



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 1

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

**Département : 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* de la dihydrofolate réductase pour le traitement du Paludisme**

---

Présenté et soutenu par : - *MARK Hadda Rania*

Le : 04/07/2018

- *BOUFNIT Lamiss*

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** Mr. **CHIKHI.A** (Professeur - UFM Constantine 1).

**Rapporteur :** Mr. **MOKRANI E.H** ( Maitre assistant 'A' - UFM Constantine 1).

**Examineur :** Mr. **BENSEGUENI.** (Professeur - UFM Constantine 1).

*Année universitaire  
2017 - 2018*

# *Remerciements*

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

*Nous avons le plaisir d'exprimer notre profonde gratitude à notre encadreur **Mr MOKRANI E.H.** Maître assistant « A » à l'Université Frères Mentouri Constantine 1 pour l'effort fourni, les conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi de ce travail.*

*Un grand merci à **Mr CHIKHI A.** professeur à l'université Frères Mentouri Constantine 1, pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce Jury.*

*Nos profondes remerciements vont aussi à **Mr BENSEGUENI A.** professeur à l'Université Frères Mentouri Constantine 1, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Enfin, nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*



## *Dédicaces*

*Très sensible a mon soutien moral, qui depuis ma naissance m'a nourri d'assistance et puissance par celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, et qui s'inquiète constamment pour moi, la personne qui m'est trop chère ; le feu défunt mon Père : **HOCINE**.*

*À ma couveuse de chaleur et d'amour, la lumière de mes jours qui me bave de bonheur : Ma mère ; **LEILA**.*

*Aux Boosters de mes efforts, Mes joies de vivre, avec ceux qui m'ont soutenu pour ce combat et sacrifices afin de finir mes études et ce travail trône comme un exemple à suivre ;*

*Ma princesse adorée ; ma sœur : Mériem*

*Et son amie de toujours : Marwa.*

*A mes très chers Grands-Parents qui m'ont assisté durant mes études scolaires.*

*A mes cousins et cousines sans exception*

*A la personne qui comme 2<sup>me</sup> père : S.Salah*

*À mon binôme ; Rania.*

*À tous les amis (es) de la promotion Biochimie Appliquée Année 2018.*

*À ma famille : **BOUFNIT** et **KHERBOUCHE**.*

*A tous ceux qui, de près ou de loin , par un mot simple et pesant, m'ont donné la force de continuer.*



## *Lamiss*



## Dédicaces

*À mon soutien moral, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, et qui s'inquiète jusqu'à ce jour pour moi ; Mon Père ; KAMEL.*

*À la lumière de mes jours, la source de mon amour, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; Ma mère ; FARIDA.*

*Aux sources de mes efforts, Mes joies de vivre, et pour ceux que ce combat et ces sacrifices a fin de finir mes études et ce travail soit un exemple à suivre ;  
Ma tendre sœur adorée ; Besma .*

*À Mes très chers frères ; Mohamed El taher ,Mourad et Walid  
Mes **Amours**, Mes très chères nièces : Ratil Meriem et Rinad.  
Mes adorables neveux ; Ibrahim et Joud .*

*À Ma cousine d'amour ;Imen .*

*A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments :Amira ,Nourhane ,Khadidja .*

*À mon binôme ; Lamiss .*

*À tous les amis (es) de la promotion Biochimie Appliquée Année 2018.*

*À ma famille MARK.*

*A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer.*

## Rania



## Table de matières

<b>Introduction.....</b>	<b>01</b>
<b>Partie Théorique</b>	
<b>Chapitre 1 : La maladie de paludisme</b>	
1 Introduction .....	02
2 Causes.....	02
3 Symptômes .....	02
4 Épidémiologie .....	03
5 Traitement .....	03
5.1 Artémisinine .....	03
5.2 Les inhibiteurs de la dihydrofolate réductase) DHFR .....	04
<b>Chapitre 2 : Les structures mises en jeu</b>	
1. La cible: dihydrofolate réductase .....	05
1.1 Mécanisme d'action du DHFR .....	06
1.1.1 Mécanisme de la protonation du substrat .....	06
1.1.2 Transfert de l'ion hydrure .....	06
1.2 La structure de la DHFR humaine .....	06
1.3 Rôle physiologique .....	07
1.4 Site actif de la DHFR .....	08
2 Les inhibiteurs de la dihydrofolate réductase(DHFR).....	08
2.1 Triméthoprime .....	09
2.2 La pyriméthamine .....	10
2.3 Méthotrexate .....	10
2.4 Trimétrexate .....	10
<b>Chapitre 3 : Docking moléculaire</b>	
1 Introduction .....	11
2 Principe du docking .....	11
3 Les outils du docking moléculaire .....	12
3.1 Le récepteur .....	12
3.2 Les ligands.....	12
3.3 Programmes de docking moléculaire.....	13
3.3.1 Algorithme de fragmentation/reconstruction .....	14
3.3.2 Simulation par trajectoire .....	14
<b>Partie Pratique</b>	
<b>Chapitre 4 : Matériels et méthodes</b>	
1. Matériels.....	15
1.1 Micro ordinateur.....	15
1.2 Programmes.....	15
1.3 Les banques de données.....	15
1.3.1 PubChem17.....	15
1.3.2 PDB (Protein Data Banque).....	15
1.4 Le serveur molinspiration.....	16
2. Méthodes .....	16

2.1.1 Génération du protomol .....	16
2.1.2 Docking.....	16
2.2 Règle de lipinski.....	17

## **Chapitre 5 : Résultats et Discussions**

1. Test de fiabilité du programme de docking .....	18
1.1 RMSD .....	18
1.2 Analyse visuelle.....	19
2. Etudes des interactions DHRF-inhibiteurs .....	21
2.1. Etude des interactions DHRF-IXF (complexe 4QHV.....	23
3. Conception de nouveaux inhibiteurs de la DHFR.....	24
3.1 Criblage virtuel d'une collection des similaires du composé IXF.....	25
3.2 Etude des interactions des composés <b>1</b> et <b>2</b> envers la DHFR.....	25
3.3 Règle de Lipinski.....	29

<b>Conclusion</b> .....	<b>30</b>
-------------------------	-----------

### **Références bibliographiques**

**Annexes**

**Résumés**

## LISTE DES FIGURES

<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure N° 1 :</b> Biosynthèse des bases puriques et pyrimidiques chez <i>Plasmodium</i> ...	<b>05</b>
<b>Figure N° 2 :</b> Représentation globulaire de la structure DHFR humaine.....	<b>07</b>
<b>Figure N° 3 :</b> Site actif de la DHFR humaine.....	<b>08</b>
<b>Figure N° 4 :</b> Les inhibiteurs connus de la DHFR.....	<b>09</b>
<b>Figure N° 5 :</b> Comparaison des programmes de docking les plus cités.....	<b>13</b>
<b>Figure N° 6 :</b> Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles.....	<b>18</b>
<b>Figure N° 7 :</b> Représentation du positionnement de la pose du ligand IXF simulée par surflex (colorée en bleu) et celle de référence (colorée en rouge) du premier complexe 4QHV dans le site actif de la DHFR.....	<b>20</b>
<b>Figure N° 8 :</b> Représentation du positionnement de la pose du ligand HNT simulée par surflex (colorée en bleu) et celle de référence (colorée en rouge) du deuxième complexe 2G70 dans le site actif de la DHFR.....	<b>21</b>
<b>Figure N° 9 :</b> Structure chimique des composés MTX, IXF et GHW.....	<b>22</b>
<b>Figure N° 10 :</b> Représentation du positionnement du composé IXF dans le site actif de la DHFR.....	<b>23</b>
<b>Figure N° 11 :</b> Mode d'interaction du composé IXF dans le site actif de la DHFR..	<b>24</b>
<b>Figure N° 12 :</b> Illustration du positionnement du composé <b>1</b> dans le site actif de la DHFR .....	<b>26</b>
<b>Figure N° 13 :</b> Illustration du positionnement du composé <b>2</b> dans le site actif de la DHFR.....	<b>26</b>
<b>Figure N° 14 :</b> Mode d'interaction du similaire <b>1</b> dans le site actif de la DHFR.....	<b>27</b>
<b>Figure N° 15 :</b> Mode d'interaction du similaire <b>2</b> dans le site actif de la DHFR.....	<b>28</b>

## Liste des tableaux

Titre	Page
<b><u>Tableau N° 1</u></b> : Principaux Programmes de docking moléculaire.....	<b>12</b>
<b><u>Tableau N° 2</u></b> : Valeurs de RMSD des deux complexes DHFR-inhibiteur étudiés..	<b>19</b>
<b><u>Tableau N° 3</u></b> : Les 3 inhibiteurs étudiés avec leurs RMSD et IC <sub>50</sub> .....	<b>21</b>
<b><u>Tableau N° 4</u></b> : Numéro d'accèsion et score des meilleurs inhibiteurs obtenus suite au docking moléculaire de la collection de similaires du composé IXF.....	<b>25</b>
<b><u>Tableau N° 5</u></b> : Critères de la règle de Lipinski des deux meilleurs composés obtenus suite au criblage de la collection des similaires du 4QHV.....	<b>29</b>

## Liste des abréviations

**2D** : Deux dimensions

**3D** : Trois dimensions.

**Å**: Angström

**AS** : Artésunate.

**CTA** : Combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine

**DHFR** : Dihydrofolate réductase

**DTMP** : Disoxythimidine Monophosphate

**IC<sub>50</sub>** : Inhibitory Concentration 50.

**KDa**: Kilo Dalton.

**Log P** : Coefficient de partage octanol/Eau

**MTX** : Méthotrexate.

**nOHHN** : Donneurs de liaisons H

**nON** : accepteurs de liaisons H

**nrotb** : nombre de liaisons rotables

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

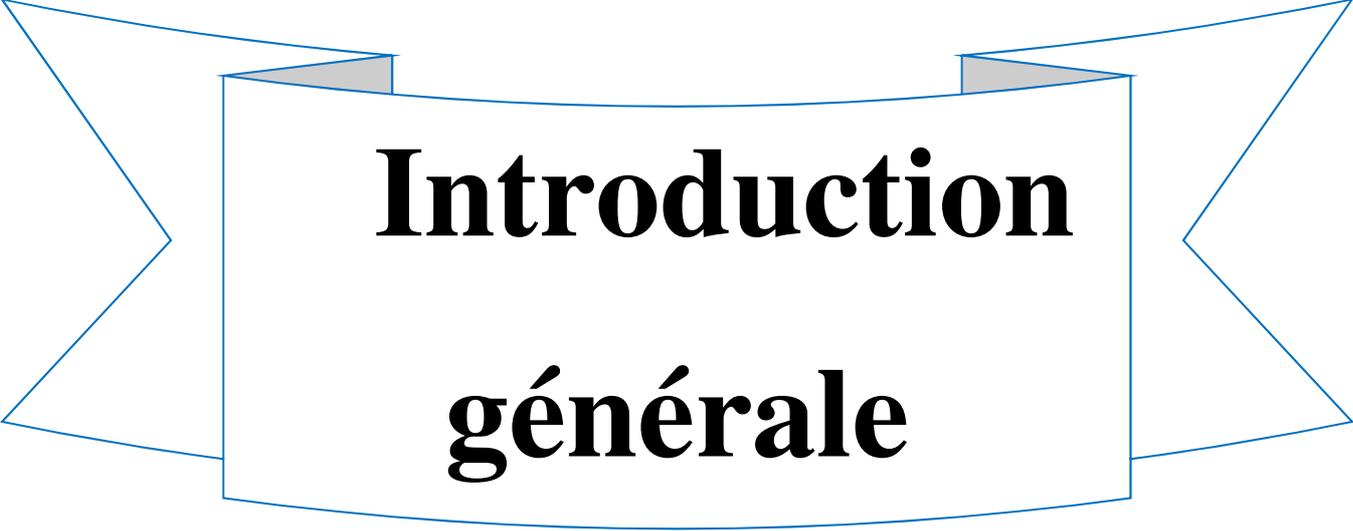
**PDB**: Protein Data Bank.

**PM** : Poids moléculaire

**RMN**: Résonance magnétique nucléaire.

**RMSD**: Root Mean Square Deviation.

**SP** : Sulfadoxine-pyriméthamine.



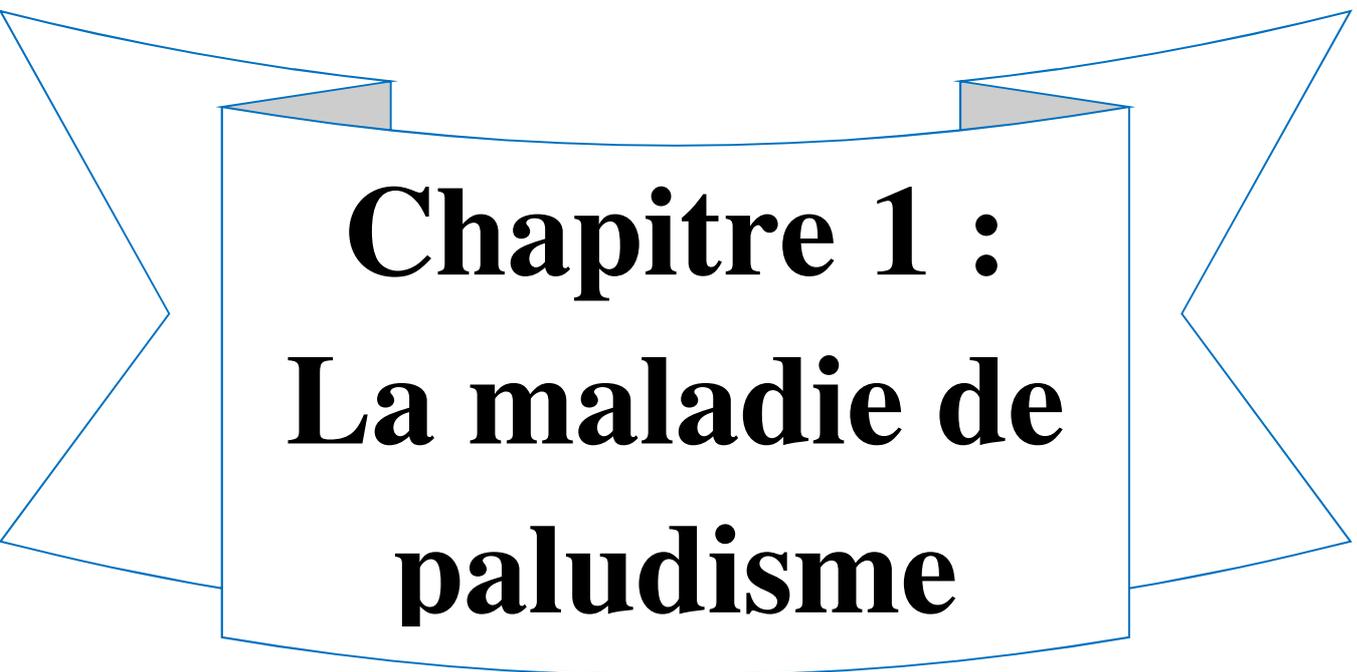
**Introduction**  
**générale**

Le chemin du principe actif au médicament est un chemin difficile (plusieurs contraintes : économiques, technologiques, commerciaux, scientifiques, réglementaires, ...), long (10 à 15 ans), coûteux (plus de 800 millions d'euros) et malheureusement également aléatoire car de nombreux principes actifs ne deviendront jamais des médicaments [1]. L'identification et la mise au point d'une molécule possédant l'activité biologique recherchée se fait lors du développement pré-clinique. Elles nécessitent, entre autres, l'investigation de ses propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques, et se basent de plus en plus sur des approches informatisées (*in silico*), dont les résultats doivent être validés expérimentalement *in vitro* et *in vivo* [2].

Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [3].

Notre travail de master consiste d'ailleurs en l'application du docking moléculaire dans la recherche de nouveaux inhibiteurs de la dihydrofolate réductase (DHFR) ; enzyme clé dans la biosynthèse des acides nucléiques notamment chez les parasites du genre *Plasmodium*[4].

L'objectif du présent travail consiste, dans un premier temps, à évaluer la performance du programme de docking « Surflex » via le test par RMSD. Dans un second temps, nous avons jugé utile d'étudier *in silico* le mode d'inhibition de la DHFR par différents inhibiteurs et ce dans la perspective de proposer *in silico* de nouveaux inhibiteurs plus puissants. Enfin, l'application de la règle de Lipinski nous permettra de vérifier la biodisponibilité des inhibiteurs proposés



**Chapitre 1 :  
La maladie de  
paludisme**

### 1. Introduction

Le paludisme, ou son synonyme, la malaria, est une maladie infectieuse grave, potentiellement mortelle [5], caractérisée par la présence et le développement d'un parasite du genre *Plasmodium* dans le système sanguin humain. Cette maladie se transmet d'homme à homme par le biais d'une piqûre d'un moustique femelle infectée, de type *Anophele*. [6]

### 2. Causes

4 espèces de parasites du genre *Plasmodium* sont responsables de l'installation de cette maladie chez l'homme :

- *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus pathogène et responsable des cas mortels. Elle est présentée dans les zones tropicales d'Afrique, d'Amérique Latine et d'Asie, et elle est dominante en Afrique.
- *Plasmodium vivax* coexiste avec *P. falciparum* dans de nombreuses parties du monde et est présente dans certaines régions tempérées.
- *Plasmodium ovale*, principalement trouvée en Afrique de l'ouest, ne tue pas mais peut entraîner des rechutes 4 à 5 ans après la primo infection.
- *Plasmodium malariae* a une distribution mondiale mais très inégale. Elle n'est pas meurtrière mais peut entraîner des rechutes jusqu'à 20 ans après la primo infection. [7]

### 3. Symptômes

La malaria se manifeste le plus souvent par une « primo-infection » qui survient après la durée d'incubation. Les symptômes de cette infection ressemblent à des crises et incluent :

- Des douleurs abdominales
- Une forte fièvre, accompagnée de frissons, sueurs, délires
- Une faiblesse généralisée
- Une baisse de tension

- Un faible appétit
- Des maux de tête
- Des nausées, diarrhées et vomissements (plus rarement)
- Des douleurs musculaires

Ensuite, l'état semble s'améliorer globalement, mais les crises de malaria surviennent à intervalles plus ou moins réguliers pendant des semaines, voire des mois après la primo-infection, même après être partie de la zone « dangereuse ». [8]

### 4. Épidémiologie

Le paludisme est en passe de devenir un véritable fléau qui ronge de plus en plus la santé des adultes et les jeunes aux quatre coins du monde. En 2016, l'OMS dénombre environ 216 millions de personnes atteintes de cette maladie dont 90% des cas sont enregistrés dans l'Afrique loin devant l'Asie du sud-est (7%) et la région Méditerranée orientale (2 %). Sur les 91 pays ayant rapporté des cas de paludisme indigène en 2016, 15 représentent 80 % du nombre de cas de paludisme dans le monde et tous, sauf l'Inde, sont en Afrique subsaharienne [9]. Au niveau national, en Algérie quelques foyers résiduels de paludisme sont déclarés (Djanet, Ain Défla, Ouargla) mais la plupart, ce sont des paludismes d'importation.[10] .On compte maintenant entre 400 à 500 cas importés par an.[11]. Ces chiffres alarmants expliquent notre intérêt pour étudier le paludisme dans le cadre de notre travail de master.

### 5. Traitement

#### **5.1. Artémisinine**

Les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) sont les antipaludiques les plus efficaces dont on dispose aujourd'hui. Actuellement, l'OMS recommande 5 CTA contre le paludisme à *P. falciparum*. Le choix des CTA doit se fonder sur les résultats des études d'efficacité thérapeutique contre les souches locales de paludisme à *P. falciparum*.

Les CTA constituent le pilier du traitement recommandé contre le paludisme à *P. falciparum*, et puisqu'aucun autre dérivé de l'artémisinine ne devrait être mis sur le marché avant plusieurs années, leur efficacité doit être préservée. L'OMS recommande que

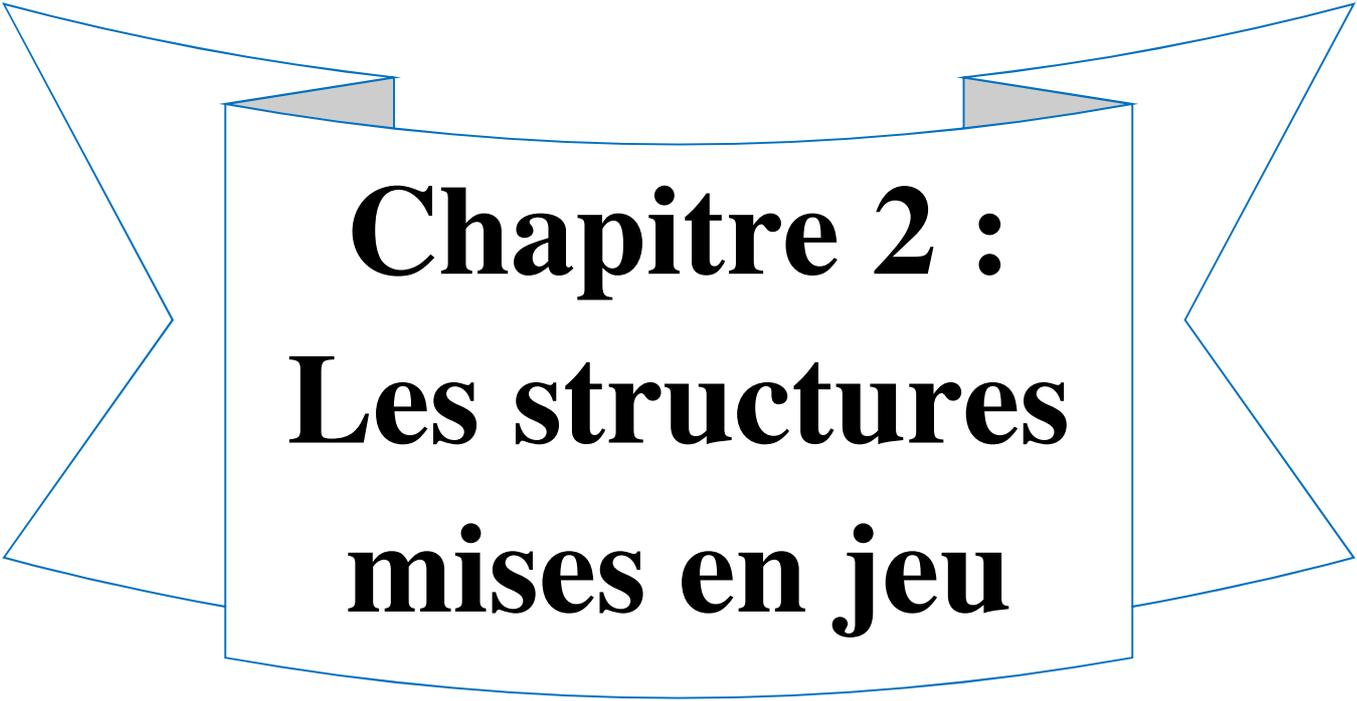
les programmes nationaux de lutte contre le paludisme surveillent régulièrement l'efficacité des antipaludiques en usage afin que les traitements choisis demeurent efficaces.

Les infections à *P. vivax* doivent être traitées par une CTA ou la chloroquine dans les zones où il n'existe pas de résistance à cette dernière. Dans les zones où l'on a mis en évidence des souches de *P. vivax* résistantes à la chloroquine, les infections doivent être traitées par une CTA, de préférence une combinaison dans laquelle le médicament associé à l'artémisinine a une longue demi-vie. À l'exception de la combinaison artésunate + sulfadoxine- pyriméthamine (AS+SP), toutes les CTA sont efficaces contre les infections à *P. vivax* au stade sanguin.[12]

### 5.2 Les inhibiteurs de la dihydrofolate réductase

Les bases puriques et pyrimidiques sont nécessaires à la synthèse de l'ADN. *Plasmodium* étant incapable de synthétiser les bases puriques car utilisant celles de l'hôte. Par contre au niveau des bases pyrimidiques, il les synthétise de novo parce-que il est incapable d'utiliser l'acide folique de l'hôte, ceci aboutit à la synthèse de dihydrofolate par action de la DHFR

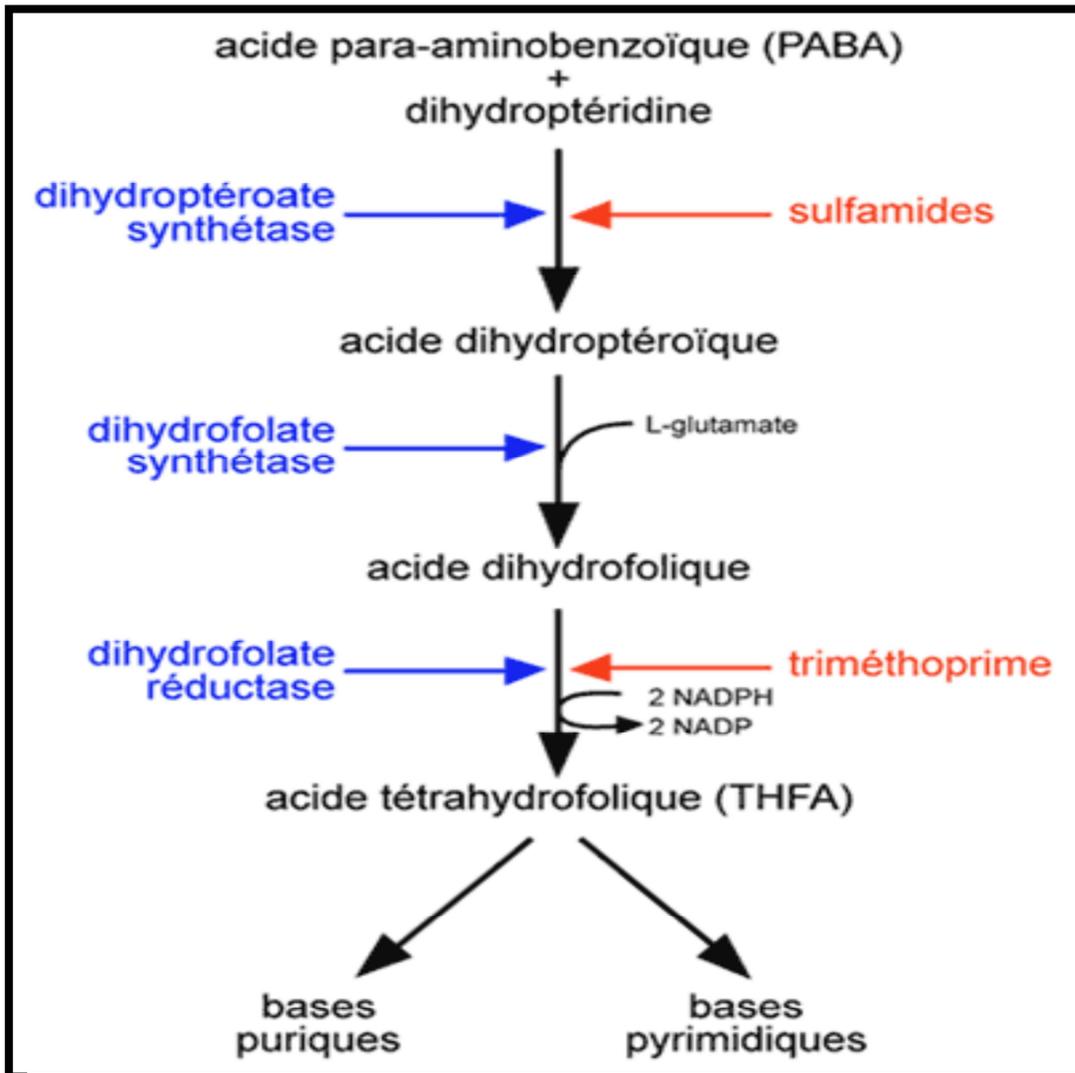
La dihydrofolate réductase catalyse les réactions séquentielles de la biosynthèse de disoxythymidine monophosphate (Dtmp) nécessaire à la synthèse de l'ADN de *Plasmodium*. Ainsi, cette enzyme constitue une cible thérapeutique récente pour le traitement du paludisme. En effet, les inhibiteurs de la DHFR se fixent sur le site actif de l'enzyme et empêchent la synthèse des bases pyrimidiques ce qui aboutit nécessairement à un arrêt de la croissance du parasite. [13]



**Chapitre 2 :**  
**Les structures**  
**mises en jeu**

1-La cible : dihydrofolate réductase

La dihydrofolate réductase (DHFR) ou EC(1.5.1.3) [14] est une oxydoréductase constituée de 186 acides aminés avec un poids moléculaire apparent de 25kDa. Elle catalyse une réaction clé de la biosynthèse de l'ADN de *Plasmodium* (Voir Figure N°1). [15]



**Figure N°1:** Biosynthèse des bases puriques et pyrimidiques chez *Plasmodium*

### 1.1 Mécanisme d'action du DHFR

#### 1.1.1 Mécanisme de la protonation du substrat

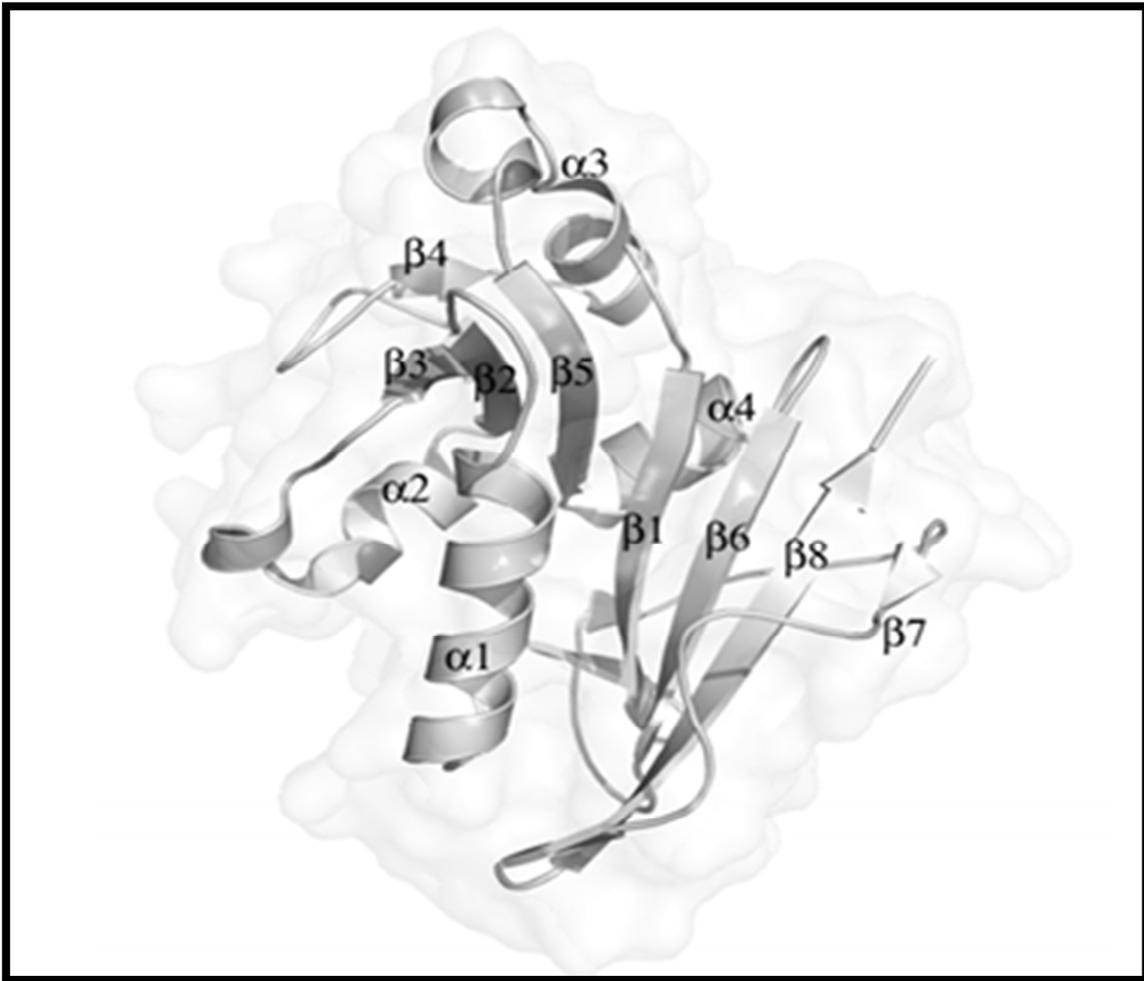
L'étape clé du processus catalytique implique deux réactions principales : la protonation du substrat 2 (acide dihydrofolique) à l'atome N(5) et le transfert de l'ion hydrure à l'intermédiaire chargé positivement pour former le produit de réaction neutre 3. Pour que la réaction enzymatique se poursuive, le dihydrofolate doit protoner à un atome N(5) de résidus de pyridine de 2 ou un atome de N(8) pour la réaction du folate. L'acide aminé impliqué dans la protonation est l'acide aspartique dans le cas *E. coli* et de l'acide glutamique dans le cas de l'homme (glu 30 dans DHFR).

#### 1.1.2 Transfert de l'ion hydrure

Le taux de transfert de l'ion hydrure au substrat est l'étape clé du processus catalytique. Il a été trouvé que la réduction du 7,8- dihydrofolate était accompagnée d'un transfert d'atome d'hydrogène situé en position 4- proR de NADPH à C-6 atome de dihydrofolate. L'utilisation de nicotinamide coenzyme qui a été sélectivement marquée avec du deutérium 4-pro position du groupe dihydropteridine qui a ensuite été converti en tétrahydrofate-d2 qui possédait l'atome de deutérium sur un même côté de l'anneau de dihydropteridine. [16]

### 1.2. La structure de la DHFR humaine

La résolution par cristallographie aux rayons X de la structure tridimensionnelle de la DHFR humaine démontre qu'elle présentait une forte homologie de structure avec les DHFRs d'autres espèces eucaryotes et procaryotes. La DHFR humaine est formée d'un feuillet B (7 parallèles et antiparallèle ; B1 à 8), flanquée de 4 hélices a (a 1 à 4) en surface, les structures secondaires étant reliées entre elles par des boucles. Le site actif, qui est au cœur de l'enzyme, contient deux sites de liaison, un pour le substrat et l'autre pour le cofacteur [17]



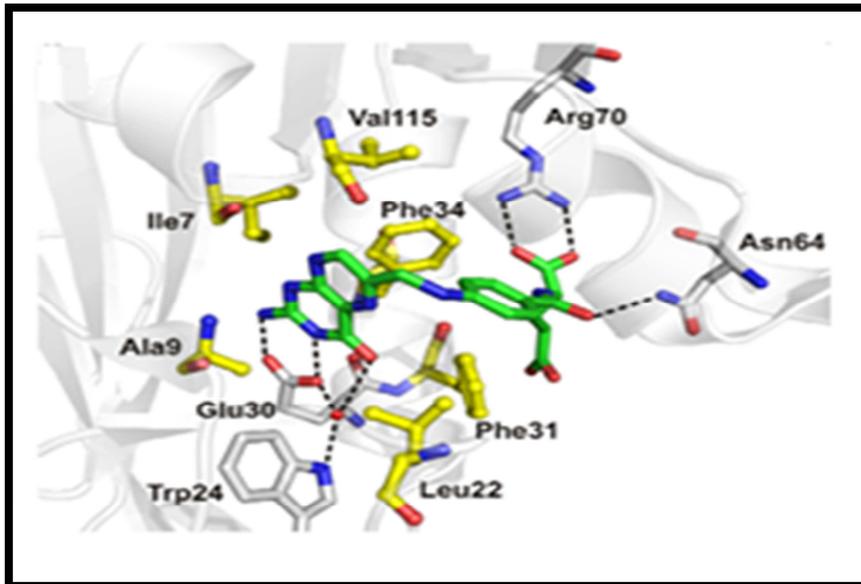
**Figure N° 02:** Représentation globulaire de la structure DHFR humaine.

### 1.3. Rôle physiologique

La dihydrofolate réductase humaine (DHFRh) est une enzyme essentielle à la prolifération cellulaire. Elle réduit le dihydrofolate en tetrahydrofolate, un co-facteur impliqué dans la biosynthèse des purines et du thymidylate notamment chez *Plasmodium* ce qui fait de cette enzyme une cible de choix pour bloquer la prolifération parasitaire. Autrement dit, cette enzyme joue un rôle essentiel dans construction de l'ADN et d'autre processus. Elle gère l'état du folate, une molécule organique transportant les atomes de carbone vers les enzymes qui ont besoin dans leurs réactions, d'une importance particulière, l'enzyme thymidylate synthase utilise ces atomes de carbone pour construire des bases de thymine, un composant essentiel de l'ADN. Une fois que le folate a libéré ses atomes de carbone, il doit être recyclé. C'est le travail effectué par la DHFR. [18]

### 1.4. Site actif de la DHFR

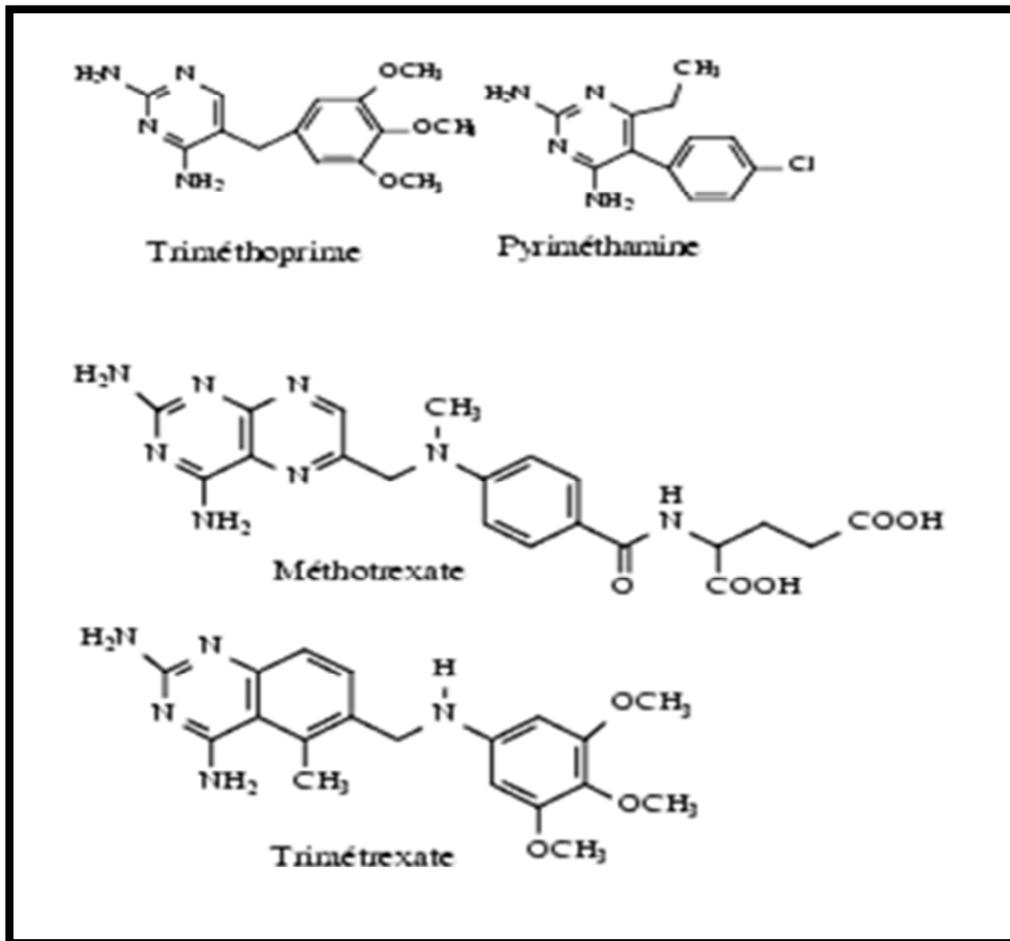
La structure cristallographique de la DHFR montre que son site actif comprend quelques acides aminés spécifiques jouant un rôle clé dans la stabilité du substrat faisant intervenir des interactions hydrophobiques notamment avec les résidus Phe31, Phe34, Ile7, Ala9, Leu22 et Val115.[19] . [20]



**Figure n°03** : Site actif de la DHFR humaine

## 2. Les inhibiteurs de la dihydrofolate réductase (DHFR)

La dihydrofolate réductase, DHFR, dont le rôle est de régénérer l'acide folique sous sa forme réduite de tétrahydrofolate ; est nécessaire pour les bactéries ; et certains parasites tels que *plasmodium*. Ses inhibiteurs possèdent donc des propriétés antibiotiques et antipaludiques notamment. Les inhibiteurs de la DHFR doivent avoir une spécificité suffisante pour la DHFR des micro-organismes pour ne pas induire trop d'effets indésirables chez l'homme. [21] Parmi les inhibiteurs sélectifs de la DHFR, nous citons **Triméthoprime, Pyriméthamine, Méthotrexate, Trimétrexate, Pentamidine (Figure N5).**



**Figure N°04:** Les inhibiteurs connus de la DHFR

## 2.1 Triméthoprine

Le triméthoprine est un inhibiteur de la DHFR des micro-organismes, mais une résistance à son action se développe rapidement lorsqu'il est utilisé seul ; si bien que son utilisation isolée ; c'est -à- dire sans autre antibiotique associé, est restreinte. Pour renforcer son action et s'opposer au développement de la résistance ; le triméthoprine est associé à un sulfamide qui inhibe la synthèse d'acide folique. L'association utilisée ; le plus souvent triméthoprine-sulfaméthoxazole ; constitue une approche thérapeutique très efficace contre de nombreux germes citons à titre d'exemple : *streptocoque* ; *staphylocoque*, *proteus* ; *enterobacter* ; *salmonella* ; *shigella* ; *Serratia* ; *Brucella abortus* ; *pasteurella haemolytica* et *nocardia*ect.[22]

### 2.2 La pyriméthamine

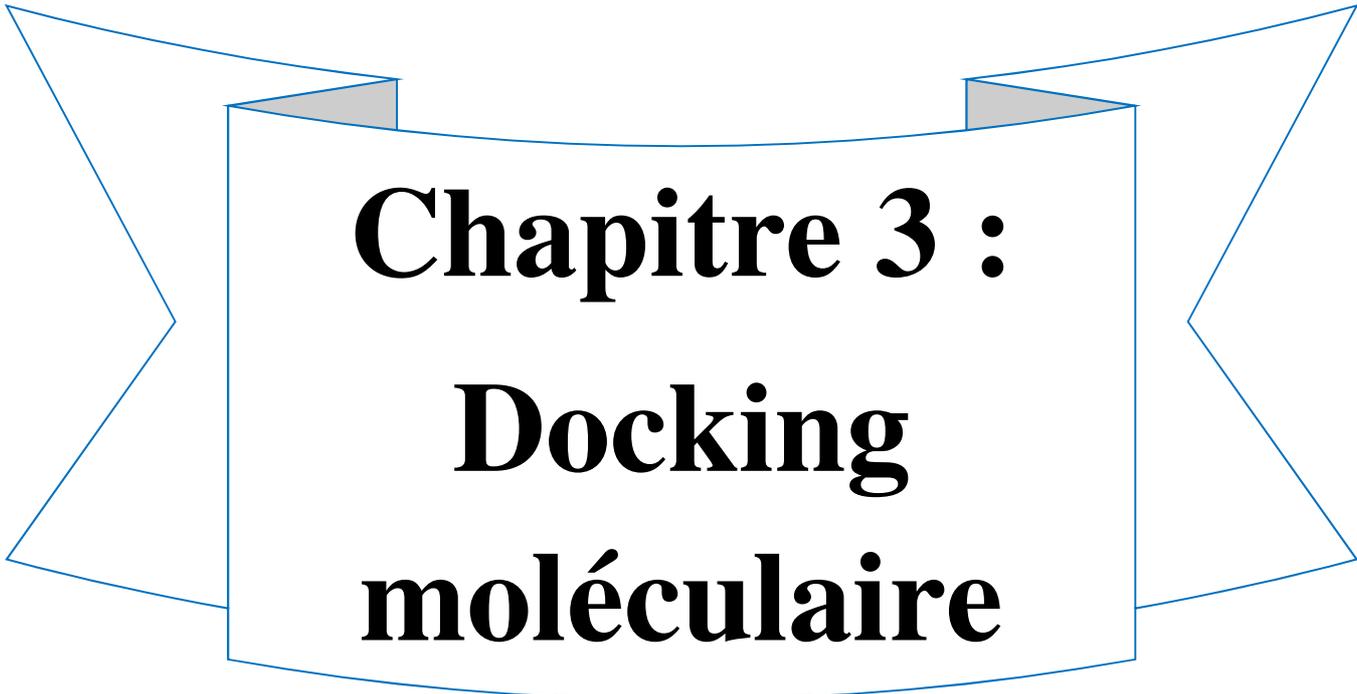
La pyriméthamine est un dérivé des diaminopyridines qui inhibe d'une manière assez sélective la DHFR du *plasmodium* sans inhiber celle du malade, La pyriméthamine se différencie du triméthoprime par une plus grande spécificité d'action sur la DHFR de *plasmodium malaria* que sur celle des bactéries. La pyriméthamine est absorbée lentement, mais complètement, par le tube digestif .Sa demi-vie plasmatique est longue, proche de 100 heures. L'association de pyriméthamine a un inhibiteur de la synthèse d'acide folique comme la sulfadoxine ou le sulfaméthoxazole, renforce l'activité antiparasitaire. La pyriméthamine associée à la sulfadiazine est également utilisée dans le traitement de la toxoplasmose. Les principaux effets indésirables de la pyriméthamine seule sont l'anémie et ceux de l'association pyriméthamine-sulfamide sont des réactions cutanées parfois graves. [23]

### 2.3 Méthotrexate

Le méthotrexate (MTX), analogue de l'acide folique, est le premier médicament antipaludique mis sur le marché. Il s'agit d'un inhibiteur compétitif de la DHFR bactérienne notamment. Le MTX n'a pas une grande sélectivité d'action et ses effets apparaissent surtout sur les cellules en division rapide ; cellules cancéreuses ; cellules normales de l'épithélium digestif et de la moelle osseuse. Les effets indésirables du méthotrexate sont nombreux et très fréquents ; surtout à doses élevées citons : des troubles sanguins, digestifs, Augmentation de la sensibilité aux infections.[24]

### 2.4 Triméthotrexate

Triméthotrexate est un inhibiteur de la DHFR bactérienne, parasitaire et humaine. Il est plus liposoluble que le méthotrexate. Il a été utilisé dans le traitement de la pneumonie à pneumocystiscarini, chez les immunodéprimés, notamment les malades atteints de SIDA. Cette molécule est vendue sous le nom commercial de Neutrexin. [25]



**Chapitre 3 :**  
**Docking**  
**moléculaire**

### 1. Introduction

Depuis leur introduction dans les années 80, les méthodes computationnelles sont devenues un élément clé dans la recherche pharmaceutique, tant à l'échelon académique qu'industriel. Leur domaine d'application s'est étendu, et une grande variété de logiciels sont à présent disponibles en vue de regrouper, analyser et intégrer des données biologiques et médicales; plus spécifiquement, ces logiciels permettent de créer des modèles informatiques visant à faire des prédictions, proposer des hypothèses, et par la même favoriser l'innovation et les progrès en médecine et thérapeutique. Parmi ces nombreuses applications, les techniques d'ancrage (docking) et de criblage virtuel (virtuel screening) cherchant à prédire et modéliser les interactions entre une molécule à potentiel thérapeutique et sa cible pharmacologique, le plus souvent une protéine (enzyme, récepteur ou autre).

De cette façon, il est possible d'établir des modèles permettant non seulement de prédire la manière avec laquelle le ligand se lie à sa cible, mais aussi d'estimer l'affinité entre les deux entités. Le but final est de pouvoir sélectionner virtuellement des molécules actives, avant de vérifier la pertinence des prédictions par des tests *in vitro* ciblés. De telles approches sont donc complémentaires au criblage biologique, et permettent de réduire la part de travail dévolue aux méthodes conventionnelles *in vitro*. Ceci permet un gain de temps et d'argent essentiels dans le long et coûteux processus du développement de candidats médicaments. [26]

### 2. Principe du docking

Le docking moléculaire s'accomplit en deux étapes complémentaires. La première dite « docking », consiste à rechercher les conformations du ligand capables à établir des interactions idéales avec le récepteur en utilisant des algorithmes de recherches comme : l'algorithme génétique, la méthode de Monte Carlo, l'algorithme de fragmentation/reconstruction...

La deuxième dite « scoring », permet de discriminer 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. [27]

### 3- Les outils du docking moléculaire

#### 3.1- Le récepteur

Les structures 3D des différentes protéines sont disponibles et accessibles gratuitement dans la banque de données PDB . (« *Protein Data Bank* », en anglais), [http://www.pdb.org/pdb/static.do?p=general\\_information/pdb\\_statistics/index.html](http://www.pdb.org/pdb/static.do?p=general_information/pdb_statistics/index.html) . Il s'agit de la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques (protéines , ADN , ARN ...etc.) . Cette banque de données a été établie en 1971 et contenait à l'époque sept structures . Actuellement , la PDB compte plus de 138 000 structures dont 124 000 ont été résolues par cristallographie au rayon X , 12 000 ont été définies par RMN et 2 000 qui restent par microscopie électronique . Il est à souligner que 93% des structures disponibles dans la PDB sont des protéines .

Il est important de signaler que certaines protéines ne sont pas encore disponibles dans cette banque de données et si cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires , il devient alors possible de construire la structure 3D la de la cible souhaitée , en faisant appel à la modélisation par homologie . [28]

#### 3-2- Les ligands

Pour un docking moléculaire , le ligand doit être également sous forme 3D . Pour y obtenir, il existe deux moyens :

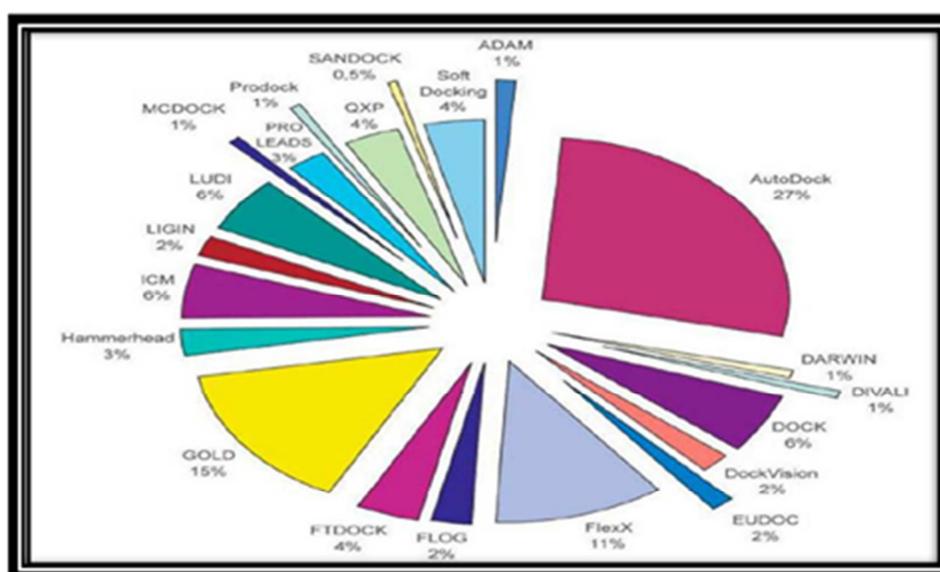
Le premier moyen consiste à utiliser des programmes de construction moléculaire 3D tels que ChemDraw , Arguslab , Titan , Marvin , Sybyl...etc. permettant de dessiner le ligand tout en minimisant son énergie afin d'optimiser sa géométrie . Le second moyen d'obtenir un ligand 3D est souvent d'aspect commercial , consistant à consulter des banques de données de ligands appelées chimiothèques . Les chimiothèques virtuelles comportent un ensemble d'informations plus ou moins organisées et hiérarchisées regroupant des données (structure, activité, propriétés physico-chimiques....) de différents ligands. Dans ce type de chimiothèques, la structure 3D de chaque composé est enregistrée dans de fichiers avec les formats SMILES, SDF, MOL2 et PDB. Parmi les chimiothèques virtuel nous citons : La chimiothèque Nationale Française, la chimiothèque, ZINC, PubChem.....etc. [29]

### 3-3- Programmes de docking moléculaire

A l'heure actuelle , il existe plus d'une trentaine de programmes de docking moléculaire commerciales ou libres . Les plus fréquemment cités sont respectivement AutoDock (27%) , Gold (15%) , FlexX (11%) , Dock (6%) ou encore IcmDocking (6%) . [30]

**Tableau 1 :** Principaux programmes de docking moléculaire

Nom	Editeur	Site Internet
AutoDock	Scripps	<a href="http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/AutoDock/">http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/AutoDock/</a>
Dock	UCSF	<a href="http://dock.compbio.ucsf.edu/">http://dock.compbio.ucsf.edu/</a>
flexX	BioSolveIT	<a href="http://www.biosolveit.de/FlexX/">http://www.biosolveit.de/FlexX/</a>
Fred	OpenEyes	<a href="http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html">http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html</a>
Glide	Schrodinger	<a href="http://www.schrodinger.com/products/glide.html">http://www.schrodinger.com/products/glide.html</a>
Gold	CCDC	<a href="http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/">http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/</a>
ICM	MolSoft	<a href="http://www.molsoft.com/products.html">http://www.molsoft.com/products.html</a>
LigandFlit	Accelrys	<a href="http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandflit.html">http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandflit.html</a>
Surflex	biopharmics	<a href="http://www.biopharmics.com/products.html">http://www.biopharmics.com/products.html</a>



**Figure N°05 :** Comparaison des programmes de docking les plus cités.

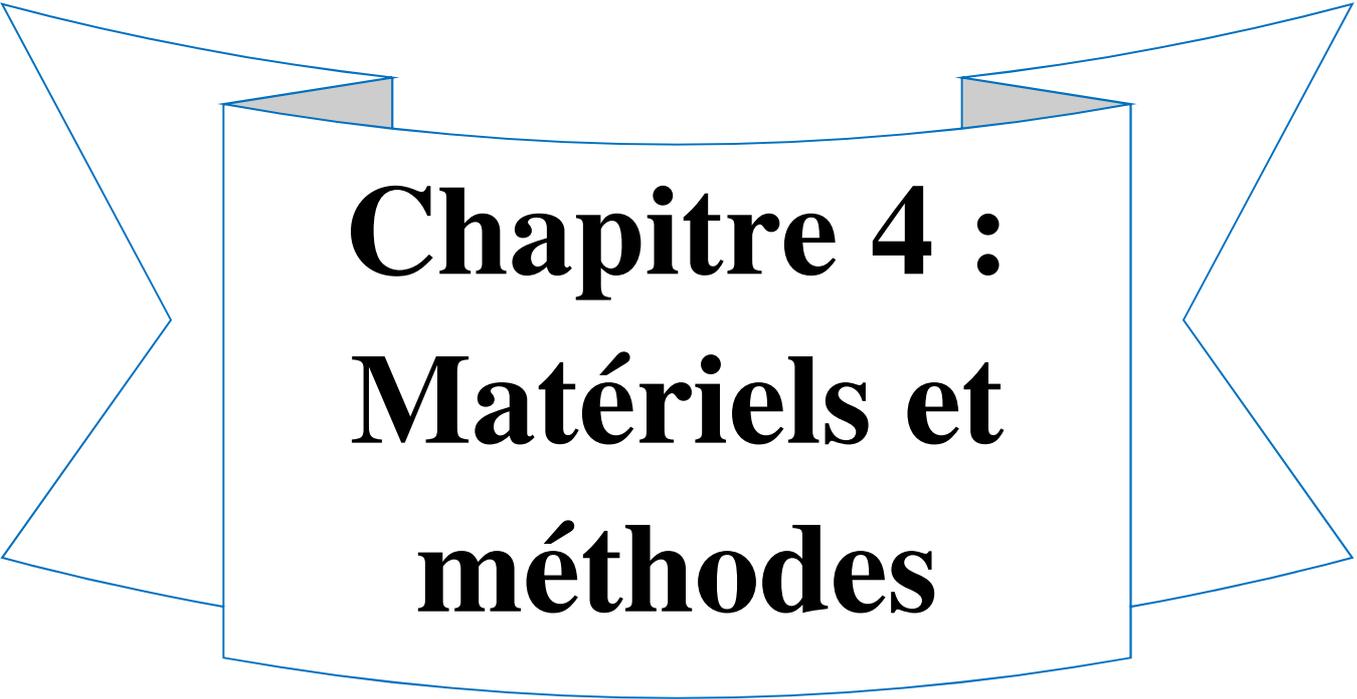
Les algorithmes de calcul génèrent aléatoirement un grand nombre d'orientation possible pour trouver « la meilleure façon d'insérer » la molécule dans une protéine (le niveau du récepteur ou du site actif [31]. Bien que ces programmes fassent le même travail (simulation des interactions protéine-ligand) , leurs algorithmes peuvent être répartis en deux grandes catégories .

### 3.3.1 Algorithme de fragmentation/reconstruction

Dans un premier temps , la molécule est découpée en parties rigides et en liaisons flexibles . Le docking commence par positionner les parties rigides du ligand qui est reconstruit par la suite de proche en proche explorant diverses conformations lors de la mise en place des liaisons flexibles . Cette approche permet un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés . Parmi les programmes de « fragmentation incrémentale » , figurent DOCK , FlexX et Surflex . Ce dernier utilise une sorte de ligand idéal composé de fragments comme NH , C=O et CH<sub>3</sub> placés par le module *protomol* pour sélectionner les poses de fragments qui formeront le plus de liaisons avec la protéine . [32]

### 3.3.2 Simulation par trajectoire

Dans cette catégorie , le ligand considéré dans son entier explore le site étudié par la répétition successive de mouvements et d'évaluations de l'interaction ligand-récepteur . Les mouvements sont effectués par des opérations de translation , de rotation et de changement de conformation et bien entendu , l'algorithme s'arrête lorsqu'il trouve la position idéale du ligand dans le récepteur . Ces techniques sont plus lentes que celles par *matching* mais prennent mieux en compte la flexibilité du ligand et permettent l'exploration de régions plus vastes . Dans cette catégorie nous pouvons citer GLIDE , GOLD et AutoDock . [33]



**Chapitre 4 :  
Matériels et  
méthodes**

### 1. Matériels

#### 1.1. Micro ordinateur

Dans cette étude , nous avons utilisé un micro-ordinateur ayant une mémoire vive de 4 Go. Tous les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 7.

#### 1.2 Programmes

Surflex v1.3 : est un des programmes de docking moléculaire les plus cités et utilisés pour simuler les interactions protéine-ligand et ce en se basant sur l'algorithme de fragmentation incrémentale . [34]

VDM 1.9.6 (*visual molecular dynamics*) a été utilisé d'un côté pour la préparation de la protéine cible et de l'autre côté pour la visualisation moléculaire . [35]

Open Babel v 2.3.0 : a été utilisé pour la conversion des formats . [36]

MS Viewer v 4.2 : a été utilisé pour la visualisation des interactions Protéine-Ligand . [37]

#### 1.3. Les banques de données

##### 1.3.1. 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 plus de 94 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 [38]

##### 1.3.2. PDB (Protein Data Banque)

Les structures 3D des différentes protéines sont disponibles et accessibles gratuitement dans la banque de données PDB. (« *Protein Data Bank* », en anglais). Il s'agit de la plus

grande archive de données structurales de macromolécules biologiques (protéines , ADN , ARN ...etc.) . Cette banque de données a été établie en 1971 et contenait à l'époque sept structures . Actuellement , la PDB compte plus de 138 000 structures dont 124 000 ont été résolues par cristallographie au rayon X , 12 000 ont été définies par RMN et 2 000 qui restent par microscopie électronique . Il est à souligner que 93% des structures disponibles dans la PDB sont des protéines . [39]

### 1.4. Le serveur molinspiration

Molinspiration offre une large gamme d'outils logiciels de chimie computationnelle permettant la manipulation et traitement des molécules , y compris le calcul des diverses propriétés moléculaires . [40]

## 2. Méthodes

### 2.1. Docking avec surflex

La réalisation de docking avec le programme surflex version 1.3 s'effectue en deux étapes complémentaires .

#### 2.1.1 Génération du protomol

Le docking avec surflex exige une première étape de préparation d'une pseudo-molécule idéale pour interagir avec la cible , communément appelée « protomol » . Cette étape s'effectue grâce à la commande suivante :

```
Surflex-dock proto inhibiteur.pdb protéine.mol2 pl
```

#### 2.1.2 docking

Le docking avec surflex nécessite des ligands sous format .pdb ou .mol2 une protéine et un protomol sous format .mol2. Cette étape s'effectue grâce à la commande suivante :

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

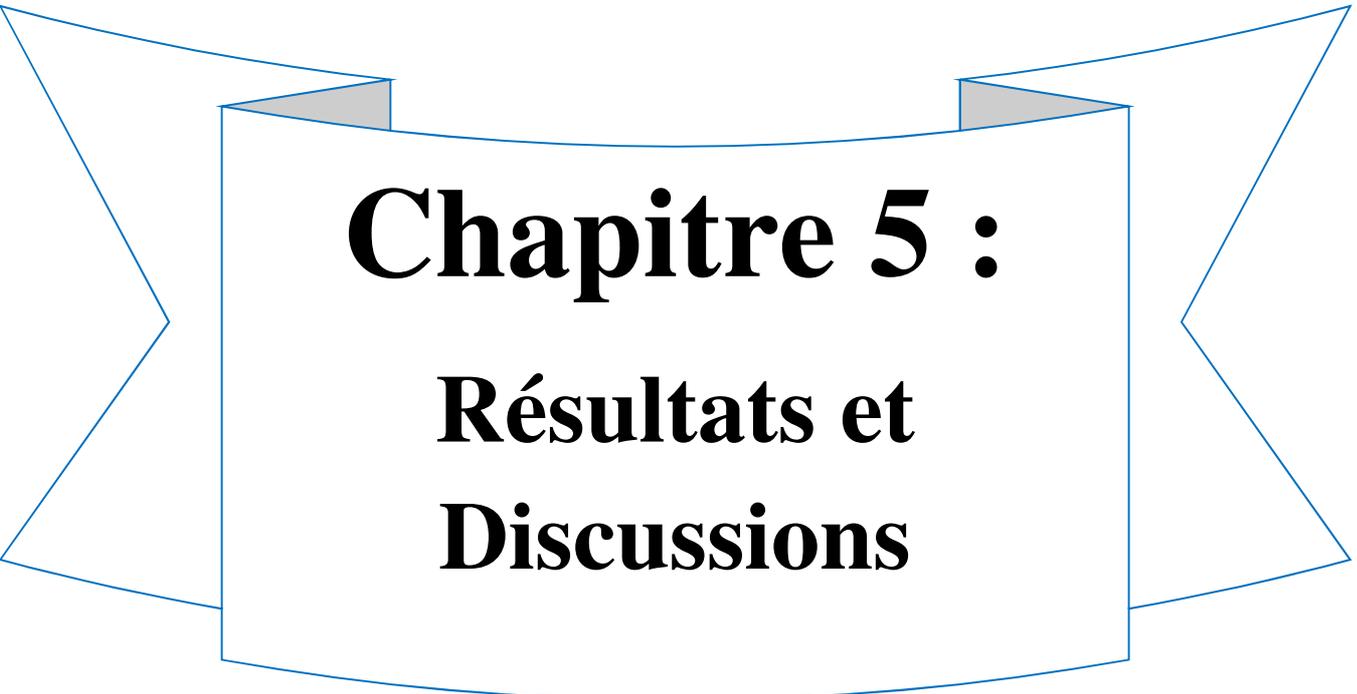
Suite au docking moléculaire, le programme surflex nous propose les 10 meilleures positions de chaque ligand dans le site actif étudié, classées à base de leur score progressivement (de final 0.mol2 jusqu'à final -9.mol2). Dans notre cas, nous avons retenu la meilleure conformation de chaque ligand (final-0) avec son score.

### 2.2. Règle de lipinski

Chaque médicament potentiel doit se conformer à plusieurs critères de base, tel son faible coût de production, être soluble, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, métabolisme, d'excrétion et de toxicité. Dans ce contexte, une règle connue sous le nom du chercheur qu'il a décrit (Lipinski) définit un ensemble de critères, au nombre de 5, permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle (2D). Les critères sont :

- Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (da)
- Le LogP doit être compris entre -2 et 5.
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être  $\leq 5$
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être  $\leq 10$
- Le nombre de liaisons flexibles doit être  $\leq 15$

Les composés dont les propriétés physico-chimiques ne satisfont pas au moins trois de ces 5 critères sont fortement susceptibles de présenter des problèmes d'absorption ou de perméabilité. [41]



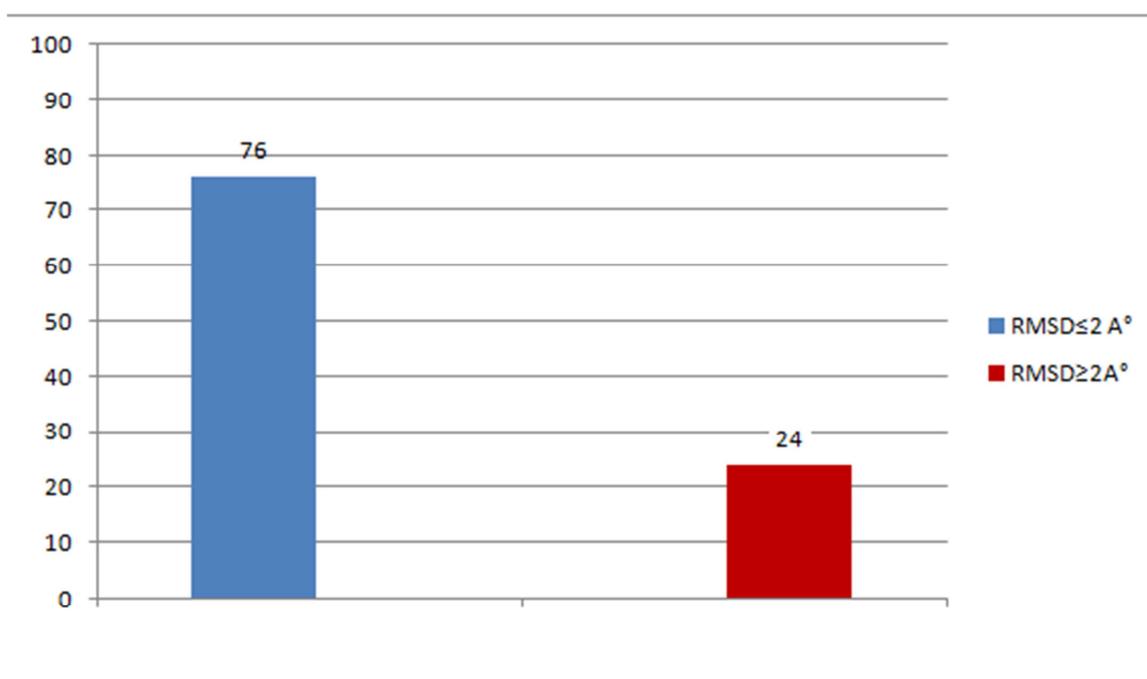
**Chapitre 5 :**  
**Résultats et**  
**Discussions**

### 1. Tests de fiabilité du programme de docking

Afin de vérifier la performance du protocole de docking moléculaire développé dans la partie « méthode » de notre travail , nous avons jugé utile d'évaluer la fiabilité du programme surflex via le test par RMSD . Ce test a été conforté par une analyse visuelle afin de confirmer davantage les résultats du RMSD obtenus .

#### 1.1 RMSD

Le test de fiabilité du programme Surflex par le RMSD , a été réalisé sur 100 complexes protéines-ligands pris de manière arbitraire de la PDB (voir annexe N 1) . Les complexes sont téléchargés sous format pdb après introduction dans la PDB le code correspondant à chaque complexe. Selon les travaux de GABB J et *al* (1997) , les résultats de simulation sont fiables si les valeurs du RMSD sont inférieures à 2 Å [42] . Les résultats du test RMSD obtenus dans notre cas sont présentés dans la figure N°6.



**Figure N°6** : Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles

Les résultats obtenus montrent que dans 76% des cas, le programme surflex donne des valeurs de RMSD dans les normes. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Teniou S (2012) [43] et Merzoug (2015) [44] révélant un taux de RMSD inférieur à 2 Å de 85,8% et de 83 % respectivement.

Nous pouvons considérer que le programme Surflex-dock comme un outil de modélisation par docking moléculaire fiable puisque il reproduit bien les complexes expérimentaux.

### 1.2 Analyse visuelle

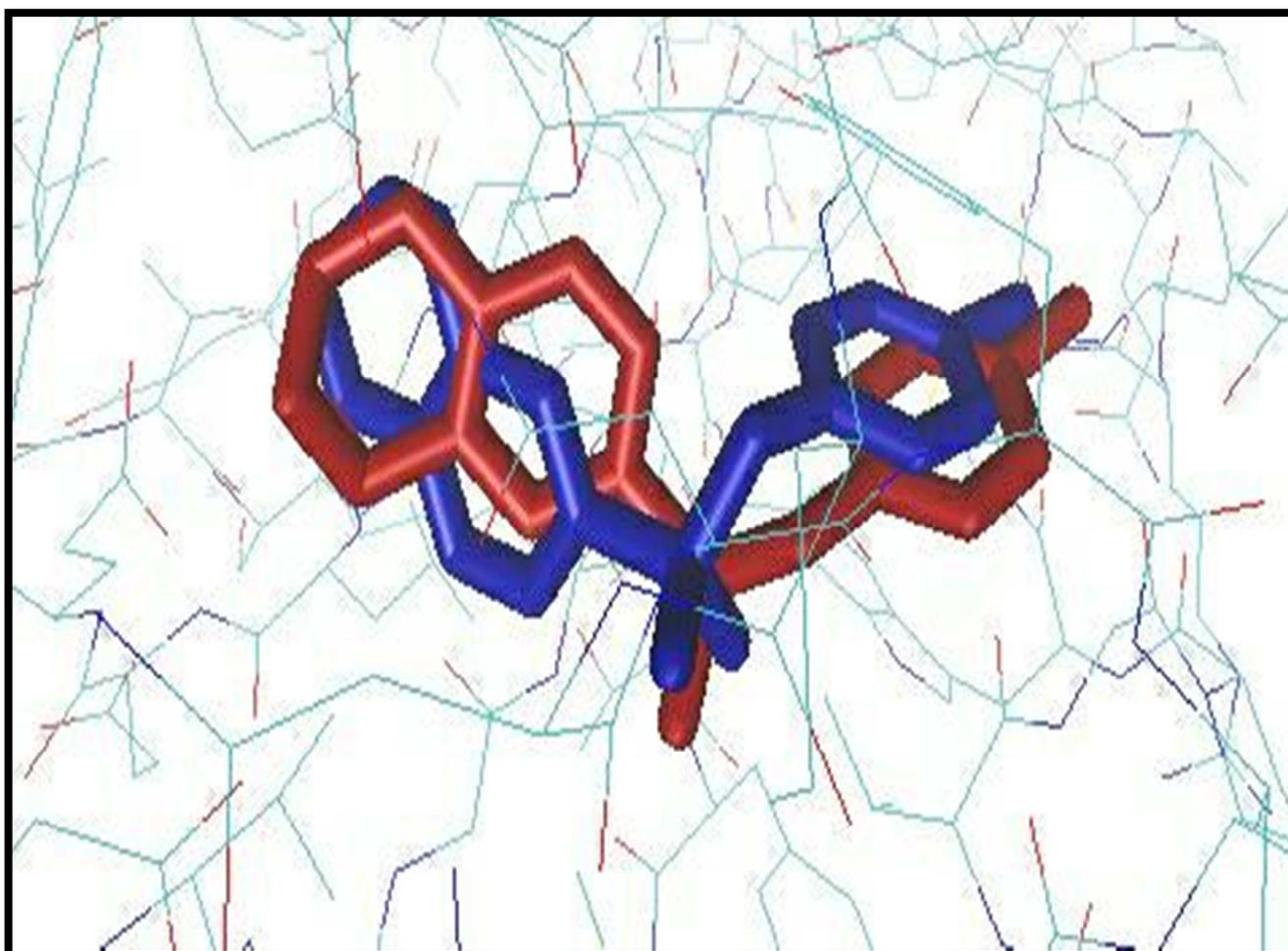
L'analyse visuelle faisant suite au test RMSD est aussi une étape essentielle pour vérifier d'avantage la performance du programme Surflex. Elle permet de visualiser les résultats décrits par la valeur numérique RMSD. Dans notre cas, l'analyse visuelle a été réalisée sur deux complexes disponibles dans la PDB. Le RMSD obtenu avec le premier complexe (2ONZ) était inférieur à 2 Å alors que le deuxième (2G70) était supérieur à cette valeur seuil (voir tableau N°2).

**Tableau N°2:** Valeurs de RMSD des deux complexes étudiés.

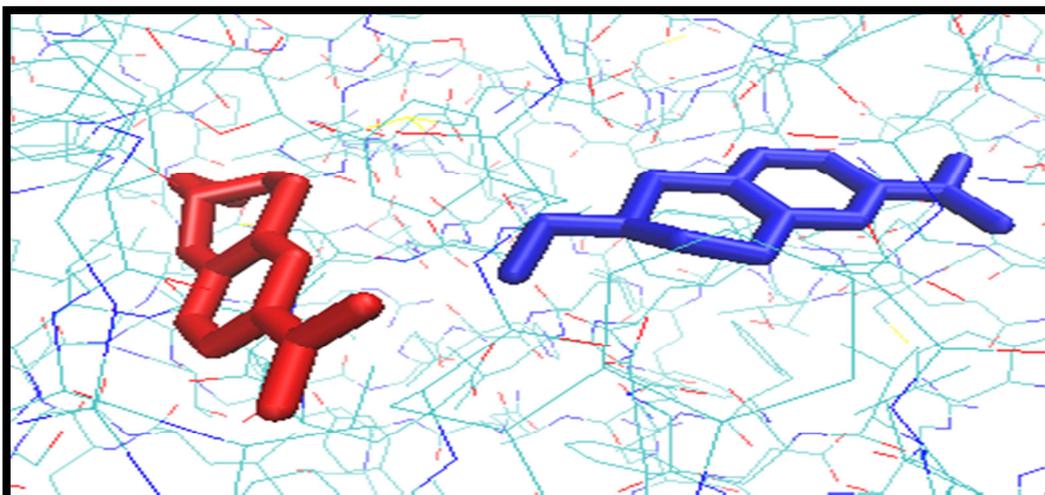
	Codes PDB	Codes des ligands	RMSD (Å)
Complexe 1	2ONZ	TMJ	0.99
Complexe 2	2G70	HNT	7.84

Dans le cas du complexe 2ONZ, l'analyse visuelle montre une superposition entre la pose du ligand TMJ simulée par surflex (colorée en bleu ) et celle de référence (colorée en rouge ) déterminée expérimentalement par cristallographie qu'on trouve dans la PDB (voir figure N°7).

Dans le cas du complexe 2G70 pour lequel nous avons obtenu une valeur de RMSD dépassant le seuil de 2Å, l'analyse visuelle montre que la pose du ligand HNT simulée par surflex et mal placée dans le site actif de la DHFR en ne présentant aucune superposition avec celle de référence obtenue de la PDB (Figure N°8).



**Figure N°7:** Représentation du positionnement de la pose du ligand TMJ simulée par surflex (colorée en bleu) et celle de référence (colorée en rouge ) du premier complexe 2ONZ .



**Figure N°8 :** Représentation du positionnement de la pose du ligand HNT simulée par surflex (colorée en bleu) et celle de référence (colorée en rouge) du deuxième complexe 2G70 dans le site actif de la DHFR.

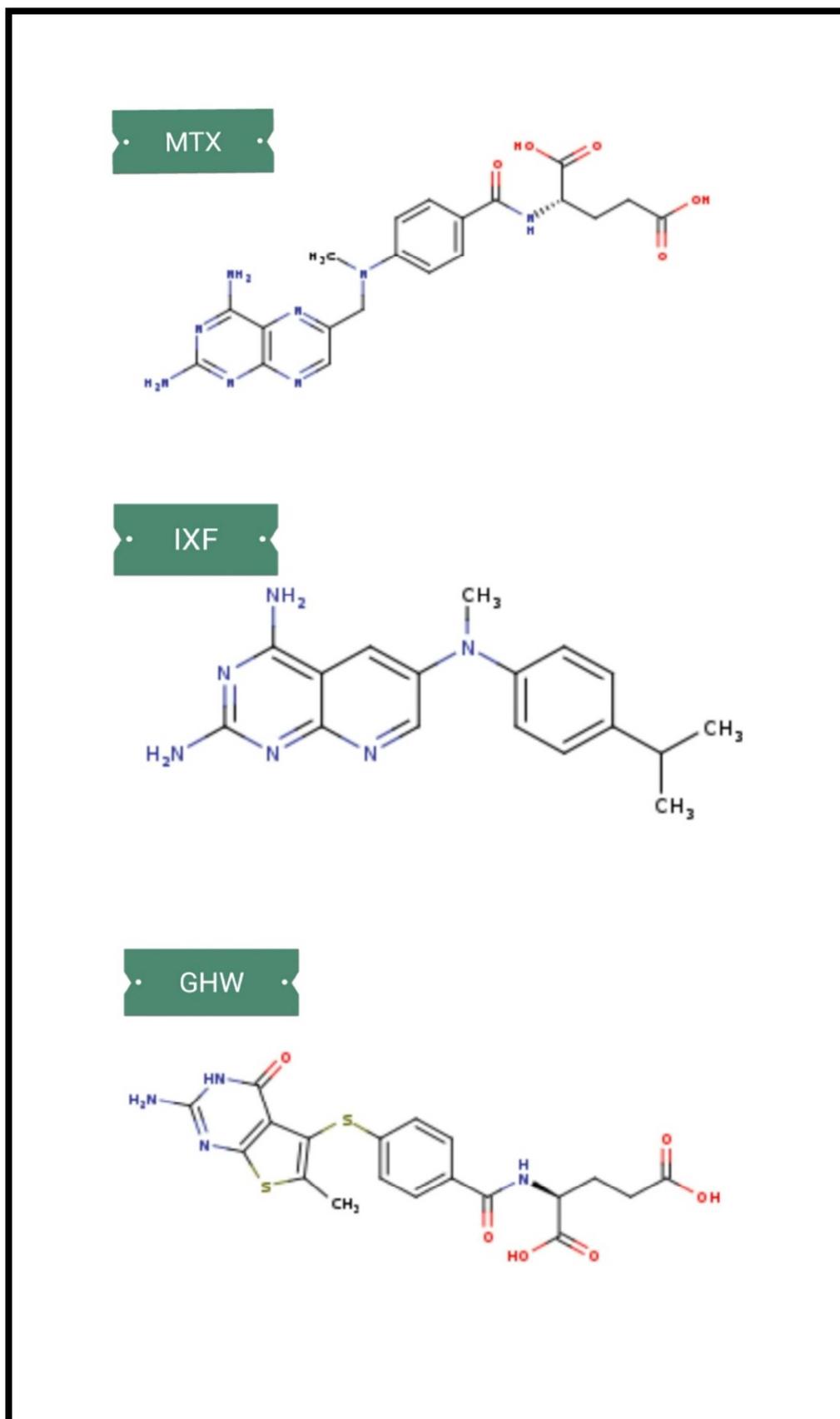
A la lumière des résultats obtenus avec le test de RMSD suivi par une analyse visuelle, le programme surflex est suffisamment performant puisqu'il reproduit assez bien les résultats expérimentaux. Nous pouvons donc utiliser ce programme, sans trop de risque d'erreurs pour simuler la formation des complexes DHFR-inhibiteurs.

## 2. Etude des interactions DHFR-inhibiteurs par Surflex-dock

Les inhibiteurs de la DHFR sont de petites molécules appartenant à plusieurs familles chimiques inhibant sélectivement l'enzyme. Avec leur faibles valeurs d'IC<sub>50</sub> [45] (allant jusqu'à l'ordre nanomolaire), les composés MTX, IXF et GHW se présentent comme les meilleurs inhibiteurs de la DHFR connus jusque là [46] [47] [48] (voir tableau N°3 et figure N°9)

**Tableau N°3 :** Les 3 inhibiteurs étudiés avec leurs RMSD et IC<sub>50</sub>.

Inhibiteur	Codes PDB	Ligands	IC <sub>50</sub> (nM)	RMSD	Final 0
Composé1	1DLS	MTX	1500	1.03	0.32
Composé2	4QHV	IXF	52	0.46	3.14
Composé3	3GHW	GHW	70	3.17	0.96

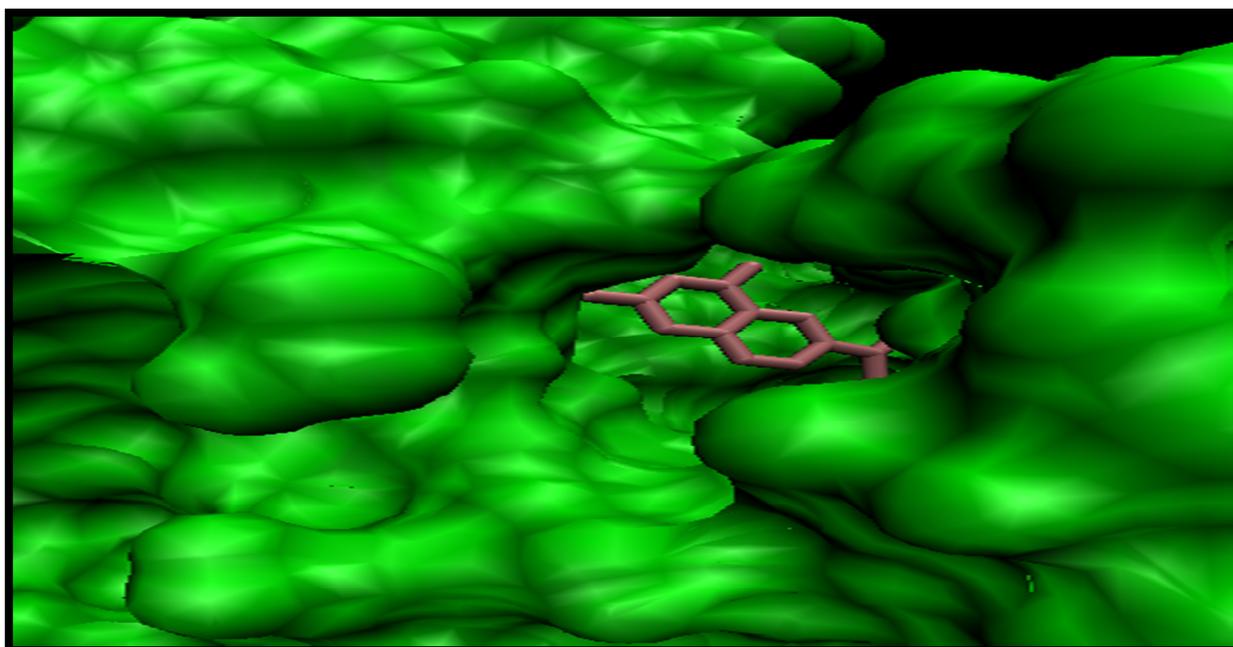


**Figure N° 9:** Structure chimique des composés MTX, IXF et GHW.

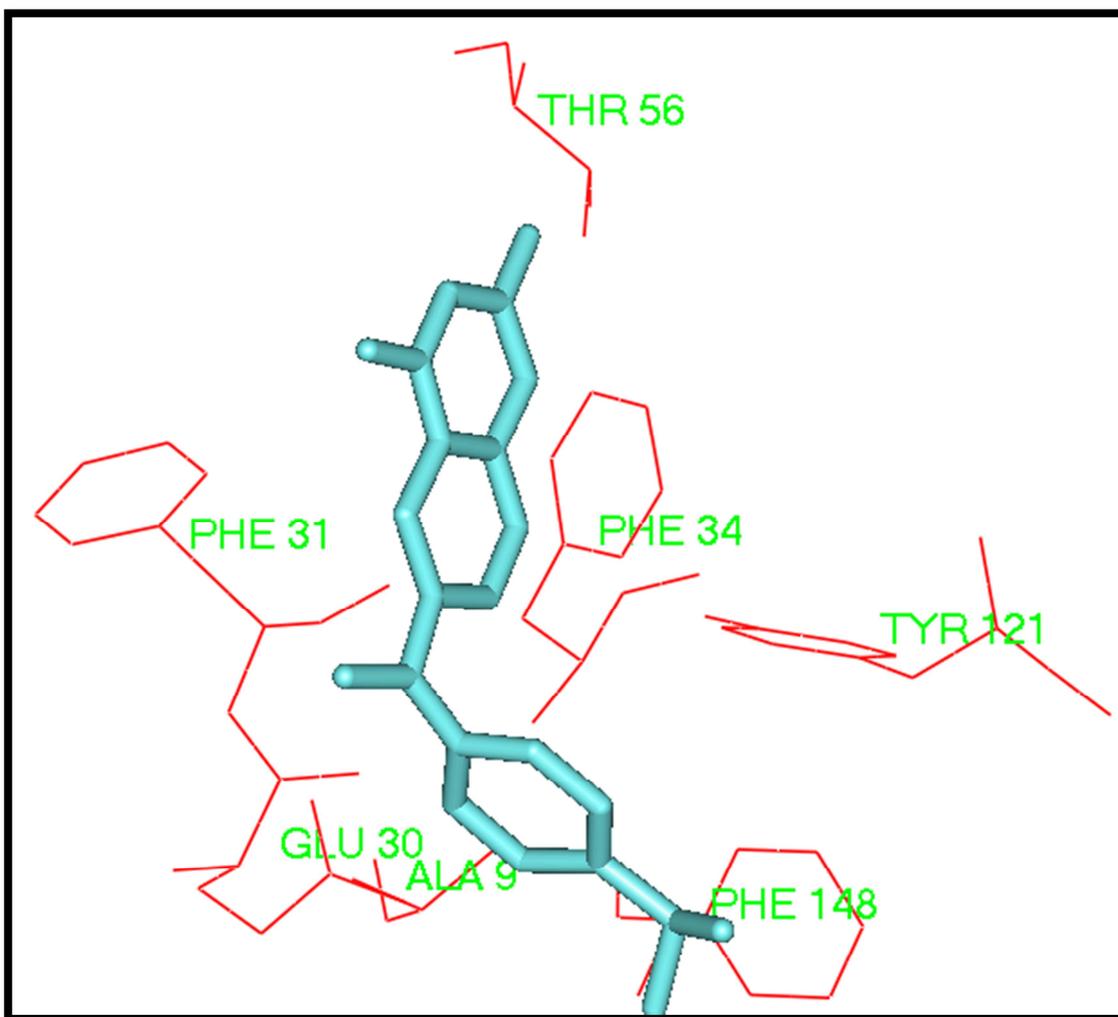
Le tableau N° 3 montre que le composé IXF se présente comme meilleur inhibiteur de la DHFR. En regard des publications énoncées ci-dessus, aucune référence bibliographique ne fait état sur son mode d'interaction envers la cible. Grâce au programme surflex, nous avons pu simuler la formation du complexe IXF-DHFR afin d'étudier les mécanismes mis en jeu dans l'interaction entre ces molécules. Le programme Viewerlite nous a aidé à visualiser et analyser le nombre et le type de liaisons formant ce complexe.

### 2.1 Etude des interactions DHFR-IXF (complexe 4QHV)

La reconstruction du complexe des complexes 4QHV, 1DLS et 3GHW montre que le composé IXF se présente comme meilleur inhibiteur de la DHFR avec un score égal à 3.14. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus expérimentalement (voir le tableau N°3). Pour ne prendre que l'exemple du complexe 4QHV, l'analyse visuelle montre un bon positionnement du composé IXF dans la cavité catalytique de l'enzyme (voir figure N°10). Cependant, aucune liaison hydrogène n'a été formée lors de la formation de ce complexe. Comme le montre la figure N°11, le composé IXF est stabilisé au sein du site actif de la DHFR par des interactions hydrophobiques impliquant les résidus Phe34, Tyr121, Glu30, Phe148, Ala9, Phe31 et Thr56.



**Figure N°10:** Représentation du positionnement du composé IXF dans le site actif de la DHFR.



**Figure N°11:** Mode d'interaction du composé IXF dans le site actif de la DHFR.

### **3. Conception de nouveaux inhibiteurs de la DHFR**

Dans l'espoir de proposer de nouveaux inhibiteurs de la DHFR plus puissants que le composé IXF, nous avons testé par docking moléculaire l'activité inhibitrice d'une collection de similaires chimiques, en partant de la structure du composé IXF. Il est à signaler que les molécules de la collection à tester ont été obtenues via la banque de données *PubChem*. (banque de données américaine de molécules chimiques gratuitement accessibles *via* Internet) (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

### 3.1. Criblage virtuel d'une collection des similaires du composé IXF :

En prenant comme structure de départ le composé IXF, la *PubChem* nous propose 298 similaires avec un taux de similarité allant jusqu'au 95%. Le docking moléculaire de ces composés envers le site actif de la DHFR fait ressortir 118 composés présentant un score supérieur à 3.14 ; score du composé de départ. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N°4.

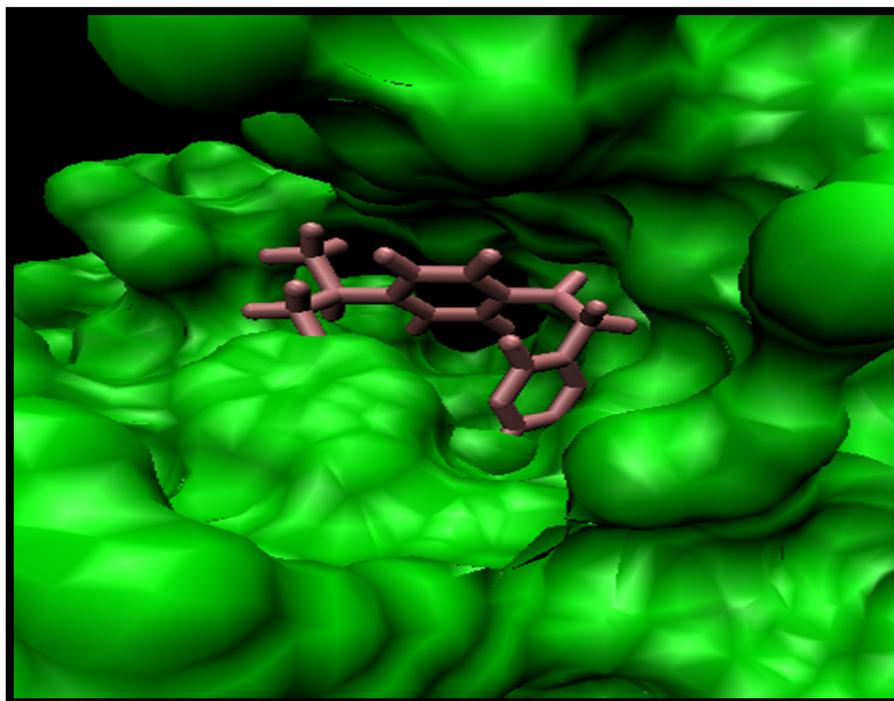
**Tableau N°4 :** Numéro d'accèsion et score des meilleurs inhibiteurs obtenus suite au docking moléculaire de la collection de similaires du composé IXF.

Composé	Numéro d'accèsion	Score
Composé1	CID-68341284	6.59
Composé2	CID-71113697	6
Composé3	CID-10236571	5.92
Composé4	CID-22540050	5.86
Composé5	CID-23323044	5.83
Composé6	CID-22539952	5.76
Composé7	CID-479419	5.74
Composé8	CID-20375602	5.39
Composé9	CID-22540128	5.26
Composé10	CID-130255519	5.21
Composé11	CID-479423	5.18
Composé12	CID-472906	5.15
Composé13	CID-71681191	5.12
Composé14	CID-68624723	5.02
Composé15	CID-71681031	4.98

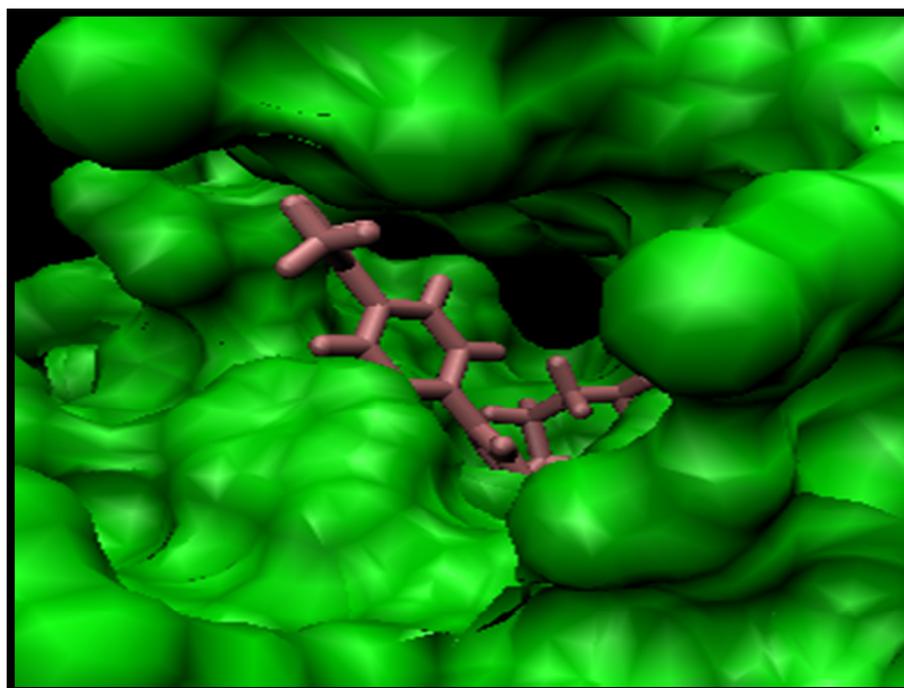
### 3.2 Etude des interactions des composés 1 et 2 envers la DHFR

Avec des scores respectives de 6.59 et 6 les composés 1 et 2 se présentent comme meilleurs inhibiteurs de la DHFR obtenus à l'issu du criblage virtuel effectué. L'analyse

visuelle montre que ces composés sont bien positionnés dans la cavité de la DHFR (figures N° 12 et 13).

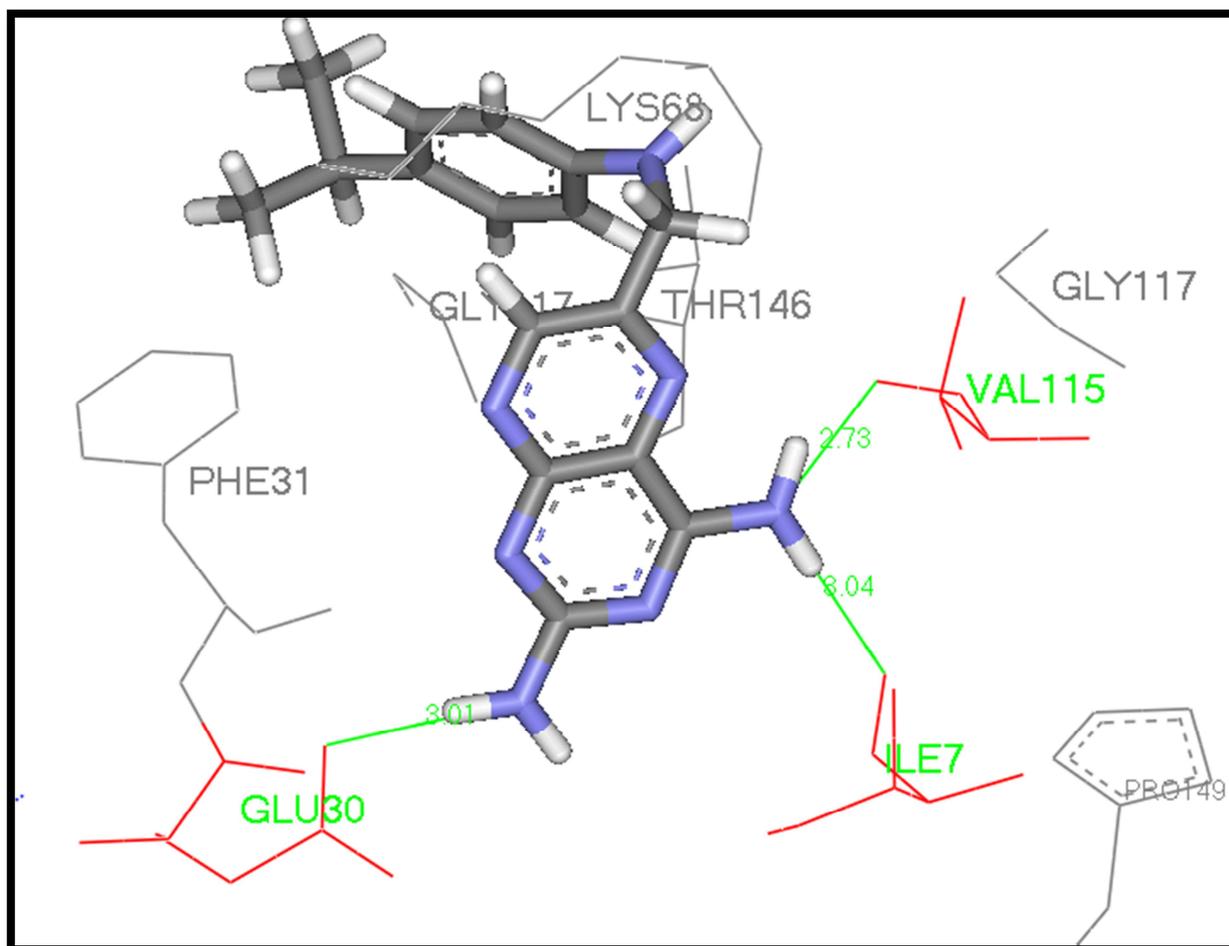


**Figure N° 12:** Illustration du positionnement du composé **1** dans le site actif de la DHFR .



**Figure N°13 :** Illustration du positionnement du composé **2** dans le site actif de la DHFR.

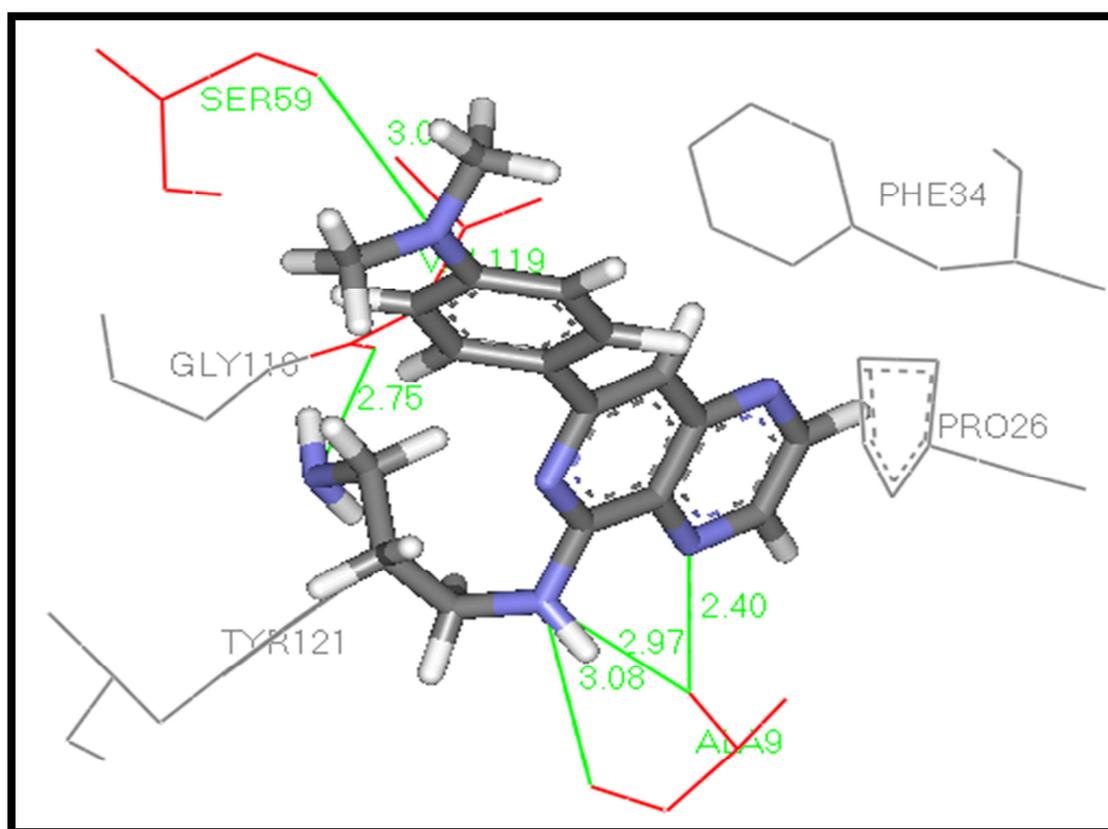
Le score élevé de 6.59 obtenu avec le composé **1** peut être expliqué par la mise en place de 3 ponts hydrogène avec le site actif de la DHFR (figure N°14). Le premier est observé entre l'azote 6 du ligand et l'oxygène 11 de la fonction carboxylique du résidu Val115, avec une distance de 2.73 Å (Val115-COO...NH=ligand). Le deuxième pont hydrogène de distance 3.04 Å est constaté entre le N6 du composé et l'oxygène 43 du résidu Ile7 (Ile7-COO...HN=ligand). Le dernier pont hydrogène est formé entre le N7 de l'inhibiteur et l'oxygène du résidu Val115 séparées par une distance de 3.01 Å (Val115-COO...NH=ligand). Enfin Le complexe DHFR-composé **1** est stabilisé également par de nombreuses interactions hydrophobiques formées précisément avec les résidus Phe31, Gly117, Pro149, Lys68, Gly17 et Thr146.



**Figure N°14:** Mode d'interaction du similaire **1** dans le site actif de la DHFR

De son côté, le composé **2** inhibe sélectivement la DHFR en formant 5 liaisons hydrogène avec son site actif (Figure N°15). Les deux premières sont constatées entre la fonction amine de l'inhibiteur et l'oxygène du résidu Ala9 (distance=3.08 Å)(Ala9-NH...COO-lig) d'une part et l'azote du même résidu de l'autre part (distance = 2.97 Å). Ce dernier atome du même résidu est également impliqué dans la formation d'une troisième liaison hydrogène avec l'azote du cycle de l'inhibiteur (distance = 2.40 Å). La quatrième liaison hydrogène fait intervenir la deuxième fonction amine de l'inhibiteur et l'oxygène du résidu Val115 (distance = 2.75 Å)(Val115-HN...COO-lig). Le dernier pont est constaté entre l'azote de l'inhibiteur et l'oxygène du résidu Ser59 .

Il est à signaler que le potentiel inhibiteur de ce composé est dû également à de nombreuses interactions hydrophobiques formées pour stabiliser ce complexe précisément avec les résidus Pro26, Phe34, Gly116 et Tyr121



**Figure N° 15:** Mode d'interaction du similaire **2** dans le site actif de la DHFR .

### 3.3 La règle de Lipinski

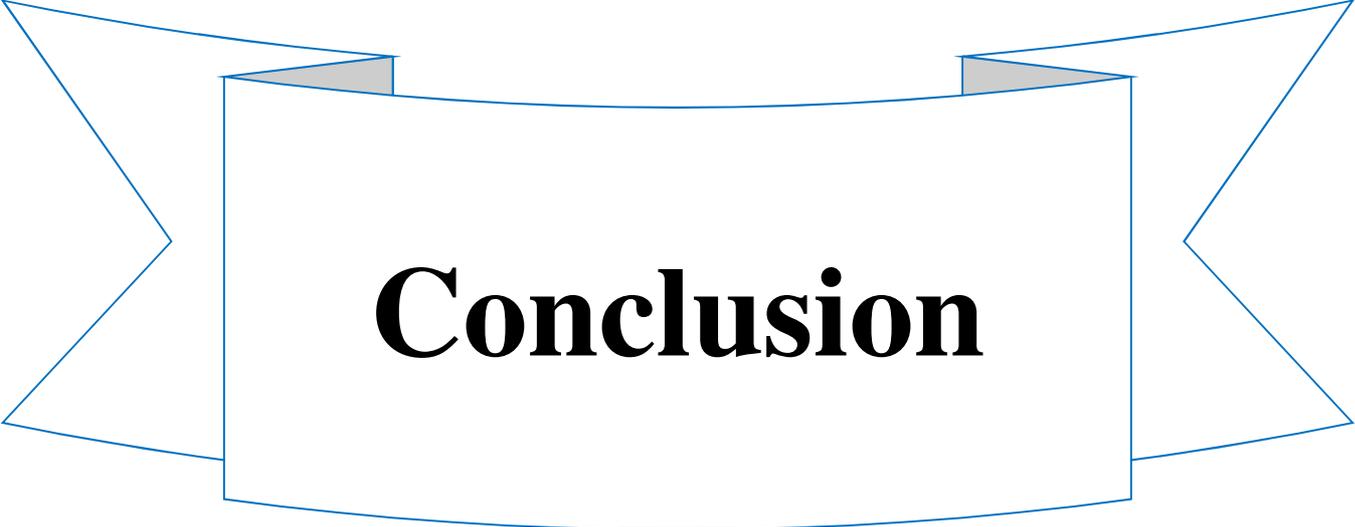
Dans le but de vérifier la biodisponibilité par voie orale des deux meilleurs similaires sortis du criblage virtuel de cette collection, nous avons fait appel à la règle de Lipinski. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau N°5.

**Tableau N°5 :** Critères de la règle de Lipinski des deux meilleurs composés obtenus suite au criblage de la collection des similaires du 4QHV.

Ligand	PM	LogP	natoms	nON	nOHNH	nrotb
<b>CID-68341284</b>	322.42	1.69	24	6	3	6
<b>CID-71113697</b>	309.38	2.54	23	7	5	4

**PM :** Poids moléculaire , **LogP :** Coefficient de partage octanome/Eau , **nON :** Accepteur de liaisons H , **nOHNH :** Donneurs de liaisons H , **nrotb :** nombre de liaisons rotatives.

Rappelons que tout composé ne validant pas au moins 3 de ces 5 critères est susceptible de poser des problèmes d'absorption par voie orale. Dans notre cas, les composés **1** et **2** valident parfaitement cette règle. Nous pouvons conclure que ces composés sont capables d'inhiber la DHFR sans poser des problèmes d'absorption par voie orale.



# **Conclusion**

## Conclusion

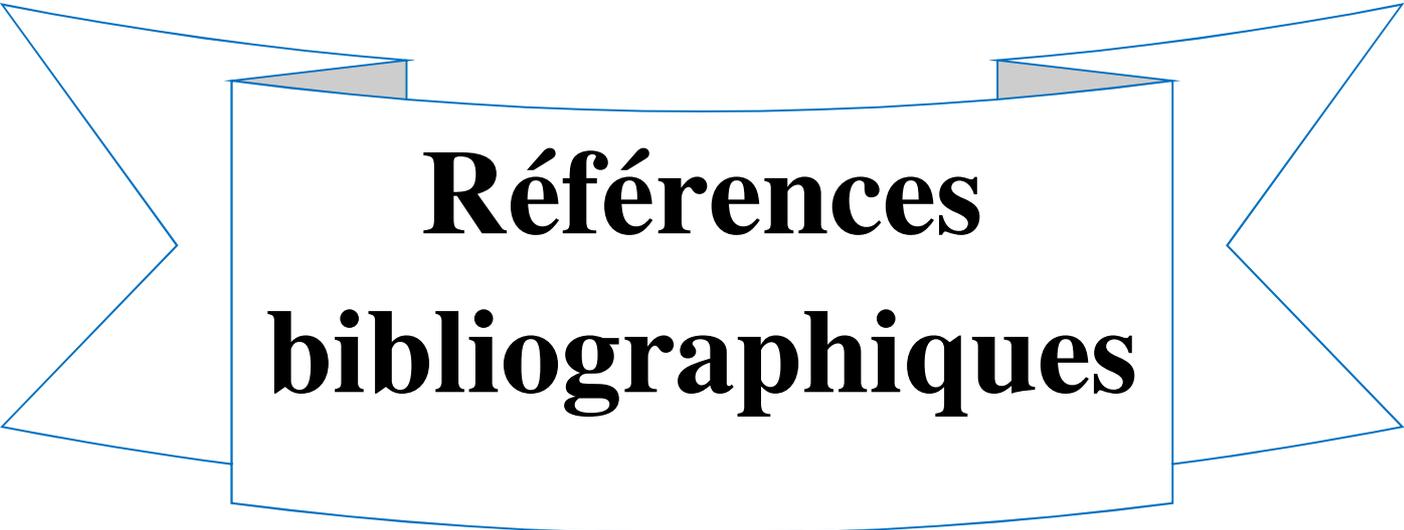
Notre travail de master axé sur le docking moléculaire avec Surflex, avait pour but essentiel de développer *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la DHFR, cible thérapeutique validée pour le traitement du paludisme.

Dans un premier temps, nous avons testé la performance du programme Surflex afin de déterminer s'il était bien adapté à cette problématique par deux tests. Le premier test consiste à calculer le RMSD (*Root mean Square deviation*) pour mieux juger la déviation de la géométrie du ligand simulée par Surflex avec celle déterminée expérimentalement, et le deuxième test par le biais de l'analyse visuelle des résultats obtenus suite au premier test. En effet, sur les 100 complexes pris arbitrairement de la PDB, 76% ont présenté un RMSD parfaitement dans les normes (inférieur à 2 Å). De plus, l'analyse visuelle montre une bonne superposition des ligands simulés et expérimentaux. Ces tests prouvent la fiabilité du programme Surflex qui peut être utilisé sans trop de risques d'erreurs pour simuler les interactions DHFR-inhibiteurs, objet de notre étude.

Dans un deuxième temps, la reconstruction de 3 complexes DHFR-inhibiteurs (1DLS, 4QHV et 3GHW) par docking moléculaire permet d'étudier les mécanismes d'inhibition mises en jeu tout en évaluant les affinités. Suite à cette étude, il ressort que le composé IXF du complexe 4QHV se présente comme meilleur inhibiteur de la DHFR avec un score égal à 3.14.

Dans un troisième temps, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs de la DHFR davantage plus puissants et ce en faisant appel au criblage virtuel d'une collection de molécules issues de la PubChem. Ce criblage mené sur 298 molécules similaires du composé IXF a révélé les composés **1** et **2** comme nouveaux inhibiteurs de la DHFR avec des scores respectifs de 6.59 et 6. La visualisation des résultats du docking obtenus nous montre un bon positionnement de ces composés au sein de la cavité catalytique de l'enzyme étudiée.

Enfin, l'application de la règle de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADME des composés **1** et **2** qui se présentent comme nouveaux inhibiteurs théoriquement plus affinés et plus sélectifs envers la DHFR. Ces résultats restent théoriques et initiaux. Il convient dans les perspectives d'avenir de vérifier ces résultats en réalisant des études expérimentales complémentaires *in vitro et/ou in vivo*.



**Références  
bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

- [1] conception d'un nouveau médicament [En ligne] <https://www.doc-etudiant.fr/Sciences/Pharmacie/Expose-Conception-dun-nouveau-medicament-379410.html>. Consulté le : [17/03/2018].
- [2] Congreve M., Murray C., Blundell T. Keynote review: Structural biology and drug discovery. *Journal Drug Discovery Today*. 2005; **10** : 895-907
- [3] A. Gros didier , Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives, thèse de doctorat, université Joseph Fourier, Grenoble, 2007
- [4] Matthews D., Bolin J ., Burridge T ., Filman D ., Volz K ., Kraut J . Dihydrofolate reductase.The stereochemistry of inhibitor selectivity. *Journal of Biological chemistry* . 1985 ; **260** : 392-399.
- [5] la maladie du paludisme. [En ligne] <http://www.info-pharma.org/paludisme/>. Consulté le : [05/03/2018].
- [6]Transmission du paludisme. [ En Ligne ]. <http://www.medecine.ch>. Consulté le : [20/04/2018].
- [7]Espèces de parasites. [En ligne]. <http://actu.org> (association des collectivités territoriales et établissements publics utilisateurs) .Consulté le : [02/03/2018].
- [8] états du paludisme. [En ligne]. <https://www.google.com/search?ie=UTF-8&client=ms-android-hms-tmobile-us&source=android-browser&q=http%3A%2F%2Fwww.canalvie.com>. Consulté le : [18/04/2018].
- [9] Epidémiologie. [En ligne]. <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/malaria> Consulté le : [02/03/2018].
- [10] Berhoun.H , Etudes mathématiques d'un modèle du paludisme ,mémoire de master de l université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid faculté des sciences 2016 /2017 .p60
- [11] statistique malaria. [En ligne]. <http://www.aps.dz/sante-science-technologie>. Consulté le : [25/03/2018].
- [12] traitement du malaria. [En ligne]. <https://www.sante-sur-le-net.com>. Consulté le : [23/05/2018].

## Références bibliographiques

---

- [13] Djamam A, thèse de doctorat, Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. 2002. 95 p.
- [14] Mann J ., Takashi S ., Ustin D ., Maria H ., Arthur W . Intronless human dihydrofolate reductase genes are derived from processed RN molecules . *Journal Proceeding of the National Academy of Science* . 1992 ; **79** : 7435 - 7439
- [15] Jie Z ., Yong Q ., Robert C . A study of the binding of NADP coenzymes to dihydrofolate reductase by raman difference spectroscopy . *Journal Federation of European Biochemical Societies* . 1993 ; **215** . 9-16
- [16] Ajinky R ., Tapale S . A study on dihydrofolate reductase . *Journal International des sciences pharmaceutiques et de la recherche* . 2013 ; **11** : 2535 - 2547
- [17] Davies J ., Delcamp T., Prendergast N. , Ashford V., Freisheim J. Crystal structures of recombinant human dihydrofolate reductase . *Journal Biochemistry* . 1990 : **174** : 377 – 385
- [18] Hongchao W., Chen Z ., Feng J ., Liu Y ., Qin Y ., Chen H ., Zhennan G . Role of dihydrofolate reductase in the tetrahydrobiopterin biosynthesis and lipid metabolism . *Journal Microbiologie* . 2016 ; **162** : 1544 - 1553
- [19] Peter L., Cummins ., Jill E. Site et voies de protonation du substrat et du site actif les plus probables du point de vue énergétique dont le mécanisme catalytique de la dihydrofolate reductase . *Journal de l'American Chemical Society* . 2001 ; **123** : 3418 - 3428
- [20] Jordan V., Mutagénèse Semi – Aléatoire au site Actif de la DHFR humaine et caractérisation de variantes hautement résistantes au MTX , thèse de doctorat Université de Montréal . Département de biologie Faculté de médecine . 2008 . P 12
- [21] Dominic . B , Découverte d'inhibiteurs de la dihydrofolate reductase impliquée dans la résistance au triméthoprim , mémoire de maîtrise Université de Montréal faculté de médecine . 2012 , p 21-22
- [22] Queener S ., Coby J ., Torkinson P ., Kongjee A . Trimethoprim resistance of dihydrofolate reductase variants from clinical isolates . *Journal anti microb agents chemiother* . 2013 ; **57** : 4990 - 4998
- [23] Nfor E ., Mbacham W ., Njifutie N ., Mbuli I ., Tawe B ., Masumbe N ., Venyoka A . Evaluation de la Chimiorésistance à la Sulfadoxine pyriméthamine et des mutations des gènes

dihydrofolate reductase et dihydropteroate synthetase dans le district de santé . *african journal of science and technology* . 2007 ; **8** : 52 - 55

[24] Jacques J ., Kenneth H ., Gregory A ., Neil J ., Bruce A . Pharmacologie et utilisation clinique du Methotroxate . *New England Journal of Medecine* . 1983 ; **309** : 1094 – 1104

[25] Olga S ., Debasich C ., Norbert S . Structures of dihydrofolate reductase – thymidilate synthase of trypanosoma in complex with two antolate drugs , trimatrexate . *Journal Biological Crystallography* . 2009 ; **65** : 704 - 716

[26] Bravo J , Développement and validation of target – Based Drug Desing these de Doctorat Université Genève faculté des sciences , 2009 . p1

[27] Alexandre . B , Développement et validation de plateforme de criblage VSM\_G Mémoire de master Université Henri Poincaré Nancy France , 2008 . p44

[28] Mokrani E.H . contribution a l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de les dipeptidyl- peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique thèse de magister biochimique . Technologie des explorations biochimique Constantine Université Mantouri Constantine Algérie . 2012 p75

[29] Judith . k, Drug desing in silico criblage virtuel de protéines a visee therapeutique . thèse de doctorat Université de Bordeaux faculté des sciences chimiques . 2011 , p43

[30] Sousa S ., Femandes P ., Ramos M . Protein ligand docking . *Journal current starus and future challenges proteins* . 2006 ; **65** : 15 – 26 .

[31] Taylor R .; Jewsbury P., Essex J. A review of protein- small molecule docking methods . *Journal Comput Aided Molecule* . 2002 ; **16** : 151- 166

[32] Mahdjoub . Y , Développement d'une application distribuée en utilisant la plateforme Jini « Application docking moléculaire » thèse de Magister Université des Sciences et des Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf , 2008 . p13

[ 33] Francois . M., Développement d'une nouvelle méthode de docking basé sur les mécanisme enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques . thèse de doctorat d'université de Paris sud faculté de chimie. 2014 , p32-40

## Références bibliographiques

---

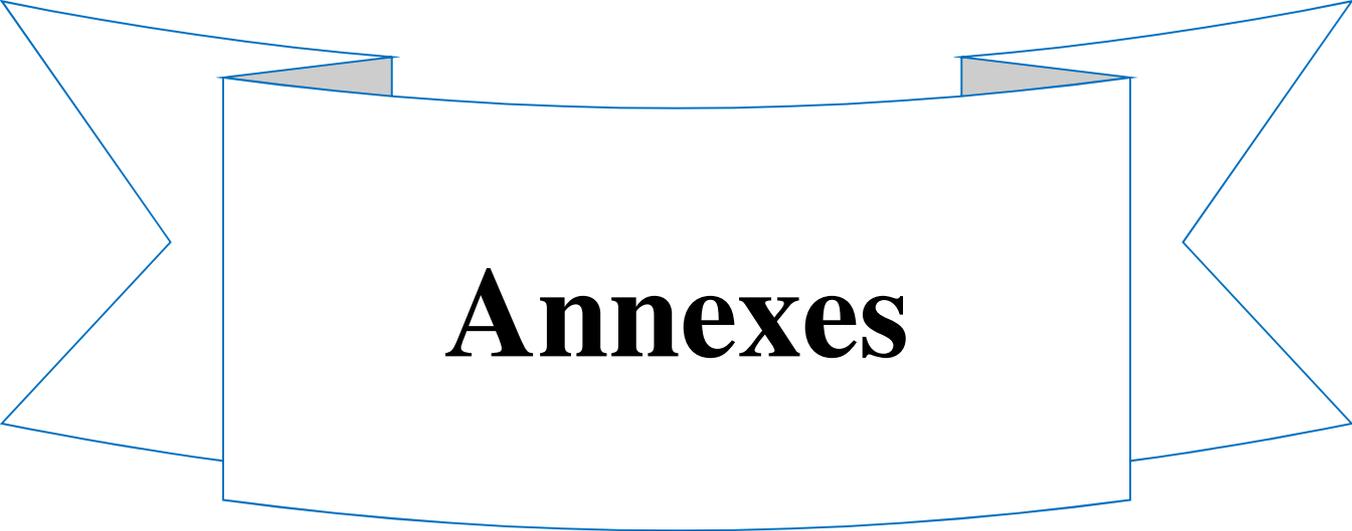
- [34] Jain . AN . Surflex: fully automatic flexible molecular docking using a molecular similarity-based search engine. *Journal Medicinal Chemistry* . 2003 ;**46** : 499-511.
- [35] Humphrey W., Dalke A ., Schulten K . VMD-visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphic Model*. 1996 ; **14** : 33-38.
- [36] Openbabel. [En ligne] <http://openbabel.org>.
- [37] Viewerlite4.2. [En ligne] <http://viewerlite.software.informer.com/4.2/>.
- [38] Centre National de la Recherche Scientifique . PubChem . [En ligne] <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> . consulté le : [28 /04/2018]
- [39] RCSB PDB. RCSB PDB statistics. [En ligne] [http://www.pdb.org/pdb/static.do?p=general\\_information/pdb\\_statistics/index.html](http://www.pdb.org/pdb/static.do?p=general_information/pdb_statistics/index.html). consulté le [28 /04/2018]
- [40] calculation of moléculaire propertés . Molinspiration [ en ligne] [http://www.Molinspiration .com](http://www.Molinspiration.com) .
- [41] Lipinski C.A ., Lambardo F ., Domini B ., Feney P . Experimental and competitionnal approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development setting . *Journal advanced drug delivery Reviews* . 1997 ; **23** : 03 – 25
- [42] Gabb J., Jackson R. M., Sternberg M. J. E. Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *Journal of Molecular Biology*. 1997; **272**: 106-120
- [43] 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.
- [44] Merzoug A ., Mermoum S ., Khaled S ., Chikhi A ., Bensegueni A ., Boucherit H. Theoretical Study of the Interactions Involved in the Inhibition of Staphylococcus aureus Peptide Deformylase by GSK1322322 Derivatives . *Journal Academica* . 2015 ; **5** : 16-29.
- [45] External Ligand Annotations. [En ligne] <http://www.pdb.org/> consulté le [28 /04/2018]
- [46] Louis W ., Cody V . ; Galitsky N ., Luft J ., Pongborn W ., Chunduru S . Methorexate – resistant variants of human dihydrofolate reductase .*Journal of biological chemistry*.1995 ; **270** : 5057-5064

## Références bibliographiques

---

[47] Cody V, Pace J, Namjoshi O., Gangjee A . Structure – Activity correlations for three Pyrido . *Journal of Acta Crystallographica section F*. 2015 ; **71** :799-803.

[48] Gangjee A ., Li W., Kisliuk R ., Cody V., Pace J ., Piraino J., Makin J . Design , synthesis and X – Ray cristal structure . *Journal of Medicvinal Chemistry*. 2009 ; **52** : 4892-4902



# **Annexes**

## Annexe 1 : Tableau RMSD de 100 complexes

Codes pdb	Ligands	RMSD
1DLS	MTX	0.32
4QHV	IXF	3.14
1U72	MTX	0.69
3GHW	GHW	0.96
1A9M	UOA	1.861
1NSD	NAG	5.09
1EC3	MS3	1.641
36I4	K60	1.004
1EKD	I84	0.61
1ENE	E20	0.79
2RH1	CAV	0.63
2X52	GYT	1.89
3IRX	NDR	1.97
3CLD	GW6	1.32
1DX6	GNT	0.78
1A4Q	DPC	1.53
20NZ	TMJ	0.99
2Y03	CL	0.75
4GQR	MYC	1.90
1RL4	BL5	0.92
1EUS	DAN	0.83
3EYK	EYIC	1.95
3LAM	KRP	1.75
1GZM	C8E	1.23
4PAX	NU1	0.63
1EP4	S11	1.53
1WS1	BB2	0.84
1USX	SIA	1.84
3A7D	FBN	0.90
2Y01	CL	1.26
1GOS	NA6	0.56
1JLX	A2G	0.80
2G70	HNT	7.84
1QPL	587	0.57
3N48	JRZ	2.38
2HTQ	ZMP	0.75
1RIS	3GP	0.98
2B55	31	1.79
1E2P	CCV	7.99
1FM9	570	1.69
1U65	CPO	1.38
3DU6	MMO	1.20
1XOE	ABX	1.96
2Q3N	NAG	3.67
2Y00	CL	0.81
1IQF	XMD	1.05
1UYF	PN1	2.29
1NNB	DAN	1.33
1EUU	LAG	2.26

## Annexes

2WOM	ZZE	1.15
2XJX	XJX	2.75
1HZX	MAN	5.56
1OCE	MF2	3.03
3DZY	BRL	1.22
3D4S	OLC	9.42
3I59	AC7	2.29
1Q1Y	BB2	2.1
1V3D	NDE	0.81
2ACK	EPR	0.61
3POZ	D3P	2.40
1XL2	189	0.32
1TKX	GWB	1.64
3CMD	MLI	0.97
3TMN	TRP	0.57
1APN	MAN	0.68
6RSA	NVC	2.80
1T9S	56P	1.07
3CA5	FN	2.67
1NSC	NAE	0.52
2CBP	CN	2.29
1XOZ	CIA	0.99
1PGG	IMM	0.52
1LQY	BB2	0.69
5TLN	BAN	11.1
1ICM	MYR	0.66
1O86	LPR	0.27
3LAL	KRV	0.54
2BER	SLB	0.52
1B9T	NAG	0.83
1ICN	OLA	1.87
1CEL	IBZ	3.40
1JWT	BLI	13.71
2X3T	GOL	0.83
3AAN	GZL	0.19
2QWA	MAN	4.81
1ETT	4QQ	0.79
3CA3	A2G	2.46
3FSF	FSS	1.22
1IX1	MHA	1.46
3FFI	30B	1.72
1PPH	OZG	0.49
1A6W	SN2	0.45
1E3Q	EBW	5.46
4N85	EAC	0.08
1L7F	BCZ	0.93
1CX2	S58	0.83
1CNX	EG2	1.65
3DLE	GFN	1.79
4N19	SO	0.04
1b6m	Pi6	1.30

**Annexe 2** : scores des similaires

ligand	Finale
1	2.02
2	2.02
3	2.03
4	2.04
5	2.07
6	2.08
7	2.09
8	2.10
9	2.11
10	2.11
11	2.12
12	2.12
13	2.12
14	2.12
15	2.12
16	2.13
17	2.14
18	2.14
19	2.14
20	2.14
21	2.16
22	2.16
23	2.17
24	2.19
25	2.19
26	2.21
27	2.21
28	2.21
29	2.21
30	2.22
31	2.23
32	2.23
33	2.26
34	2.27
35	2.27
36	2.29
37	2.31
38	2.31
39	2.31
40	2.32
41	2.32
42	2.32
43	2.32
44	2.32
45	2.33
46	2.35
47	2.35
48	2.35

## Annexes

49	2.36
50	2.36
51	2.38
52	2.38
53	2.40
54	2.40
55	2.43
56	2.43
57	2.45
58	2.45
59	2.46
60	2.50
61	2.50
62	2.51
63	2.53
64	2.53
65	2.55
66	2.57
67	2.62
68	2.64
69	2.64
70	2.66
71	2.68
72	2.68
73	2.69
74	2.69
75	2.70
76	2.72
77	2.73
78	2.73
79	2.75
80	2.76
81	2.77
82	2.77
83	2.77
84	2.77
85	2.80
86	2.81
87	2.82
88	2.83
89	2.84
90	2.84
91	2.86
92	2.86
93	2.87
94	2.87
95	2.87
96	2.90
97	2.90
98	2.92
99	2.93

## Annexes

100	2.94
101	2.94
102	2.94
103	2.96
104	2.97
105	3.01
106	3.03
107	3.03
107	3.04
108	3.05
109	3.06
110	3.07
111	3.08
112	3.09
113	3.09
114	3.10
115	3.10
116	3.10
117	3.12
118	3.13
119	3.15
120	3.17
121	3.19
122	3.20
123	3.20
124	3.22
125	3.22
126	3.23
127	3.23
128	3.24
129	3.24
130	3.25
131	3.26
132	3.26
133	3.27
134	3.28
135	3.28
136	3.29
137	3.29
138	3.29
139	3.31
140	3.31
141	3.33
142	3.35
143	3.35
144	3.35
145	3.36
146	3.36
147	3.36
148	3.37
149	3.38

## Annexes

150	3.38
151	3.39
152	3.39
153	3.40
154	3.40
155	3.40
156	3.41
157	3.41
158	3.41
159	3.42
160	3.43
161	3.43
162	3.45
163	3.45
164	3.46
165	3.49
166	3.49
167	3.49
168	3.49
169	3.49
170	3.50
171	3.52
172	3.52
173	3.52
174	3.54
175	3.54
176	3.55
177	3.55
178	3.56
179	3.57
180	3.58
181	3.58
182	3.59
183	3.61
184	3.61
185	3.63
186	3.63
187	3.64
188	3.65
189	3.66
190	3.67
191	3.67
192	3.71
193	3.71
194	3.74
195	3.74
196	3.74
197	3.74
198	3.74
199	3.75
200	3.75

## Annexes

201	3.76
202	3.76
203	3.76
204	3.77
205	3.79
206	3.79
207	3.80
208	3.81
209	3.82
210	3.82
211	3.83
212	3.83
213	3.83
214	3.86
215	3.86
216	3.87
217	3.87
218	3.87
219	3.87
220	3.87
221	3.88
222	3.88
223	3.88
224	3.90
225	3.91
226	3.92
227	3.92
228	3.92
229	3.94
230	3.95
231	3.95
232	3.96
233	3.96
234	3.97
235	3.99
236	3.99
237	4.00
238	4.01
239	4.02
240	4.03
241	4.04
242	4.05
243	4.06
244	4.07
245	4.08
246	4.09
247	4.10
248	4.11
249	4.13
250	4.15
251	4.17

## Annexes

252	4.18
253	4.19
254	4.21
255	4.22
256	4.23
257	4.24
258	4.25
259	4.26
260	4.30
261	4.32
262	4.34
263	4.35
264	4.36
265	4.41
266	4.42
267	4.43
268	4.44
269	4.47
270	4.50
271	4.51
272	4.52
273	4.54
274	4.57
275	4.59
276	4.60
277	4.64
278	4.67
279	4.72
280	4.76
281	4.81
282	4.94
283	4.97
284	4.98
285	5.02
286	5.12
287	5.15
288	5.18
289	5.21
290	5.26
291	5.39
292	5.74
293	5.76
294	5.83
295	5.86
296	5.92
297	6
298	6.59



# **Résumés**

### Résumé

Dans ce travail, nous nous sommes focalisés sur le traitement du paludisme basé sur l'inhibition de la dihydrofolate réductase (DHFR) ; enzyme clé dans la biosynthèse des acides nucléiques notamment chez les parasites du genre *Plasmodium*. La reconstruction de 3 complexes DHFR-inhibiteurs disponibles dans la PDB sous les codes 1DLS, 4QHV et 3GHW par docking moléculaire avec Surflex fait ressortir le composé IXF du complexe 4QHV comme meilleur inhibiteur de la DHFR avec un score de 3.14. Le criblage virtuel d'une collection de 298 composés similaires de IXF fait ressortir les composés **1** et **2** comme nouveaux inhibiteurs de la DHFR avec des scores de 6.59 et 6. L'application de la règle de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés physico-chimique de ces nouvelles molécules.

**Mots clés** : Dihydrofolate réductase ,Surflex, PDB , Criblage virtuel, similaires score, Lipinski.

### **Summary:**

In this work, we are focussed on the treatment of malaria based on the inhibition of dihydrofolate reductase (DHFR); key enzyme in the biosynthesis of nucleic acids, especially in the Plasmodium genus parasites. The reconstruction of 3 DHFR-inhibitors complexes available in the PDB under the codes 1DLS, 4QHV and 3GHW by Surflex molecular docking gives us the compound IXF from the 4QHV complex as the best inhibitor of DHFR with a score of 3.14. The virtual screening of a similar 298 IXF compounds collection gives the compounds **1** and **2** as new DHFR inhibitors with scores of 6.59 and 6. The application of Lipinski's rule gives us a positive insight into the physicochemical properties of these new molecules.

**Key words:** Dihydrofolate reductase, Surflex, PDB , The virtual screening, similar, scores,

Lipinski

### الملخص

نركز في عملنا هذا على علاج الملاريا بالاعتماد على تثبيط اختزال ثنائي هيدروالفولات (DHFR)، وهو الإنزيم الرئيسي في التخليق الحيوي للأحماض النووية، خاصة عند الطفيليات من جنس المُنصَّورة (*Plasmodium*)، حيث يعطينا إعادة بناء ثلاثة مجمعات مثبّطة "DHFR" متوفرة في PDB تحت الرموز DLS1 و QHV 4 و GHW3 عن طريق الالتحام الجزيئي مع Surfex، المركب IXF من المجمع QHV4 كأفضل مثبّط لـ DHFR بدرجة 3.14. وتوفر التصفية الافتراضية لمجموعة مماثلة مكونة من 298 مركب IXF، المركبين 1 و 2 كمتبطين جديدين لـ DHFR بالدرجتين 6.59 و 6. ويمكننا عن طريق تطبيق قاعدة ليبينسكي ملاحظة الخصائص الفيزيائية الكيميائية لهذه الجزيئات الجديدة بشكل واضح.

الكلمات المفتاحية: ثنائي هيدروالفولات، Surfex، PDB، الالتحام الجزيئي، لمجموعة مماثلة، الدرجتين ليبينسكي.

# *Inhibition in silico de la dihydrofolate réductase pour le traitement du Paludisme*

## *Mémoire de fin d'études de Master en biochimie appliquée*

Dans ce travail, nous nous sommes focalisés sur le traitement du paludisme basé sur l'inhibition de la dihydrofolate réductase (DHFR) ; enzyme clé dans la biosynthèse des acides nucléiques notamment chez les parasites du genre *Plasmodium*. La reconstruction de 3 complexes DHFR-inhibiteurs disponibles dans la PDB sous les codes 1DLS, 4QHV et 3GHW par docking moléculaire avec Surflex fait ressortir le composé IXF du complexe 4QHV comme meilleur inhibiteur de la DHFR avec un score de 3.14. Le criblage virtuel d'une collection de 298 composés similaires de IXF fait ressortir les composés **1** et **2** comme nouveaux inhibiteurs de la DHFR avec des scores de 6.59 et 6. L'application de la règle de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés physico-chimique de ces nouvelles molécules.

Mots clés : Dihydrofolate réductase, Surflex , PDB , Criblage virtuel, similaires , score , Lipinski.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de biochimie appliquée

### Jury d'évaluation :

**Président du jury : Mr . CHIKHLA. (Professeur - UFM Constantine 1).**

**Rapporteur : Mr. MOKRANI E.H. (Maître assistant «A» - UFM Constantine 1).**

**- Examineur : Mr. BENSEGUENI A.(Professeur - UFM Constantine 1).**

**Date de soutenance : 04/07/2018**