking montrent que les affinités de 4 de ces composés : 2 monosubstitués N2 (4.15 M-1) et N12 (5.19 M-1) et 2 bisubstitués N 18 (4.9 M-1) et N 28 (5.47 M-1) sont supérieures à celle du composé BVM (3.63M-1).

De ce fait, nous proposons ces quatre composés comme de nouveaux inhibiteurs potentiels du facteur XI cependant des tests complémentaires in vitro et in vivo sont nécessaires pour valider ces résultats.

L'application de la règle de 5 de lipinski montre que ces composés possèdent des propriétés pharmacocinétiques ADME acceptables et que leur biodisponibilité par voie orale ne posera aucun problème.

Mots clés : facteur XI, l'arrimage moléculaire, Surflex, inhibiteurs, RMSD.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie Appliquée .

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr.BENSEGUENI A . **Professeur - UFM Constantine 1.**

Encadreur : Mr. CHIKHI A. **Professeur - UFM Constantine 1.**

Examineur : Mr. MOKRANI E.H. **Maître Assistant A - UFM Constantine 1.**

Date de soutenance :04/07/2018