



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

Faculté des sciences de la nature et de la vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الحية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

**Simulation par docking moléculaire des interactions enzyme-
inhibiteur : cas de la Lanosterole 14 alpha-déméthylase**

Présenté et soutenu par : BENSEGUENI Abdeldjalil

Le : 11/07/2019

TLILI Imene

Jury d'évaluation :

Président du jury : CHIKHI. A (Pr. Université Frères Mentouri Constantine 1)

Rapporteur : MOKRANI E.H (MAA Université Frères Mentouri Constantine 1)

Examineur : TENIOU. S (MAA Université Frères Mentouri Constantine 1)

Année universitaire 2018 – 2019

Table des matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction	1
Chapitre 1 : Les maladies fongiques	
1. Généralités sur l'agent pathogène.....	3
2. Les différentes infections cliniques.....	4
3. Physiopathologie.....	5
4. Facteurs prédisposant à l'infection candidosique.....	6
4.1 Les facteurs intrinsèques.....	6
4.2 Les facteurs extrinsèques.....	7
5. Traitement et prévention.....	7
5.1 Les moyens thérapeutiques disponibles.....	7
5.2 Les cibles cellulaires des antifongiques.....	7
Chapitre 2 : L'enzyme lanostérol 14α-déméthylase et ses inhibiteurs	
1. La lanostérol 14 α -déméthylase (CYP51A1).....	8
2. Structure enzymatique.....	8
3. Les inhibiteurs du CYP51.....	9
Chapitre 3 : Docking Moléculaire	
1. Introduction.....	12
2. Les outils du docking moléculaire.....	13
2.1 Récepteur.....	14
2.2 Ligands.....	14

2.3 Les programmes de docking moléculaire.....	15
--	----

PARTIE PRATIQUE

Chapitre 1 : Matériels et Méthodes

1. Matériels.....	16
1.1. Micro-ordinateur.....	16
1.2 Logiciels.....	16
1.3 Banques de données.....	16
1.3.1. PDB (Protein Data Bank).....	16
1.3.2. Pubchem	16
2. Méthodes.....	17
2.1 Préparation de L'enzyme.....	17
2.2 Préparation du ligand.....	18
2.3 Génération du protomol.....	18
2.4 Le docking moléculaire.....	18
3. Analyse visuelle des résultats.....	19
4. Criblage virtuel d'une collection de composés similaires	19
5. Filtrage ADME/Tox.....	19
5.1 Simulation des propriétés physicochimiques.....	19
5.1.1 Règle de 5 de Lipinski	19
5.1.2 Règle de Veber.....	20
5.2 Simulation des propriétés pharmacocinétiques	20
5.3 Simulation de la toxicité potentielle.....	20

CHAPITRE 2 : Résultats et Discussion

1. La fiabilité du programme Surfex.....	21
1.1 Test RMSD	21

1.2 Analyse visuelle.....	22
1.3 Conclusion.....	24
2. Etude de l'inhibition de la Lanosterol 14 alpha-déméthylase.....	24
3. Proposition de nouveaux inhibiteurs	26
4. Prédiction des paramètres ADME	30
5. Prédiction de la toxicité potentielle.....	32
Conclusion.....	33

Resumés

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

<u>Tableau N° 1</u> : Descriptif des infections causées par <i>Candida</i> sp (Source: Eggimann, Lancet. 2003).....	4
<u>Tableau N° 02</u> : Code Pdb et leur inhibiteur et les valeurs de leur résolution.....	17
<u>Tableau N° 3</u> : Valeurs de RMSD 3 complexes Lanosterol 14 alpha-demethylase inhibiteur étudiés.....	22
<u>Tableau N°4</u> : Les codes PDB du complexe Lanosterol 14 alpha-demethylase-inhibiteur avec leur score.....	25
<u>Tableau N° 5</u> : Les scores des 2 meilleurs similaires obtenus suite au docking moléculaire avec la Lanosterol 14 alpha-demethylase.....	26
<u>Tableau N°6</u> : Propriétés physico-chimiques des similaires S22 et S37.....	30
<u>Tableau N° 7</u> : Propriétés pharmacocinétiques des similaires S22 et S37.....	31
<u>Tableau N° 8</u> : Toxicité potentielle des composés S22 et S37.....	32

Liste des figures

Figure N° 1 : Les différents constituants de la paroi fongique (Source: Diamond R., <i>Atlas of fungal Infections</i> , Ed.1999).....	3
Figure N° 2 : <i>Aspergillus fumigatus</i>	5
Figure N° 3 : Physiopathologie des candidémies (Source: Eggimann. <i>Lancet</i> . 2003).....	6
Figure N° 4 : structure de La lanostérol 14 α-déméthylase	9
Figure 5 : structure chimique des antifongiques azolés : A : antifongiques triazolés à usage systémique ; B : principaux antifongiques imidazolés (liste non exhaustive)	10
Figure N° 6 : Mécanisme d'action des antifongiques azolés	11
Figure N° 7 : Étapes typiques d'un docking	12
Figure N° 8 : Aperçu du criblage virtuel	13
Figure N° 9 : Résultats en % des RMSD obtenus par Surfex	21
Figure N° 10: Superposition de la géométrie du ligand HQE du complexes 3I3B obtenu par rayon-X (colorés par type d'atomes) et celle calculée par docking moléculaire avec Surfex (colorés en rouge)	23
Figure N° 11: Superposition de la géométrie du ligand 44F du complexes 4MW1 obtenu par rayon-X (colorés par type d'atomes) et celle calculée par docking moléculaire avec Surfex (colorés en rouge)	23
Figure N° 12: Superposition de la géométrie du ligand IGM du complexes 3ZM5 obtenu par rayon-X (colorés par type d'atomes) et celle calculée par docking moléculaire avec Surfex (colorés en rouge)	24
Figure N° 13 : Interaction du composé 5LU envers le site actif de la Lanosterol 14 alpha-demethylase-inhibiteur	25
Figure N° 14 : Mode d'interaction du composé S22	29
Figure N° 15 : mode d'interaction du composé S37	29

Liste des abréviations

3D	Trois dimensions
Å	Angstrom
AA	Acide Aminé
ADME/tox Excrétion/toxicité	Absorption Distribution Métabolisme Excrétion/toxicité
BBB perméabilité	Blood–Brain Barrier perméabilité
CYP1A2	Cytochrome P1A2
CYP2C19	Cytochrome P2C19
CYP2C9	Cytochrome P2C9
CYP2D6	Cytochrome P2D9
CYP3A4	Cytochrome P3A4
GC	Guanylyl cyclase
GI absorption	Gastro-intestinal absorption
hERG	The human ether-a-go-go-related gene
Kcal/Mol	Kilo calories/Mol
LogP	Coefficient de partage Eau/Octanol
LF	Liaison flexible
PDB	Protein Data Bank (Banque de donnée protéique)
RMSD	Root Mean Square Deviation
TPSA	Surface polaire

Introduction :

Le processus de découverte d'un médicament est long et onéreux. Entre 12 et 15 ans et près d'un milliard de dollars sont nécessaires pour la conception et la mise sur le marché d'un médicament.

Actuellement les méthodes virtuelles capables de prédire l'affinité de produits sont de plus en plus utilisées. En effet, un certain nombre de médicaments mis sur le marché proviennent d'une conception rationnelle basée sur des stratégies de criblage virtuel. Citons à titre d'exemple :

- le célécoxib qui est un inhibiteur sélectif de la COX-2 jouant un rôle dans la réduction des risques de cancer du pancréas [1-2].
- L'indinavir qui est un puissant inhibiteur des protéases du VIH.

L'avantage majeur de ces méthodes est d'aider à la prédiction de molécules en un temps limité et surtout parfois sans avoir à synthétiser les composés lorsque ceux-ci proviennent de bibliothèques commerciales.

Le docking moléculaire est l'outil par excellence pour réaliser un criblage virtuel. Dans notre travail nous tenterons d'appliquer cette méthode à l'étude de l'une des enzymes clés du métabolisme des champignons pathogènes pour l'homme. On estime actuellement que les infections fongiques représentent 5 à 10 % des pathologies infectieuses dans les pays développés. L'absence de traitement efficace avec souvent des effets indésirables représente une cause majeure de morbidité et de mortalité et constitue donc un véritable problème de santé publique auquel nous tenterons d'apporter notre modeste contribution par une étude théorique de l'inhibition de l'enzyme Lanosterol 14 alpha-déméthylase en recherchant des molécules biologiquement plus actives par les méthodes de simulation par docking moléculaire.

Le premier objectif de notre travail consiste d'abord à vérifier la performance du programme de docking moléculaire surflex, en utilisant le test RMSD (root mean square deviation) que nous appliquerons à 100 complexes enzyme-inhibiteurs pris de manière aléatoire de la PDB (Protein Data Bank).

Notre deuxième objectif consiste à rechercher le ou les meilleurs composés similaires issus de la *PubChem*, en utilisant comme structure de départ le meilleur inhibiteur de la Lanostérol 14 alpha-déméthylase existant dans la PDB.

Le présent travail est structuré en deux grandes parties :

La première partie composée de trois chapitres est dédiée à l'étude bibliographique sur, les maladies fongiques, la cible thérapeutique choisie dans ce travail à savoir l'enzyme Lanosterol 14 alpha-déméthylase (structure, rôle, localisation) et enfin l'outil docking moléculaire, qui représente une nouvelle approche de découverte *in silico* des inhibiteurs d'une cible d'intérêt thérapeutique donnée.

Dans la deuxième partie qui regroupe deux chapitres, on retrouvera d'abord la partie matériel et méthodes permettant d'évaluer le score d'affinité des molécules sélectionnées dans ce travail mais surtout d'élucider les mécanismes d'interaction mis en jeu entre un ligand et son récepteur. Enfin le deuxième chapitre sera consacré aux résultats et discussion.

Une conclusion générale avec des perspectives clôturera ce travail.

Chapitre 1

Les Maladies Fongiques

1. Généralités sur l'agent pathogène

Les champignons microscopiques appartiennent au règne fongique et forment un groupe de plus de 1 200 000 espèces connues dont une centaine d'espèces sont responsables de pathologies humaines.

Les levures sont des organismes eucaryotes unicellulaires sans chlorophylle, pigment assimilateur retrouvé chez les plantes. Elles sont médicalement représentées par les genres *Candida*, *Cryptococcus*, *Malassezia*, *Saccharomyces*, *Geotrichum* et *Trichosporon*.

D'un point de vue cellulaire, elles possèdent un noyau entouré d'une membrane nucléaire, un réticulum endoplasmique et des mitochondries.

La membrane fongique est riche en lipides dont l'ergostérol, et la paroi est composée de protéines, de phospholipide, de chitine, et de sucres dont les principaux sont les mannanes et les glucanes. (Figure 1)

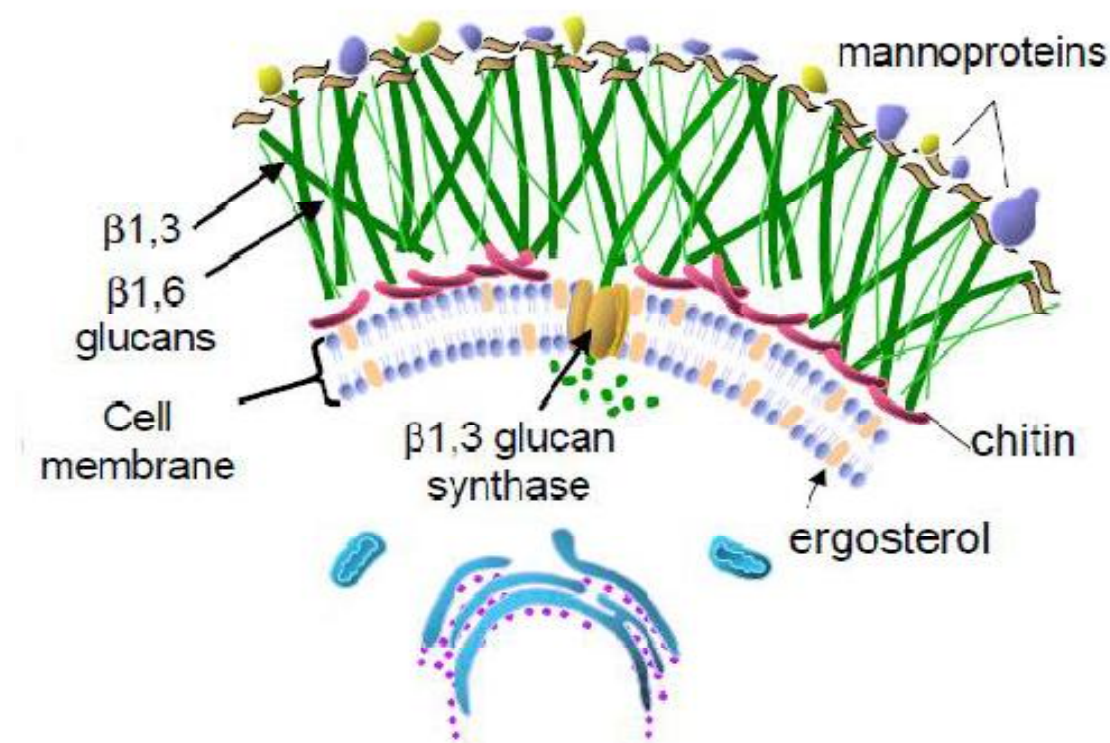


Figure N° 1 : Les différents constituants de la paroi fongique
(Source: Diamond R., *Atlas of fungal Infections*, Ed.1999)

Ces levures sont hétérotrophes, c'est-à-dire qu'elles nécessitent une source de carbone provenant de matières organiques en décomposition ou du parasitisme pour se développer et survivre. La nutrition des levures par absorption est assurée par un réseau de filaments (thalle ou mycélium). La morphologie de ce thalle reproducteur est à l'origine de la classification des champignons microscopiques. En effet, la formation de spores sexuées [3].

Concernant le genre *Candida* : Les levures du genre *Candida* apparaissent macroscopiquement sous forme de colonies blanches à crémeuses de 1 à 3 mm. Suivant l'espèce en question, leur texture peut être pâteuse, lisse, brillante, sèche, ridée ou terne.

Les caractères microscopiques diffèrent grandement selon l'espèce. Toutes produisent des blastoconidies, rondes ou allongées, et la plupart des pseudo-hyphes qui peuvent être longs, incurvés ou ramifiés. Certaines espèces présentent des formes de résistances appelées chlamydo-spores.

2. Les différentes infections cliniques

Le spectre des infections causées par les espèces du genre *Candida* est large et peut se diviser en 2 catégories : les pathologies superficielles (cutanéomuqueuses) et les pathologies systémiques (candidémies et candidoses invasives) (tableau 1).

Tableau N° 1 : Descriptif des infections causées par *Candida* sp.
(Source: Eggimann, Lancet. 2003)

les infections profondes		les infections superficielles
Candidémie	Endophtalmie	Candidose cutanée
Infection sur dispositif implantable	Ostéomyélite	Candidose oropharyngée
Thrombophlébite suppurée	Spondylodiscite	Candidose oesophagienne
Arthrite	Méningite	Vaginite
Candidose pulmonaire/hépatosplénique	Cystite/pyélonéphrite	
Trachéite/bronchite		

3. Physiopathologie

La fréquence des infections par les champignons s'est considérablement accrue au cours des dernières décennies, en particulier du fait de l'évolution continue des pratiques médico-chirurgicales. Cette évolution des pratiques est paradoxalement associée à une augmentation de facteurs de risque d'infections opportunistes, de par leur caractère invasif : interventions chirurgicales, poses de cathéters ou de prothèses, traitements immunosuppresseurs, chimiothérapies anticancéreuses ou antibiothérapies à large spectre. Des facteurs physiopathologiques et environnementaux contribuent également à la survenue d'infections fongiques : âges extrêmes, pathologies du système immunitaire, infections préexistantes, cancers, pathologies hématologiques, dénutrition ou encore travaux de rénovation des infrastructures hospitalières. Les infections fongiques sont de ce fait majoritairement des infections opportunistes, consécutives à un ou plusieurs de ces facteurs de risque.

Parmi les agents pathogènes les plus fréquents, on retrouve des levures (*Candida*, *Cryptococcus*, etc) et des champignons filamenteux (*Aspergillus*, *Mucorales*, etc) (figure 2).

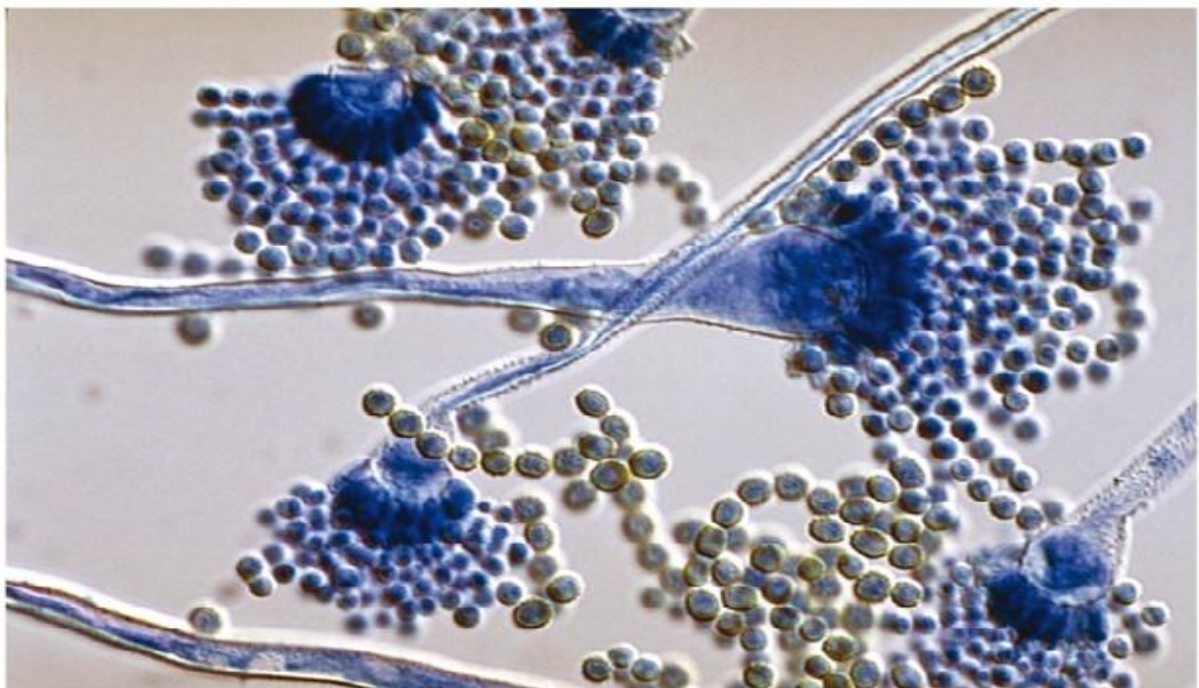


Figure 2 : *Aspergillus fumigatus*

Les levures appartiennent à la flore normale endogène des muqueuses du tractus gastro-intestinal et génital, en portage transitoire ou permanent chez 40 à 50% des Hommes [4]. Ce portage devient colonisation si certains facteurs de risques sont présents (principalement antibiothérapie et immunodépression). L'origine des candidémies ou des candidoses invasives peut être exogène (transmission à partir du milieu extérieur, principalement par une effraction

cutanée) ou endogène (à partir d'un foyer profond principalement digestif, puis dissémination hématogène) (figure 3). Dans l'immense majorité des cas, la souche colonisante devient la souche infectante.

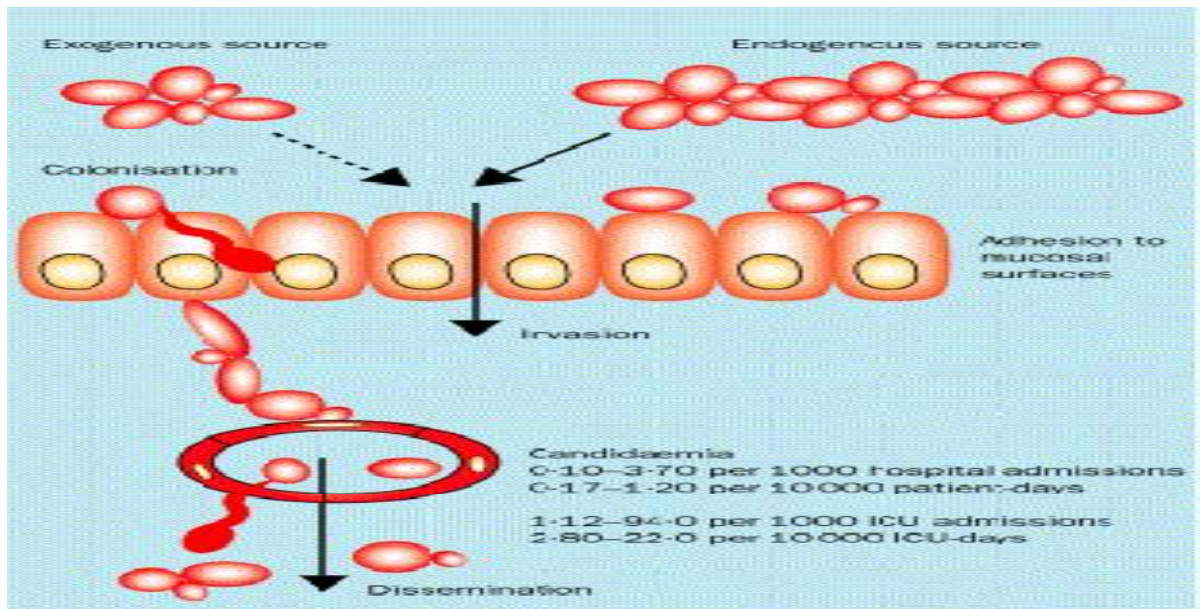


Figure 3 : Physiopathologie des candidémies (Source: Eggimann. Lancet. 2003)

4. Facteurs prédisposant à l'infection candidosique

Les candidoses sont des maladies opportunistes profitant de la déstabilisation du fragile équilibre installé entre le parasite et l'hôte pour se disséminer. En cela, certains facteurs, propres ou étrangers à l'hôte, favorisent le développement de la forme invasive.

4.1 Les facteurs intrinsèques

Le facteur de risque principal est la colonisation [5]. L'antibiothérapie large spectre est un facteur favorisant cette colonisation [6]. Certains auteurs ont mis en place des scores cliniques de colonisation prédictifs d'atteinte candidosique invasive [7-8]. Le principal et le plus historique est l'index de colonisation de Pittet [5]. Ces différents scores de colonisation sont intéressants de par leur bonne valeur prédictive négative [9]. Les facteurs favorisants sont :

- Neutropénie/immunodépression
- Hémopathie maligne/cancer
- Insuffisance rénale
- Age extrême
- Faible poids à la naissance

4.2 Les facteurs extrinsèques

Les facteurs extrinsèques sont aussi nombreux, parmi lesquels on retrouve :

- Chirurgie (digestive principalement)
- Iatrogènes : antibiotiques, prophylaxie par antifongiques, corticostéroïdes, chimiothérapie
- Epuration extra-rénale
- Dispositifs implantables ou matériels
- Ventilation mécanique
- Nutrition parentérale
- Durée d'hospitalisation

La majorité des patients de réanimation présentent ces facteurs de risque et sont donc à risque d'infection fongique invasive.

5. Traitement et prévention

5.1 Les moyens thérapeutiques disponibles

Les antifongiques sont des molécules capables de détruire spécifiquement les différents champignons impliqués en mycologie médicale, ou au moins de réduire leur prolifération. Contrairement au grand nombre d'antibiotiques et malgré d'importants progrès, la quantité d'antifongiques disponibles reste limitée à un petit nombre de produits. En effet, il n'existe à ce jour que quatre classes d'antifongiques : les polyènes, les dérivés pyrimidiques, les dérivés azolés et les échinocandines, et celles-ci connaissent des facteurs limitant leur utilisation.

5.2 Les cibles cellulaires des antifongiques

L'ergostérol membranaire : la membrane plasmique de la levure est constituée d'une bicouche lipidique incrustée de protéines. Cette membrane joue le rôle de barrière entre le microorganisme et l'extérieur, tout en permettant les échanges. L'ergostérol est un constituant essentiel nécessaire au maintien de la structure. L'activité fongique des dérivés azolés repose sur l'inhibition de la synthèse de l'ergostérol, empêchant la constitution d'une membrane plasmique fonctionnelle. Les polyènes, tels que l'Amphotéricine B (AmB), quant à eux, interagissent directement avec ce constituant membranaire. Cette interaction forme des pores perméables dans la membrane de la levure.

Chapitre 2

L'enzyme lanostérol 14 α -déméthylase et ses inhibiteurs

1. La lanostérol 14 α -déméthylase (CYP51A1)

C'est une enzyme du cytochrome P450 impliquée dans la conversion du lanostérol en 4,4-diméthylcholesta-8 (9), 14,24-triène-3 β -ol [10]. Les isoenzymes du cytochrome P450 constituent un groupe de protéines conservées qui jouent un rôle clé dans le métabolisme des substances organiques et la biosynthèse d'importants stéroïdes, lipides et vitamines chez les eucaryotes [11]. En tant que membre de cette famille, la lanostérol 14 α -déméthylase est responsable d'une étape essentielle de la biosynthèse des stérols. En particulier, cette protéine catalyse l'élimination du groupe C-14 α -méthyle du lanostérol [11]. Cette étape de déméthylation est considérée comme le premier point de contrôle de la transformation du lanostérol en d'autres stérols largement utilisés dans la cellule fongique [11].

Bien que la lanostérol 14 α -déméthylase soit présente dans une grande variété d'organismes, cette enzyme est étudiée principalement dans le contexte des champignons, où elle joue un rôle essentiel dans la médiation de la perméabilité membranaire. [12] Chez les champignons, le CYP51 catalyse la déméthylation du lanostérol pour créer un précurseur important qui est finalement converti en ergostérol. [11] Ce stéroïde fait ensuite son chemin dans la cellule où il modifie la perméabilité et la rigidité des membranes plasmiques de la même manière que le cholestérol chez les animaux. [13] L'ergostérol constituant un composant fondamental des membranes fongiques, de nombreux médicaments antifongiques ont été mis au point pour inhiber l'activité de la 14 α -déméthylase et empêcher la production de ce composé clé. [13]

2. Structure enzymatique

Bien que la structure de la 14 α -déméthylase puisse varier considérablement d'un organisme à l'autre, l'analyse de l'alignement des séquences révèle qu'il existe six régions dans la protéine qui sont hautement conservées chez les eucaryotes [14]. Ceux-ci comprennent les résidus dans l'hélice B', la boucle B' / C, l'hélice C, l'hélice I, la boucle K / β 1-4 et le brin β 1-4 responsables de la formation de la surface de la cavité de liaison du substrat. Les modèles d'homologie révèlent que les substrats migrent de la surface de la protéine vers le site actif enfoui de l'enzyme par un canal formé en partie par l'hélice α A' et la boucle β 4 [15,16]. Enfin, le site actif contient un groupe prosthétique hémique dans

lequel le fer est attaché à un ligand thiolate sur un résidu de cystéine conservé. Ce groupe se lie également à l'oxygène diatomique au sixième site de coordination, qui est finalement incorporé au substrat (figure 5).

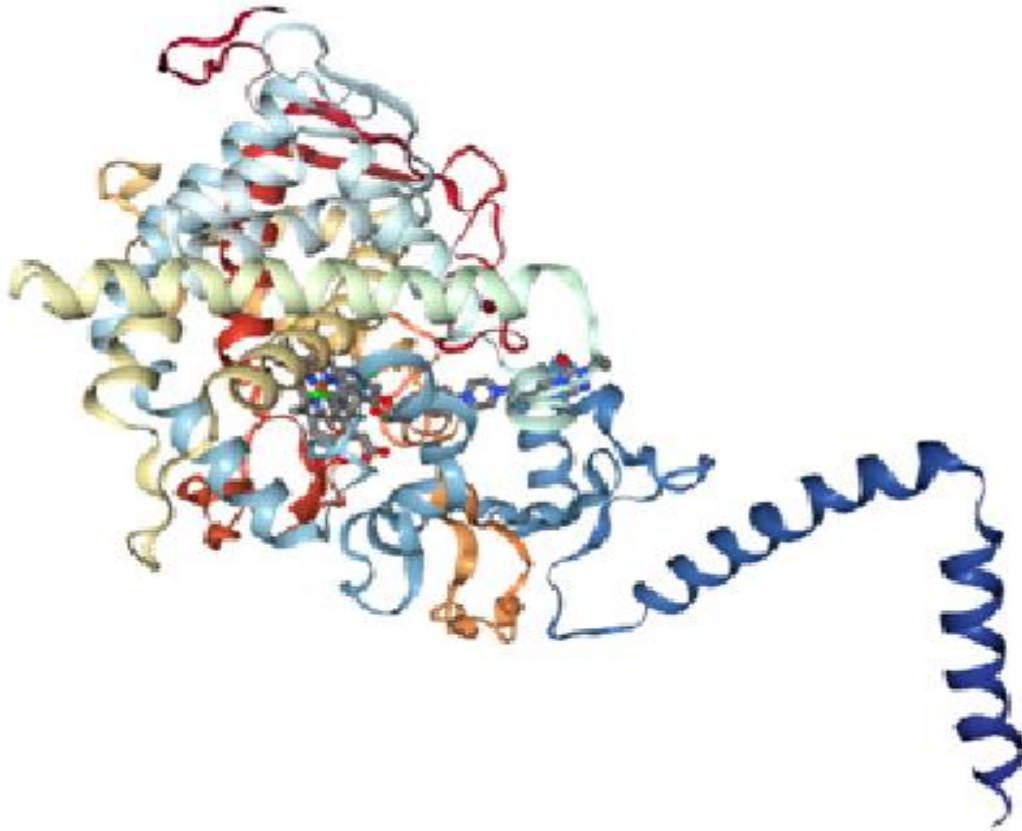


Figure 4 : structure de La lanostérol 14 α -déméthylase

3. Les inhibiteurs du CYP51

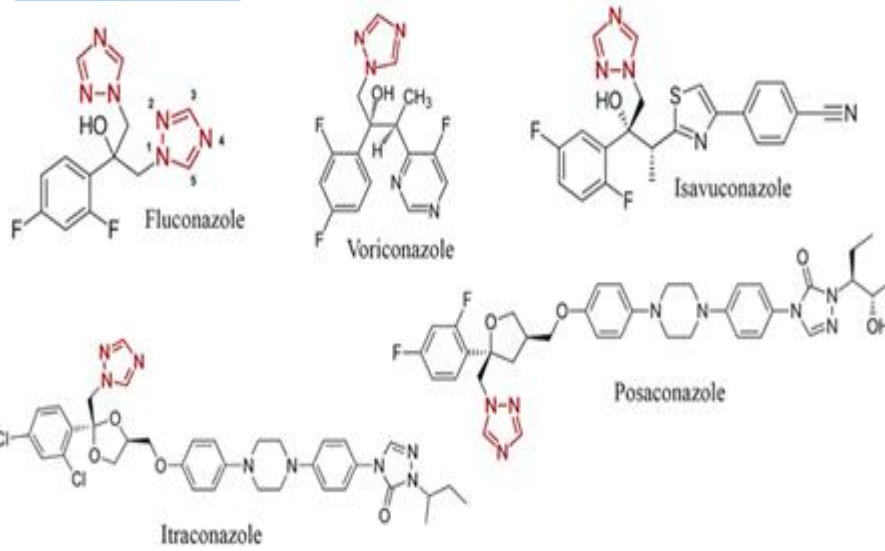
En tant que sujet intéressant pour les études fondamentales sur le P450, le CYP51 revêt également une grande importance pratique en tant que cible médicamenteuse. L'inhibition de l'activité de la stérol-14 α -déméthylase bloque la biosynthèse des stérols, qui est mortelle chez les organismes unicellulaires, influence la croissance et les processus de développement chez les plantes et réduit la production de cholestérol endogène chez les animaux. Bien que les inhibiteurs du CYP51 fassent l'objet d'études approfondies en tant qu'herbicides et médicaments hypocholestérolémiants, ils sont le plus largement utilisés en tant que fongicides pour traiter les mycoses humaines (antifongiques cliniques) et prévenir les infections alimentaires (antifongiques agricoles). La demande en inhibiteurs du CYP51 augmente constamment en raison de la résistance aux médicaments, de l'augmentation mondiale de l'incidence des infections fongiques opportunistes en raison du nombre croissant d'hôtes

immunodéprimés (infections par le VIH, chimiothérapie anticancéreuse, greffe d'organes et de moelle osseuse) et de patients des infections telles que la tuberculose, etc.

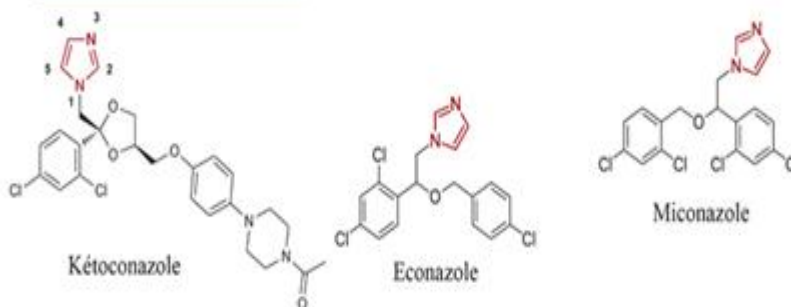
Les azoles (imidazoles et triazoles) sont les inhibiteurs du CYP51 les plus largement connus.

Les antifongiques azolés sont des substances synthétiques ayant un noyau azolé contenant soit deux soit trois atomes d'azote, imidazole et triazole respectivement (Figure 4).

A. Triazolés



B. Imidazolés



Les dérivés azolés se coordonnent au fer hémique à travers un azote basique et inhibent l'activité empêchant la liaison du substrat et le métabolisme. Les azoles jouent un rôle central dans le traitement des mycoses systémiques et dermiques [17]. Les azoles sont moins toxiques que les autres médicaments antifongiques, peu coûteux et largement disponibles, tout en présentant plusieurs inconvénients. Leur utilisation à long terme peut inhiber d'autres enzymes P450 [18] et conduire à une résistance permettant aux médicaments de tolérer l'agent pathogène. Les raisons possibles de résistance sont 1) des mutations dans le CYP51 fongique

(des dizaines de mutations pouvant être liées à une résistance aux azoles ont été rapportées par exemple [19] 2) une augmentation de l'expression du gène CYP51 et 3) un efflux d'azole plus rapide ou une perméabilité diminuée [20, 21]. En outre, il est bien connu que plus la souche fongique est sensible aux médicaments, plus la résistance se développe rapidement et fréquemment [22]. En outre, le choix des inhibiteurs les plus puissants du CYP51 contribuerait à raccourcir la durée du traitement et à réduire les doses nécessaires.

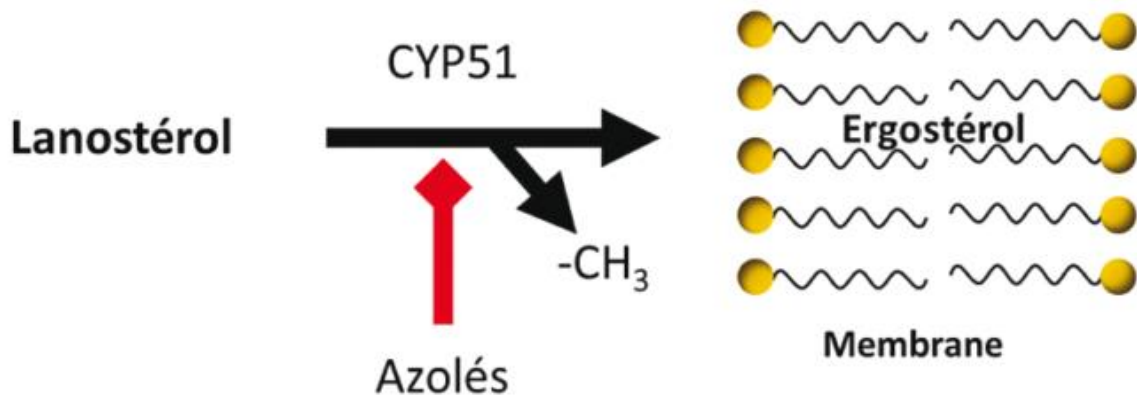


Figure N° 6 : Mécanisme d'action des antifongiques azolés.

Une autre option pourrait être la recherche aléatoire d'autres types d'inhibiteurs hautement sélectifs du CYP51 via le criblage à haut débit de bibliothèques chimiques et la sélection des composés d'intérêt en fonction de leur liaison au P450 et de l'inhibition ultérieure de sa réaction.

C'est dans ce même contexte que s'inscrit notre travail qui vise à rechercher de nouveaux inhibiteurs potentiels de la Lanostérol 14 alpha déméthylase en faisant appel à une nouvelle approche *in silico* par docking moléculaire avec le programme surflex.

Chapitre 3

Docking Moléculaire

1. Introduction

Le docking est un procédé très utile qui étudie l'interaction potentiel de la structure d'un complexe moléculaire en tenant compte des interactions potentielles qui établissent la petite molécule dans le site de liaison de protéine [23].

Le docking permet de déterminer les modes de liaison ou les conformations possibles d'un ligand à un récepteur et de calculer l'énergie de liaison ou l'énergie du complexe permettant de donner une estimation sur l'affinité de liaison entre deux molécules, ceci a pour but de déterminer quel ligand candidat interagira le mieux avec une protéine cible donnée [24].

En effet, avec le développement de la cristallographie par rayons X et l'outil informatique, les méthodes de modélisation par docking moléculaire sont devenues des étapes cruciales dans de nombreux programmes de découverte de médicaments. L'introduction du criblage virtuel a offert une nouvelle voie d'identification de ligands. Le criblage virtuel basé sur la structure 3D de la protéine consiste à amarrer et à prédire l'affinité d'un grand nombre de molécules (collectées en chimiothèques) pour le site actif ciblé. Les molécules les plus prometteuses sont sélectionnées, achetées ou synthétisées puis testées expérimentalement.

La figure ci-dessous montre les différentes étapes du docking moléculaire.

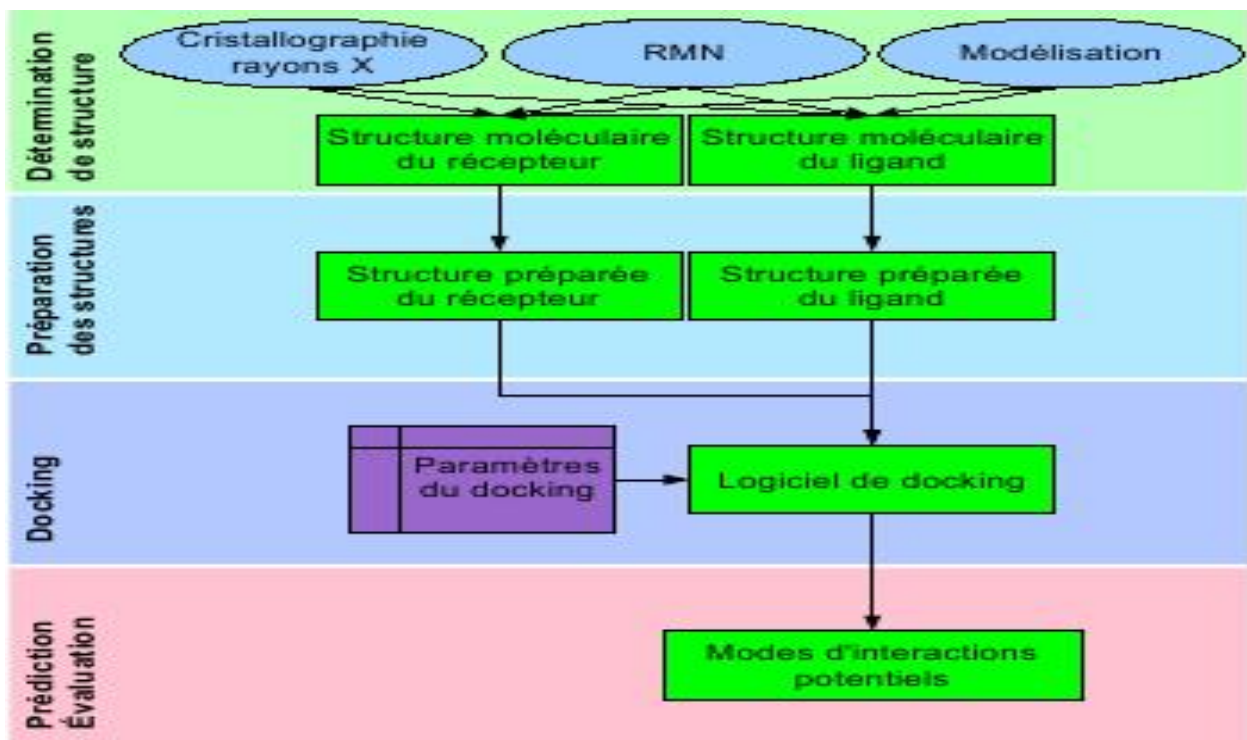


Figure N° 7 : Étapes typiques d'un docking.

Les nombres grandissants de cibles génomiques d'intérêt thérapeutique [25] et de macromolécules (protéines, acides nucléiques) pour lesquelles une structure tridimensionnelle (3-D) est disponible [26] rendent les techniques de criblage virtuel de plus en plus attractives pour des projets d'identification de molécules bioactives [27]. Par criblage virtuel, on entend tout procédé de recherche électronique dans des banques de données moléculaires permettant la sélection de molécules. La requête peut être effectuée sous différents types de contraintes (descripteurs physicochimiques, pharmacophore, topologie d'un site actif) et doit aboutir à la sélection d'un faible pourcentage (1-2%) de molécules présentes dans la chimiothèque (banque de données de ligands) de départ.

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

- La mise au point de la chimio-thèque de départ.
- Le criblage proprement dit.
- La sélection d'une liste de touches virtuelles.

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

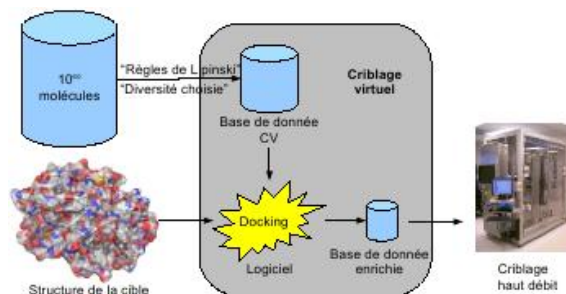


Figure N° 8 : Aperçu du criblage virtuel

2. Les outils du docking moléculaire

Une stimulation de docking comprend deux étapes complémentaires : le docking et le scoring. Le docking est l'étape de sélection qui consiste à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations possibles. L'étape de scoring consiste à classer et à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine en donnant un score ou énergie d'interaction aux poses obtenues dans l'étape précédente

Au niveau du site actif, l'interaction entre la protéine ou cible et le ligand s'exprime par la mise en place de nombreuses liaisons faibles telles que la liaison hydrogène, la liaison électrostatique, les interactions de van der Waals et les interactions hydrophobes.

Pour réaliser un docking moléculaire, deux structures sont nécessaires : le récepteur et le ligand. Il s'agit dans notre cas d'une enzyme et d'un inhibiteur.

2.1 Récepteur

La disponibilité de la structure des protéines est l'un des éléments essentiels à considérer avant de réaliser un docking [28]. En général, les sources d'information de ces structures proviennent majoritairement de la cristallographie au rayon X et de la RMN. Cette technique est responsable de la majorité des structures issues d'une base de données de structures accessibles gratuitement appelée la « *Protein Data Bank* » (PDB). En Juin 2019, plus de 117000 structures protéiques ont été résolues et injectées dans la PDB grâce à la cristallographie aux rayons X. La RMN fournit, quant à elle, environ 11 000 structures, contre seulement 1500 dans le cas de la microscopie électronique [29]. Lorsque la structure 3D d'une protéine n'a pas encore été résolue expérimentalement, des méthodes de prédiction par homologie de séquence peuvent être mises en œuvre [30].

Le fichier pdb contient plusieurs informations relatives à la macromolécule en question par exemple : le nom du récepteur, l'équipe qui a résolu la structure, la méthode expérimental, etc... Également on y retrouve des informations sur la structure primaire, le ligand, le métal s'il existe, la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z déterminant la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée.

2.2 Ligands

Pour obtenir la structure chimique tridimensionnelle d'un ligand, il existe deux méthodes. La première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelés chimiothèques ou espace chimique. Parmi les chimiothèques les plus connues, citons ici la PubChem qui est une banque de données de molécules chimique gratuite gérée par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), branche de la bibliothèque nationale de médecine des Etats-Unis sous l'autorité de la *National Institutes of Health* (NCI). La chimiothèque PubChem répertorie plusieurs millions de composés en mettant en ligne, gratuitement, pour chaque substance une grande quantité de données de

divers ordres : chimique, biochimique, pharmacologique, production, toxicologie, environnemental...etc.

Le second moyen consiste à utiliser des ligands présents sous forme de complexes dans la PDB ou dans la Chimiothèque Nationale Française ou encore de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et sauvegarder dans différents formats (pdb, mol, mol2....etc. grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl pour ne citer que ces exemples.

2.3 Les programmes de docking moléculaire

Le docking est une approche permettant de prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et leur cible. Il se déroule en deux étapes distinctes : la première étape consiste à placer et à positionner le ligand dans son site d'interaction. La seconde étape consiste, quant à elle, à évaluer l'énergie d'interaction ou l'affinité de différentes poses du ligand générées lors de la première étape. Les algorithmes utilisés pour ces deux étapes diffèrent d'un programme de docking à un autre. [31].

A l'heure actuelle, un grand nombre de programmes (commerciaux ou libres) de docking moléculaire sont disponibles. Parmi ceux-ci, citons à titre exemple AutoDock [32], FlexX[33], Gold[34], Dock[35], et Surflex[36].

Dans notre travail nous avons utilisé le programme Surflex version 1.3 (2005) pour réaliser le docking moléculaire. Ce programme est un algorithme de docking rapide capable d'aligner les ligands dans un environnement constitué d'acides aminés avec une bonne précision.

Pour réaliser le docking en utilisant ce logiciel, il faut suivre 3 étapes:

- Déterminer la manière d'identifier le site actif soit à partir d'un ligand soit à partir du récepteur.
- Construire une pseudo-molécule (protomol) qui va être la cible de différents ligands.
- Réalisation du docking d'un ou de plusieurs ligands.

Surflex fournit les résultats sous forme des 10 meilleures conformations représentées par des scores d'affinité.

Chapitre 1

Matériels et Méthodes

1. Matériels :

1.1. Micro-ordinateur

Dans notre étude nous avons utilisé un micro-ordinateur avec une mémoire de 3GB, un processeur (intel(R) core (TM) 2Duo CPU 2.10GHZ) et un système d'exploitation windows7 version 2009.

1.2 Logiciels (programmes)

Nous avons fait appel à plusieurs programmes pour réaliser le présent travail :

- le programme surflex version 1.3 (2005) : a été utilisé pour réaliser le docking moléculaire Ce programme exécute le docking selon deux méthodes : la première dite incrémentale ou "Hammerhead" et la deuxième dite "molécule entière".

- Le logiciel VMD (Visual Molecular Dynamics) version 1.9.1 (2012) nous a permis de visualiser la structure de l'enzyme et des ligands.

- Le programme Open Babel (2.0.2) nous a servi à la conversion des fichiers en plusieurs formats (mol2, mol, pdb,.....).

- Les programmes ViewerLite (4.2) et Maestro (11.3) ont enfin été utilisés dans cette étude pour visualiser respectivement les poses et les interactions établies entre les inhibiteurs et le site actif de notre enzyme.

1.3 Banques de données

1.3.1. « PDB » (Protein Data Bank)

La PDB est la principale source de données de biologie structurale qui permet en particulier d'accéder à des structures 3D des protéines enzymatiques d'intérêt thérapeutique.

1.3.2. « PubChem »

C'est une banque de donnée américaine de molécules chimiques gérée par NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Elle répertorie plusieurs millions de composés, principalement des petites molécules, mais également des molécules plus grandes

telles que les nucléotides, es glucides, des lipides, des peptides et des macromolécules en mettant en ligne gratuitement leurs structures et leurs propriétés physico-chimiques. Cette base nous a été utile afin d'obtenir des similaires structuraux de notre ligand de base.

2. Méthodes

2.1 Préparation de L'enzyme

La structure 3D de l'enzyme a été téléchargée via la PDB sous le format .pdb. Cette banque de données nous a proposé 5 structures cristallographiques de notre enzyme lanostérol 14- α déméthylase en complexe avec leur inhibiteur. Les codes PDB de ces complexes, ainsi que ceux de leurs inhibiteurs et les valeurs de leur résolution sont représentés dans le tableau N° 2

Tableau N° 2 : Caractéristiques des cinq complexes de la lanostérol 14- α déméthylase

Code du complexe	Code de l'inhibiteur	Résolution Å	Nombre de chaînes	Nombre d'acides aminés	Références bibliographiques
5EAG	5LU	2.4	1	539	[37]
5EAC	TBQ	2.26	1	539	[38]
4UHL	VFV	2.5	6	449	[39]
5EAF	FQC	2.65	2	539	[40]
3LD6	KKK	2.8	2	461	[41]

Parmi ces complexes, nous avons choisi celui portant le code **5EAG** en raison de sa faible valeur de résolution soit 2.4 Å.

L'enzyme cible que nous avons utilisée dans notre travail est la Lanosterol 14 alpha-demethylase qui est constituée de 2 chaînes (A et B). Pour faciliter le travail de docking moléculaire, nous avons éliminé la chaîne B, les molécules d'eau et l'inhibiteur présent dans la chaîne A. L'enzyme ainsi préparée a été enregistrée sous le format .pdb par le programme

VMD. Ce dernier est ensuite converti au format .mol2 que reconnaît Surfex, par le programme Open Babel 2.0.2.

En vue de déterminer le site actif de l'enzyme, nous sommes servis de l'inhibiteur **5LU** présent dans le complexe **5EAG** issu de la PDB. L'inhibiteur est enregistré sous le format.pdb

2.2 Préparation du ligand

Comme pour la préparation de l'enzyme, nous avons utilisé le même complexe **5EAG** pour préparer le ligand. Les 2 chaînes (A et B) ont été supprimées ainsi que les molécules d'eau et tous les autres composants, à l'exception l'inhibiteur **5LU** présent dans ce complexe. Le ligand est enregistré sous le format.pdb et peut être converti suivant le choix au format .mol2. Les deux formats sont reconnus par Surfex.

L'inhibiteur **5LU** ainsi obtenu nous servira d'une part à déterminer le site actif de l'enzyme et d'autre part à générer les composés similaires via la PubChem.

2.3 Génération du protomol

Le docking moléculaire a été réalisé par le programme Surfex en suivant plusieurs étapes. Nous avons d'abord déterminé le site actif en générant une pseudo-molécule appelée 'protomol' que fournit Surfex sous la forme 'pl-protomol.mol2' en utilisant la commande suivante :

```
surfex-dock proto inhibiteur.pdb protein.mol2 pl
```

L'inhibiteur correspond au ligand 5LU et la protéine correspond à l'enzyme

2.4 Le docking moléculaire

Cette étape a été réalisée en utilisant les ligands au format .pdb, l'enzyme et le pl-protomol au format .mol2. Cette opération a permis d'avoir les dix meilleures conformations du ligand au niveau du site actif de l'enzyme classés par des scores d'affinité décroissant allant de final 0 à final-9 au format mol2.. Pour cette étape nous avons utilisé la commande suivante :

```
surfex-dock dock inhibiteur.pdb pl-protomol.mol2 protein.mol2
```

Pour le test RMSD nous avons utilisé en plus une troisième commande suivante qui sert à optimiser la position du ligand simulé vis-à-vis de celui de référence.

```
surfex-dock oprms final-0.mol2 ligand.mol2
```

3. Analyse visuelle des résultats

Le programme Surflex ne permet pas de faire l'analyse visuelle, pour cela on a fait appel à ViewerLite 4.2 pour visualiser les interactions hydrophobes et hydrogènes que peut établir chaque inhibiteur avec le site actif de l'enzyme. Le programme VMD nous a également aidés à visualiser les résultats du RMSD et le mode de liaison des inhibiteurs dans le site actif.

4. Criblage virtuel d'une collection de composés similaires :

Dans le but de rechercher de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de la Lanosterol 14 alpha-déméthylase, le composé **5LU** du complexe **5EAG** a été utilisé comme structure de départ. La banque *PubChem* nous propose 138 similaires de l'inhibiteur **5LU** au format .sdf avec un taux de similarité allant jusqu'à 90%. Les similaires sont convertis au format .pdb ou .mol2 par OpenBabel.

Un criblage de ces similaires a été réalisé par docking moléculaire avec Surflex en vue de calculer leur affinité vis-à-vis de l'enzyme lanostérol 14 alpha-déméthylase.

5. Filtrage ADME/Tox

5.1 Simulation des propriétés physicochimiques

Il était indispensable de compléter notre travail par la prédiction de certains paramètres liés aux propriétés d'ADME afin de nous assurer que les meilleurs inhibiteurs trouvés dans notre travail possèdent des propriétés compatibles avec une application biologique. Dans cette perspective, nous avons utilisé le serveur SwissADME (<http://www.swissadme>) afin de simuler certaines propriétés physicochimiques en utilisant la Règle de Lipinski et la règle de Veber. Ce serveur sert également à calculer la solubilité dans l'eau et l'accessibilité à la synthèse chimique.

5.1.1 Règle de 5 de Lipinski

C'est une règle qui permet d'évaluer les propriétés physico-chimiques d'une molécule afin de prédire sa biodisponibilité par voie orale. Cette règle énoncée par Lipinski en 1997 [42] est basée sur cinq critères :

- 1- Un poids moléculaire inférieur ou égal à 500 daltons.
- 2- Le nombre des groupements donneurs d'hydrogène ne dépassant pas 5.

3. Le nombre des groupements accepteurs d'hydrogène ne dépassant pas 10.
4. Un coefficient de partage octanol/eau (log P) entre -2 et 5.
5. Le nombre de liaisons à libre rotation inférieur à 15.

Pour être retenue, une molécule doit répondre à au moins 3 de ces critères.

5.1.2 Règle de veber :

Des compléments à la règle de Lipinski ont été apportés par la règle de Veber [43]. On a constaté pour un grand ensemble de données de composés chez le rat, que la surface polaire et le nombre de liaisons à libre rotation permettaient de mieux distinguer les composés actifs par voie orale de ceux qui ne le sont pas. Les composés qui répondent positivement aux deux critères ci-dessous présenteront une bonne biodisponibilité orale.

- 10 liaisons à libre rotation au maximum
- Surface polaire de la molécule (PSA) inférieure ou égale à 140 \AA^2

5.2 Simulation des propriétés pharmacocinétiques

Le serveur précédent nous a également servi à calculer les propriétés pharmacocinétiques de nos similaires, en l'occurrence la pénétration de la barrière hémato-encéphalique (BBB), l'absorption gastro-intestinale (GI), la perméabilité cellulaire et l'inhibition des différents cytochromes P450.

5.3 Simulation de la toxicité potentielle

La toxicité potentielle de nos inhibiteurs a été évaluée à l'aide du serveur PreADMET (<https://preadmet.bmdrc.kr/toxicity>). Ce dernier nous a permis de simuler, à partir de la structure 3D d'un inhibiteur, sa toxicité potentielle selon plusieurs tests à savoir : le test d'Ames (évaluer le pouvoir mutagène), le test d'inhibition de la croissance des algues (Algal Growth Inhibition), le test d'immobilisation par *Daphnia magna Straus*, (évaluer la toxicité potentielle aiguë), le test de toxicité aiguë sur les poissons (*Oryzias latipes* et *Pimephales promelas*), le test de cancérogénicité sur les souris et les rats ainsi que le test de l'inhibition du gène ether-a-go-go humain (hERG).

CHAPITRE 2

Résultats et Discussion

1. La fiabilité du programme Surflex :

Avant d'aborder l'étude de l'inhibition de la Lanosterol 14 alpha-déméthylase par diverses molécules, nous avons tenté d'évaluer la fiabilité du programme Surflex utilisé. Pour cela, nous avons fait appel au test de RMSD et l'analyse visuelle.

1.1 Test RMSD

L'efficacité d'un programme à prédire le positionnement exact d'un ligand dans le site actif est évalué par la déviation quadratique moyenne ou RMSD de la position du ligand simulée par le programme Surflex par rapport à celle déterminée expérimentalement qu'on retrouve dans la PDB. La prédiction est jugée correcte lorsque la valeur du RMSD obtenue est $\leq 2\text{\AA}$. Ce test a été réalisé sur une centaine de complexes protéine-ligand choisis arbitrairement à partir de la PDB. Après avoir séparé la protéine de son ligand les 2 fichiers sont enregistrés séparément afin de reconstituer de nouveau le complexe par docking moléculaire et de calculer le RMSD entre la meilleure conformation du ligand générée par surflex (finale 0) et la conformation expérimentale de référence issue de la PDB. Les résultats des 100 complexes sont représentés dans l'Annexe 1.

La figure suivante (figure N° 9) présente les résultats du test RMSD donnés en pourcentage à deux intervalles ($\leq 2\text{\AA}$ et $> 2\text{\AA}$).

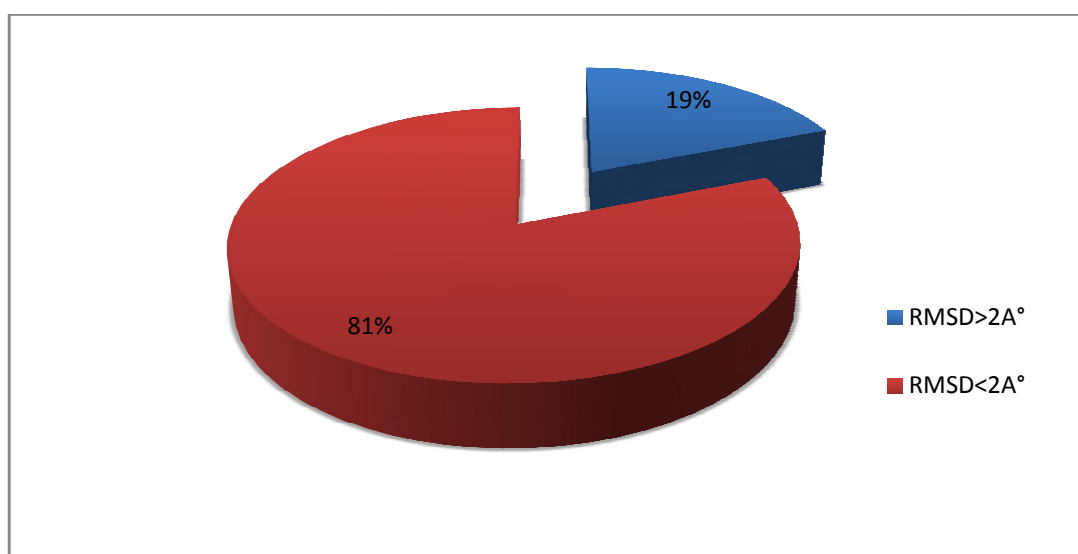


Figure N° 9 : Résultats en % des RMSD obtenus par Surflex

Les résultats du graphe montrent que 81% des valeurs RMSD sont \leq à 2Å alors que seulement 19% sont $>$ à 2 Å. La reproduction des données expérimentales dans de telles proportions, montre que Surfex est fiable et ce conformément aux travaux de TENIOU. S (2012) et CHIKHI. A et BENSEGUENIA (2008) [44] qui montrent que les pourcentages RMSD \leq 2Å sont respectivement de 85.8% et 63%.

Afin de nous assurer davantage de la fiabilité du programme Surfex, nous avons appliqué le test RMSD spécifiquement à trois complexes de notre enzyme Lanosterol 14 alpha-déméthylase se trouvant dans la PDB. Les codes PDB de ces complexes et de leurs inhibiteurs ainsi que les valeurs de leurs RMSD obtenus avec Surfex sont mentionnés dans le tableau N°3

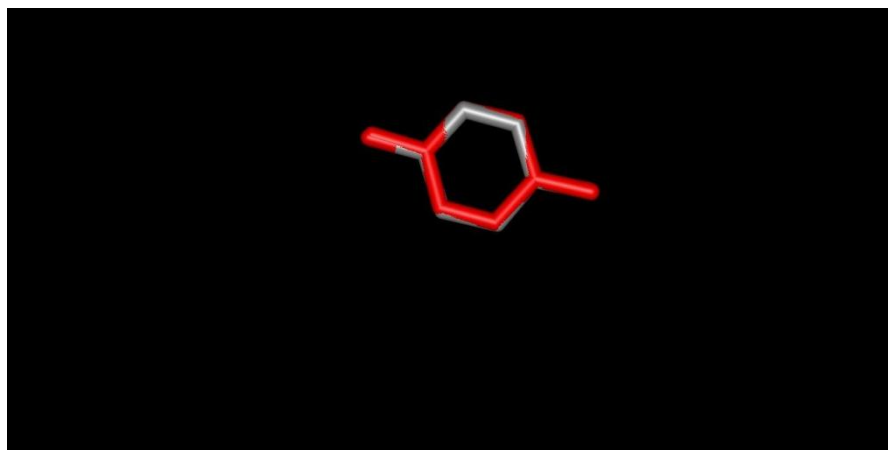
Tableau N° 3 : Valeurs des RMSD des 3 complexes Lanosterol 14 alpha-demethylase-inhibiteur étudiés.

Code PDB des complexes	Code PDB des ligands	RMSD (Å)
4UHL	VFV	1.715
5EAC	TBQ	0.511
5EAG	5LU	1.473

Le tableau montre clairement que le programme Surfex simule correctement les interactions des complexes Lanosterol 14 alpha-déméthylase-inhibiteurs.

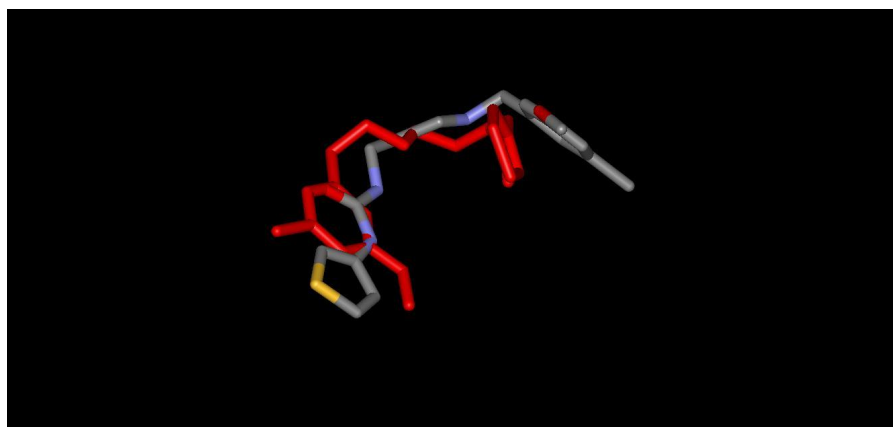
1.2 Analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape essentielle permettant une meilleure appréciation des résultats de RMSD obtenus avec Surfex. Pour cela nous avons choisi arbitrairement 3 complexes de la PDB dont l'un avec une bonne valeur du RMSD $<$ 2 Å (Figure N° 10), un autre avec un RMSD légèrement supérieur à 2 Å (Figure N°11) et un dernier avec un RMSD nettement supérieur à 2Å (Figure N° 12).



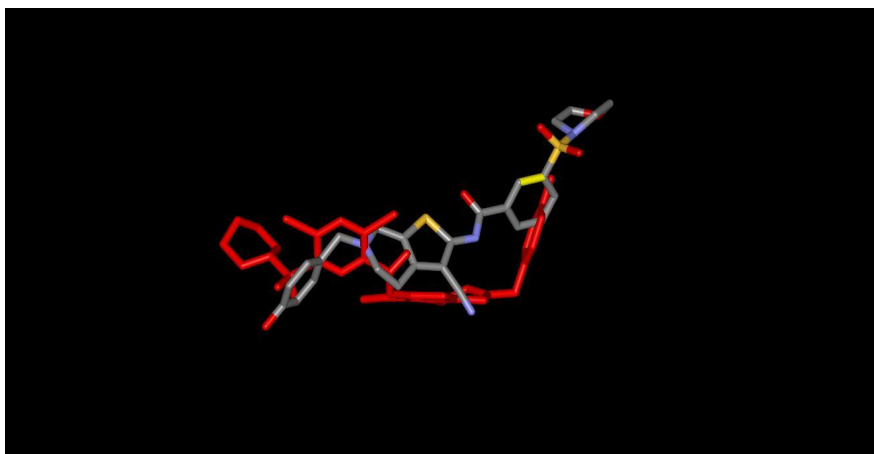
5I3B (RMSD = 0.062Å)

Figure N° 10: Superposition de la géométrie du ligand **HQE** du complexes **3I3B** obtenu par rayon-X (colorés par type d'atomes) et celle calculée par docking moléculaire avec Surflex (colorés en rouge).



4MW1 (RMSD = 2.464Å)

Figure N° 11: Superposition de la géométrie du ligand **44F** du complexes **4MW1** obtenu par rayon-X (colorés par type d'atomes) et celle calculée par docking moléculaire avec Surflex (colorés en rouge).



3ZM5 (RMSD = 3.532Å)

Figure N° 12: Superposition de la géométrie du ligand IGM du complexes **3ZM5** obtenu par rayon-X (colorés par type d'atomes) et celle calculée par docking moléculaire avec Surfex (colorés en rouge).

Dans le premier cas, avec un RMSD de 0.062 Å, on obtient une bonne superposition de solution du docking avec les coordonnées de structure observée expérimentalement. De ce fait la superposition est presque parfaite (figure N° 10). Dans le deuxième cas, avec un RMSD de = 2.464 Å, elle l'est moins (figure N° 11); alors que dans le troisième cas, avec un RMSD de 3.532 Å elle est mauvaise, c'est à dire le ligand arrimé est éloigné du ligand co-cristallisé (figure N° 12).

1.3 Conclusion :

Le test RMSD et l'analyse visuelle apportent la preuve de la haute performance du programme Surfex. Il s'agit d'un outil suffisamment fiable qui peut être utilisé sans trop risque d'erreurs pour étudier les mécanismes d'inhibition de la Lanosterol 14 alpha-déméthylase.

2. Etude de l'inhibition de la Lanosterol 14 alpha-déméthylase

À l'heure actuelle, il existe 3 complexes Lanosterol 14 alpha-demethylase-inhibiteur dans la banque de données PDB et aucune référence bibliographique ne fait état sur le mode d'interaction de ces inhibiteurs envers le site actif de la cible, ni sur leur IC₅₀ ou leur affinité. Il sera donc très intéressant d'envisager une étude *in silico* plus poussée et approfondie, portée sur les mécanismes d'inhibition mis en place par ces composés afin de rationaliser au mieux

la conception de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la Lanosterol 14 alpha-déméthylase. Dans cette perspective, la reconstruction des 3 complexes Lanosterol 14 alpha-demethylase-inhibiteur par docking moléculaire avec Surflex nous a permis d'obtenir des scores afin de révéler le meilleur inhibiteur de cette enzyme.(Tableau N° 4)

Tableau N°4 : scores des 3 complexes Lanosterol 14 α -déméthylase-inhibiteur de la PDB

Code complexe PDB	Code PDB des ligands	Score (affinité M^{-1})
4UHL	VFV	1.10
5EAC	TBQ	-0.45
5EAG	5LU	1.89

Comme le montre le tableau N°4, le composé **5LU** du complexe **5EAG** présente le meilleur effet inhibiteur avec un score d'affinité égale à $1.89 M^{-1}$. L'analyse visuelle montre que le composé **5LU** bloque le site actif de la Lanosterol 14 alpha-déméthylase en formant de nombreuses interactions hydrophobiques avec son site actif. Ces interactions font intervenir les résidus : LEU129, TYR126, ALA125, MET100, LEU95, LEU380, LEU383, PHE 384. Cependant, aucune liaison hydrogène n'a été observée lors de la formation de ce complexe. Ceci est due, au caractère hydrophobe du site actif de cette enzyme incluant des résidus ayant des radicaux hydrophobes tels que Ala, Phe, Val, Leu...etc. (voir figure N°13).

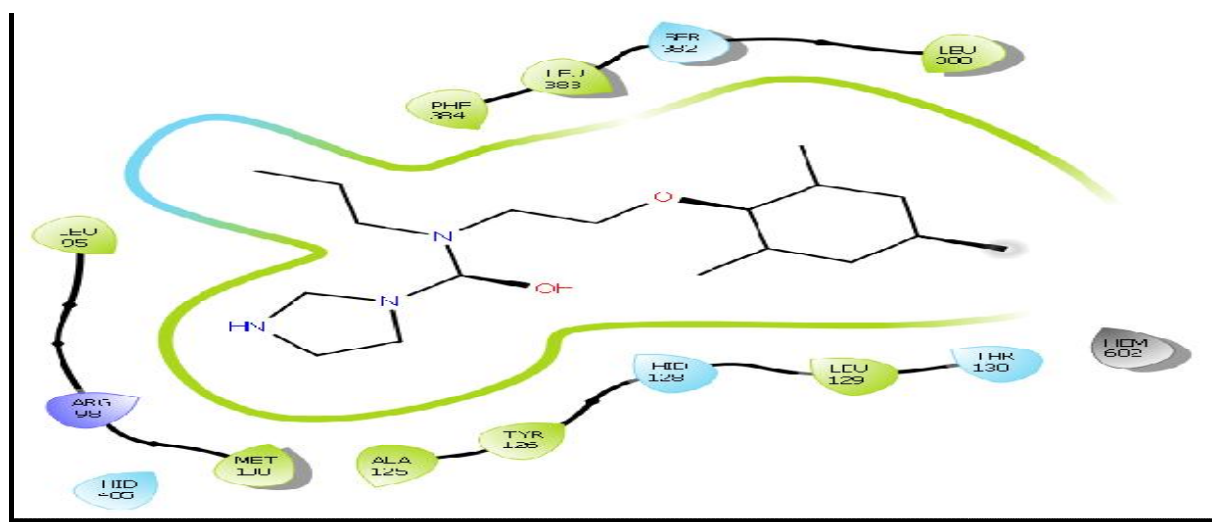


Figure N° 13 : Interactions du ligand **5LU** avec le site actif de la lanosterol 14 α -déméthylase

3. Proposition de nouveaux inhibiteurs

Dans le but de développer de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de la Lanosterol 14 alpha-demethylase, nous avons utilisé comme structure de départ l'inhibiteur ayant présenté la meilleure affinité vis-à-vis de l'enzyme. Dans notre cas il s'agit du composé **5LU** issu du complexe **5EAG**. La banque de données *PubChem* nous propose 138 similaires de l'inhibiteur **5LU**, avec un taux de similarité allant jusqu'à 90%. Dans notre travail, nous avons réalisé le docking moléculaire de ces similaires en évaluant leur affinité envers l'enzyme à l'aide du programme surflex. Les numéros d'accèsion, noms et scores d'affinités de ces composés sont représentés dans l'annexe N°2. Parmi les 138 similaires, il ressort que 83 composés présentent un score supérieur au composé **5LU** de départ dont l'affinité est égale à 1.89 M^{-1} (Tableau N°5).

Tableau N° 5 : scores des interactions des 83 similaires avec la Lanosterol 14 α -déméthylase classés par ordre décroissant

N° de composé	N° d'accèsion	Score
S22	13003419	3.80
S37	18921850	3.79
S38	18960774	3.75
S79	72118819	3.70
S114	96105327	3.70
S3	644423	3.45
S111	96105324	3.38
S10	1596786	3.37
S58	54108773	3.33
S20	13003404	3.31
S115	96110213	3.31
S53	25284812	3.24
S21	13003410	3.21
S5	728851	3.18
S4	662224	3.16
S112	96105325	3.16
S86	75357509	3.07
S126	110439979	2.97
S11	2804749	2.97
S84	72928940	2.97
S14	2853950	2.96

S116	96110215	2.96
S78	72116364	2.96
S131	112723534	2.94
S12	2850473	2.91
S124	109920686	2.91
S6	728852	2.89
S130	112723532	2.89
S136	122176689	2.87
S55	53707745	2.87
S60	54425699	2.86
S62	54541056	2.83
S125	110439978	2.79
S61	54488950	2.78
S31	15284862	2.76
S80	72890684	2.70
S118	97132984	2.70
S101	89472441	2.67
S106	90561084	2.67
S7	759758	2.66
S17	7274583	2.66
S81	72908699	2.65
S8	868433	2.64
S56	53757182	2.63
S102	90295981	2.61
S109	91464306	2.57
S32	15284864	2.56
S123	109464334	2.56
S18	7274584	2.54
S113	96105326	2.52
S74	67677487	2.51
S34	17911530	2.48
S13	2851109	2.45
S9	1111665	2.42
S107	90561592	2.40
S57	54074698	2.40
S105	90533741	2.37
S70	60339951	2.36
S127	110442424	2.32
S43	20471283	2.31

S96	84424199	2.30
S15	4068793	2.28
S19	11450701	2.28
S45	21332501	2.27
S16	4137575	2.25
S104	90533276	2.20
S121	109464164	2.20
S128	110712630	2.20
S129	112722745	2.18
S117	97132983	2.16
S82	72912749	2.14
S63	57213107	2.12
S35	18349582	2.10
S90	82119364	2.06
S83	72926667	2.05
S25	13531959	2.05
S73	62406768	2.01
S59	54226743	2.00
S103	90492669	1.99
S71	60667970	1.93
S64	57255402	1.90
S72	60773401	1.90
	82119369	1.89

Parmi ces similaires, les composés **S22** et **S37** ont particulièrement attiré notre attention car présentant des valeurs d'affinité nettement supérieures à celles de l'inhibiteur de départ **5LU**. D'où l'intérêt de réaliser une analyse visuelle afin de mieux comprendre les mécanismes d'interactions mis en jeu par ces 2 composés avec le site actif de l'enzyme lanosterol 14 α -déméthylase (Figures 14 et 15)

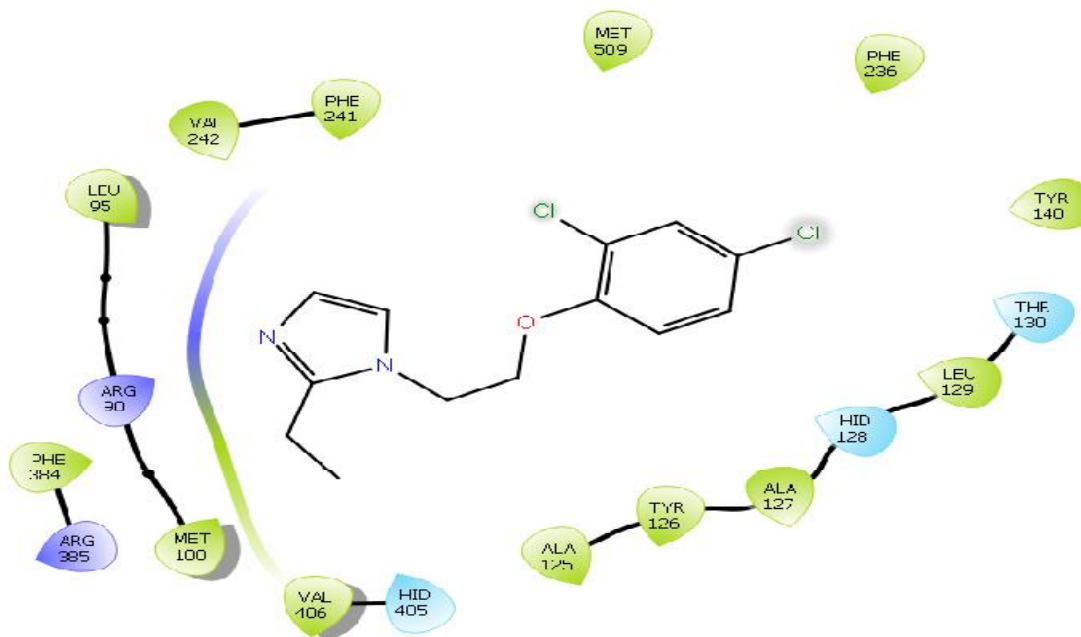


Figure N°14 : Mode d'interaction du composé S22.

L'analyse visuelle nous explique l'augmentation de l'affinité du composé **S22** envers la lanosterol 14 α -déméthylase par la mise en place d'un nombre plus élevé d'interactions hydrophobiques que le composé de départ 5LU. Ces interactions apparaissent entre le composé **S22** et les résidus ALA125, TYR 126, ALA 127, LEU129, TYR 140, PHE 236, MET 509, PHE 241, VAL 242, VAL 406, LEU 95, MET 100, PHE 384, du site actif de l'enzyme.

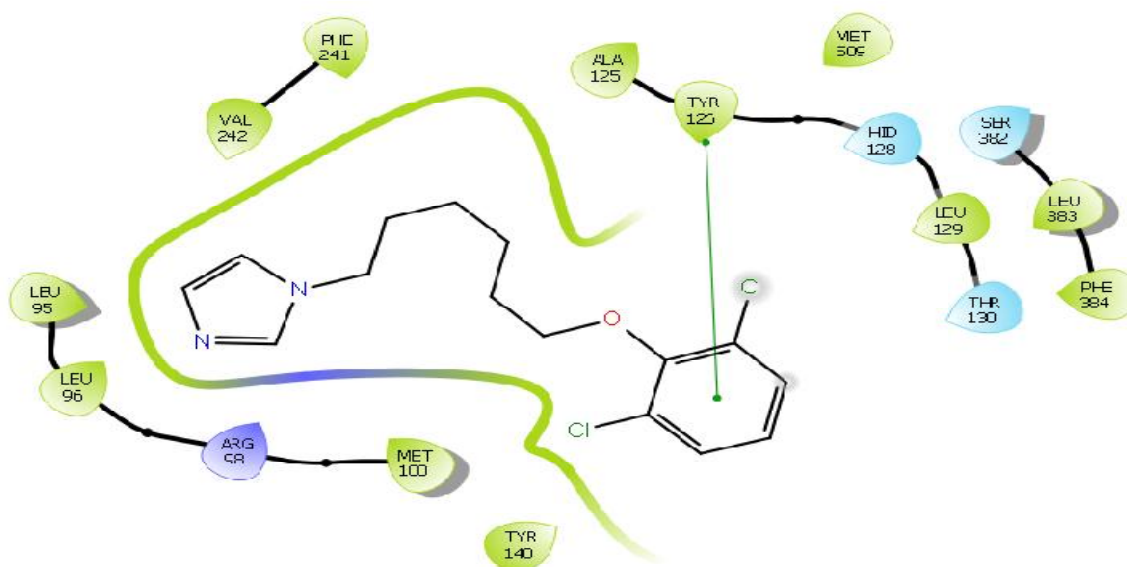


Figure N° 15 : mode d'interaction du composé S37

Le composé **S37** a présenté le deuxième meilleur effet inhibiteur dans cette étude avec un score de 3.79. L'analyse visuelle montre que ce composé est stabilisé au sein du site actif de l'enzyme grâce à une interaction de type Pi-Pi particulièrement avec le cycle benzène du résidu Tyr126. Par ailleurs, de nombreuses interactions hydrophobiques contribuent à la stabilité de ce complexe. Ces interactions sont formées entre l'inhibiteur et 11 résidus du site actif de l'enzyme à caractère hydrophobe pour la plupart. Il s'agit de Leu96, Leu95, Val242, Phe241, Ala125, Tyr140, Met100, Met509, Leu129, Leu383 et Phe348.

4. Prédiction des paramètres ADME

À l'aide du serveur SwissADME, nous avons pu prédire les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques régissant les critères ADME des deux meilleurs similaires inhibant la cible (Tableau N° 6)

Tableau N°6 Propriétés physico-chimiques des similaires **S22** et **S37**

Propriétés	S22	S37
Formule	C ₁₃ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O	C ₁₅ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O
PM (g/mol)	285.17 g/mol	313.22 g/mol
nLF nombre de liaisons flexibles	5	8
nON nombre d'accepteur d'hydrogène	2	2
nOHNH nombre de donneurs H	0	0
Log P	3.38	4.02
TPSA Å ²	27.05 Å ²	27.05 Å ²
Règle de Lipinski	Oui	oui
Règle de Veber	oui	oui
Solubilité dans l'eau	Moyenne	Moyenne
Accessibilité à la synthèse	2.37	2.24

Le tableau montre que les deux composés **S22** et **S37** répondent parfaitement aux règles de Lipinski et de Veber et par conséquent peuvent être administrés par voie orale sans poser de problèmes. Par ailleurs, les composés **S22** et **S37** se sont avérés être moyennement solubles dans l'eau ce qui nous amène à conclure qu'ils peuvent se dissoudre dans les milieux aqueux tel que le sang afin pour parvenir jusqu'à leur lieu d'action. Enfin, avec des valeurs de 2.37 et 2.24 les composés **S22** et **S37** se sont avérés être faciles à synthétiser chimiquement. Ce critère est important avant de proposer un composé comme nouveau inhibiteur d'une cible donnée car les étapes suivantes de l'optimisation consiste à apporter des modifications structurales.

Les résultats du tableau N°7 montrent que les composés **S22** et **S37** ont une perméabilité gastro-intestinale élevée. Donc, ils peuvent traverser facilement le tractus gastro-intestinal à travers la paroi de l'intestin pour arriver jusqu'au sang. De plus, ces composés ont une capacité élevée pour traverser la barrière hémato-encéphalique. En revanche, ces composés inhibent potentiellement 4 parmi les 5 types de Cytochrome P450 étudiées. Il est à souligner que les Cytochromes P450 sont des enzymes hépatiques jouant un rôle clé dans le métabolisme des médicaments.

Tableau N° 7 : Propriétés pharmacocinétiques des similaires S22 et S37

Propriétés	S22	S37
GI absorption	élevée	élevée
BBB perméabilité	élevée	élevée
CYP1A2 inhibition	Positive	Positive
CYP2C19 inhibition	Positive	Positive
CYP2C9 inhibition	Positive	Positive
CYP2D6 inhibition	Positive	Positive
CYP3A4 inhibition	Négative	Négative

5. Prédiction de la toxicité potentielle

Il était indispensable de conforter notre étude en vérifiant *in silico* la toxicité potentielle des composés **S22** et **S37** en utilisant le serveur PreADMET (Tableau N° 8).

Tableau N° 8 : Toxicité potentielle des composés S22 et S37.

Paramètres	S22	S37
Test d'Ames	Mutagène	mutagène
Cancérogénicité pour les souris	négative	négative
Cancérogénicité pour les rats	négative	négative
hERG_inhibition	risque médium	risque médium
algae_at	0.0224263	0.0117626
daphnia_at	0.0460534	0.0352805
medaka_at	0.00373761	0.00224589
minnow_at	0.00585258	0.0021073

. Les résultats du tableau montrent que les deux composés **S22** et **S37** possèdent, selon le test d'Ames, un pouvoir mutagène potentiel ainsi qu'un risque médium d'inhiber le gène hERG. L'inhibition de ce dernier provoque principalement des problèmes cardiaques. Cependant, les composés étudiés ne présentent aucun effet cancérigène potentiel sur des modèles de rats et de souris. Enfin, les tests sur les algues (algae_at), larves (daphnia_at) et poissons (medaka_at et minnow_at) révèlent un faible potentiel de toxicité de ces composés.

Conclusion :

Notre travail avait pour objectif d'acquérir des compétences en docking moléculaire afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de la Lanostérol 14 alpha-déméthylase ; cible thérapeutique pour le traitement des maladies fongique.

Au préalable, nous avons tenté d'évaluer la performance du programme Surflex par deux tests : le premier consiste à calculer le RMSD (Root Mean Square Déviation) entre la meilleure conformation du ligand simulé par le Surflex et celle obtenue par cristallographie au niveau de la PDB. 100 complexes ont été téléchargés à partir de la PDB et testés. Le deuxième critère consiste à analyser visuellement la superposition de la pose du ligand simulée et celle de référence. Les résultats obtenus ont montré que 81 % des valeurs sont inférieurs à 2Å, ainsi qu'une bonne superposition entre la géométrie des ligands calculée par Surflex et celle obtenue expérimentalement. Ces résultats apportent la preuve de la haute performance du programme Surflex. Il s'agit d'un outil suffisamment fiable qui peut être utilisé sans trop risque d'erreurs pour étudier les mécanismes d'inhibition de la Lanosterol 14 alpha-demethylase par inhibiteurs.

Dans une deuxième partie, nous avons reconstruit par docking moléculaire les 3 complexes Lanosterol 14 alpha-demethylase-inhibiteur existant dans la PDB. Avec un score de 1.89, le composé **5LU** du complexe **5EAG** se présente comme meilleur inhibiteur de cette enzyme.

Dans le but de rechercher de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la Lanostérol 14 alpha-déméthylase, nous avons testé ; par docking moléculaire avec Surflex, 138 composés proposés par la banque *PubChem* en nous basant sur la structure du composé **5LU**.

Parmi les 138 similaires analysés par le programme Surflex, les deux composés **S22** et **S37** ont donné les meilleurs scores d'affinités soit 3.80 et 3.79 M⁻¹ et par conséquent peuvent être considérés comme des nouveaux inhibiteurs potentiellement actifs envers la Lanostérol 14 alpha-déméthylase.

La dernière étape de notre travail consistait à vérifier certains critères physicochimiques et pharmacocinétiques des composés **S22** et **S37** régissant leurs propriétés ADME grâce au serveur SwissADME. De même, nous avons simulé leur toxicité potentielle à l'aide du serveur PreADMET. Les résultats obtenus montrent que ces composés possèdent des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques compatibles avec une application

biologique. Cependant, les problèmes notés quant à leur toxicité potentielle seront très utiles lors de l'optimisation de ces composés avant de devenir des candidats-médicament. Les résultats théoriques obtenus *in silico* doivent être complétés et confirmés par des études expérimentales *in vitro* et *in vivo*.

Résumé :

La modélisation moléculaire des interactions inhibiteur-protéine est une méthode utilisée en chimie pharmaceutique, pour la recherche des nouveaux médicaments en utilisant des programmes de docking moléculaire qui permettent de tester des milliers de molécules pour une cible déterminée.

Dans notre travail nous avons fait appel au programme Surflex pour la recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la lanosterol 14 alpha-déméthylase ; une enzyme cible pour le traitement des maladies fongiques.

Les résultats du RMSD ($81\% \leq 2\text{\AA}$) accompagnés par une analyse visuelle, ont montré la fiabilité du programme Surflex.

Le docking a été réalisé sur 138 molécules (similaires de meilleur inhibiteur ; composé 5LU avec un score de 1.89) proposée par la banque de données *PubChem*. D'après les résultats, nous avons sélectionné le composé S22 (CID13003419) et le composé S37 (CID 18921850) présentant les meilleurs scores de 3.80 et 3.79 comme des nouveaux inhibiteurs théoriques plus puissants pour la Lanostérol 14 alpha-déméthylase.

L'application de la règle de Lipinski sur ces 2 composés a permis l'évaluation de leurs propriétés pharmaco-dynamiques ADME qui sont apparus positifs.

Mots clés : Surflex, docking moléculaire, champignons, Lanostérol 14 alpha-déméthylase, inhibiteur, scores, Lipinski.

Abstract:

The molecular modeling of inhibitor-protein interactions is a method used in pharmaceutical chemistry for the research of new drugs using molecular docking programs that can test thousands of molecules for a specific target. In our work a surflex program was used for the research of the Lanostérol 14 alpha-demethylase new more powerful inhibitors in silico; a target enzyme for the treatment of fungal diseases. The results of the RMSD (81% $\leq 2\text{\AA}$) accompanied by a visual analysis showed the reliability of Surflex program. The docking was performed on 138 molecules (similar inhibitors; compound 5LU with the scores 1.89 respectively) proposed by the PubChem database. From the obtained results, compound S22 (CID13003419) and Compound S37 (CID18921850) with the highest scores of 3.80 and 3.79 respectively were selected as new more powerful theoretical inhibitors for Lanosterol 14 alpha-demethylase. The application of the Lipinski rule on these two compounds allowed the evaluation of their pharmacodynamic properties ADME that appeared positive.

Keywords: Surflex, molecular docking, mushroom, Lanosterol 14 alpha-demethylase inhibitor, scores, Lipinski.

الملخص:

النمذجة الجزيئية للتفاعلات (بروتين-مثبط) هو وسيلة تستخدم في الكيمياء الصيدلانية لاكتشاف أدوية جديدة باستخدام برامج الإرساء الجزيئية التي تسمح باختبار آلاف الجزيئات من أجل إنزيم مستهدف.

وقد استخدمنا في عملنا برنامج سيرفلاكس (surfex) من أجل البحث عن مثبطات جديدة فعالة لإنزيم Lanostérole 14 alpha-déméthylase، الذي يعتبر إنزيم مستهدف في علاج الأمراض الفطرية. أثبتت نتائج RMSD ($\leq 2\text{Å}$ 81%) مصحوبة بتحليل بصرية كفاءة برنامج surfex .

بتطبيق النمذجة الجزيئية على 138 جزيئه (شبيهة المثبط الفعال بحصيلة تقدر بـ 1.89) المقترحة من طرف قاعدة البيانات *PubChem* من النتائج المتحصل عليها قمنا باختيار المركبين: المركب S22 (CID13003419) والمركب S37 (CID18921850) اللذين أعطيا أفضل جاذبية محسنة للإنزيم مقدر بـ 3.79 و 3.80 كمثبطات نظرية فعالة جديدة للإنزيم-Lanostérole 14 alpha-déméthylase.

تطبيق قاعدة لينسكي (Lipinski) على المركبين S22 و S37 أعطت نتائج ايجابية للخصائص ADME.

الكلمات المفتاحية برامج الإرساء الجزيئية. سيرفليكس. مثبط. حصيلة. ليبسكي. فطريات.

Lanostérole 14 alpha-déméthylase

Références Bibliographiques

- [1]. Hansch. C. and T. Fujita, r-s-pAnalysis; method for the correlation of biological activity and chemical structure. *Journal of the American Chemical Society*, 1964.86(8): p.1616- 26.
- [2]. Rajyalakshmi S. Gaddipati et col, Dual and selective lipid inhibitors of cyclooxygenases and lipoxygenase: a molecular docking study, *Med Chem Res* (2014) **23**: 3389–3402.
- [3] Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 2003; **3**: 685-702.
- [4] Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL *et al.* Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* Species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *J Clin Microbiol* 2010; **48**: 1366-77.
- [5] Pittet D, Monod M, Suter PM *et al.* *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg* 1994; **220**: 751-8.
- [6] Charles PE, Dalle F, Aube H *et al.* *Candida* spp. colonization significance in critically ill medical patients: a prospective study. *Intensive Care Med* 2005; **31**: 393-400.
- [7] Leon C, Ruiz-Santana S, Saavedra P *et al.* A bedside scoring system ("Candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with *Candida* colonization. *Crit Care Med* 2006; **34**: 730-7.
- [8] Leon C, Ruiz-Santana S, Saavedra P *et al.* Usefulness of the "Candida score" for discriminating between *Candida* colonization and invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill patients: a prospective multicenter study. *Crit Care Med* 2009; **37**: 1624-33.
- [9] Ostrosky-Zeichner L, Sable C, Sobel J *et al.* Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007; **26**: 271-6.
- [10] Metabocard for 4,4-Dimethylcholesta-8,14,24-trienol (HMDB01023)" . *Base de données sur le métabolome humain* .Février 2014.
- [11] Bcd Lepesheva GI, MR de Waterman (mars 2007). "Le cytochrome P450 de stérol 14alpha-déméthylase (CYP51), un P450 dans tous les règnes biologiques" . *Biochimica et BiophysicaActa* . **1770** (3):467–77. doi : 10.1016/j.bbagen.2006.07.018 . PMC 2324071 . PMID 16963187

[12] Daum G, ND Lees, Bard M, R Dickson (décembre 1998). "Biochimie, biologie cellulaire et biologie moléculaire des lipides de *Saccharomyces cerevisiae*". *Levure* **14** (16): 1471–510. *doi* : [10.1002 / \(SICI\) 1097-0061 \(199812\) 14:16 <1471 :: AID-YEA353> 3.0.CO; 2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0061(199812)14:16<1471::AID-YEA353>3.0.CO;2-Y) . *PMID* 9885152.

[13] Bcdefg h Becher R, Wirsal SG (août 2012). "Cytochrome P450 fongique stérol 14 α -déméthylase (CYP51) et résistance à l'azole chez les agents pathogènes des plantes et de l'homme". *Microbiologie appliquée et biotechnologie* . **95** (4): 825–40. *doi* : [10.1007 / s00253-012-4195-9](https://doi.org/10.1007/s00253-012-4195-9) . *PMID* [22684327](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22684327/).

[14] Bcdefg *Lepesheva GI, Waterman MR (janvier 2011)*. "Base structurale pour la conservation dans la famille CYP51". *Biochimica et Biophysica Acta* . **1814** (1): 88–93. *doi* : [10.1016 / j.bbapap.2010.06.006](https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2010.06.006) . *PMC* [2962772](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2962772/) . *PMID* [20547249](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20547249/).

[15] Hargrove TY, Z de Wawrzak, J de Liu, WD de Nes, MR de Waterman, GI de Lepesheva (juillet 2011). "*Les préférences de substrat et les paramètres catalytiques sont déterminés par les caractéristiques structurales de la 14-alpha-déméthylase de stérol (CYP51) de Leishmania infantum*". *Le journal de chimie biologique* . **286** (30): 26838–48. *doi* : [10.1074 / jbc.M111.237099](https://doi.org/10.1074/jbc.M111.237099) . *PMC* [3143644](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3143644/) . *PMID* [21632531](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21632531/)

[16] Podust LM, JP de Kries, Eddine AN, Kim Y, Yermalitskaya LV, Kuehne R, et al. (Novembre 2007). "*Échafaudages à petites molécules pour les inhibiteurs du CYP51 identifiés par criblage à haut débit et définis par cristallographie aux rayons X*". *Agents antimicrobiens et chimiothérapie* . **51** (11): 3915–23. *doi*: [10.1128 / AAC.00311-07](https://doi.org/10.1128/AAC.00311-07) . *PMC* [2151439](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2151439/) . *PMID* [17846131](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17846131/) .

[17] Trzaskos J, Fischer R, Favata M. *J Biol Chem*. 1986; 261 : 16937–16942. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].

[18] Aoyama Y, Yoshida Y, Sonoda Y, Sato Y. *J Biol Chem*. 1989; 264 : 18502-18505. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].

[19] Zarn JA, Bruschiweiler BJ, Schlatter JR. Les fongicides azolés agissent sur la stéroïdogénèse chez les mammifères en inhibant la stérol 14 alpha-déméthylase et l'aromatase. *Environ. Perspective de santé*. 2003; 111 : 255-261. [[Article gratuit de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].

[23] F. Louacheni. Développement d'un portail web pour le criblage virtuel sur la grille de calcul . <http://www.memoireonline.com/>. Master 2 Informatique 2013.

[24] A. Grosdidier. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie 2007.

[25]. Chikhi Abdelouahab, Calculs et modélisations des des interactions peptide de formylase-substances antibactériennes à l'aide de technique « docking » (arrimage) moléculaire (2007) : 126.

- [26]. Helen M. Berman et al., The protein data bank, *Nucleic Acids Research*, (2000), **28**: 235-242.
- [27]. Thomas Lengauer et al., Novel technologies for virtual screening, *Research Focus*, (2004), **9**: 27-34.
- [28] Spyridis F., Cozzini P., Kellogg G. E. Docking and Scoring in drug Discovery. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. 2010;48: 601-684
- [29] En ligne . <http://www.rcsb.org/stats/summary>. Consulter le : [03-032019].
- [30] Nathalie L. Méthode de criblage virtuel : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de doctorat d'université : bioinformatique. Paris : Université Paris-Sud. France. 2014. 314p.
- [31] François M. Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques. Thèse de doctorat de l'université : chimie. Paris sud : Université Paris sud. 2015. 117 p.
- [32] Morris GM, Goodsell D.S, Halliday R.S. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*. 1998; 19: 1639-1662.
- [33] Jones G, Willet P, Glen R.C., Taylor R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *Journal of Molecular Biology*. 1997;267: 727-748
- [34] Ewing T.J, Makino S, Skilman A.G., Kuntz D. Dock 4.0 : search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 2001;15 : 411-428.
- [35] Jain N. Surflex-Dock 2.1 : Robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 2007; 21: 281-306.
- [36] Rayar A.M In silico drug design et chimie médicinale : développement de nouvelles molécules coumariniques, sélective de la cyclooxygénase-2. Thèse de doctorat du Conservatoire National des arts et Métiers. Bioinformatiques. Paris : Ecole doctorale sciences des métiers de l'ingénieur. France. 2017 . 398 p.
- [37] Tyndall, J.D.A., Sabherwal, M., Sagatova, A.A., Keniya, M.V., Wilson, R.K., Woods, M.V., Monk, B.C. 2015-10-16 **Released**: 2016-02-10 .
- [38] Hargrove, T.Y., Wawrzak, Z., Lepesheva, G. 2015-03-24 **Released**: 2016-06-15.
- [39] Strushkevich, N., Tempel, W., MacKenzie, F., Arrowsmith, C.H., Edwards, A.M., Bountra, C., Weigelt, J., Park, H., Structural Genomics Consortium (SGC) 2010-01-12 **Released**: 2010-02-02

[40] C. A. Lipinski, F.Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* .1997; **23**: 3-25.

[41] Calculation of Molecular Properties and Prediction of Bioactivity
<http://www.molinspiration.com/> en ligne consulté le 03/05/2016.

[42] Veber DF, le RS de Johnson, le HY de Cheng, le BR de Smith, le Ward KW, le Kopple KD (juin 2002). "Propriétés moléculaires qui influencent la biodisponibilité orale des candidats-médicaments". *J. Med. Chem* . **45** (12): 2615-23. *CiteSeerX* [10.1.1.606.5270](https://doi.org/10.1.1.606.5270) . *doi* : [10.1021/jm020017n](https://doi.org/10.1021/jm020017n) . *PMID* [1203637](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1203637/).

[43] E .Kellenberger , J.Rodrigo ,P. Muller , D.Rognan .Comparative Evaluation of Eight Docking Tools for Docking and Virtual Screening Accuracy. *Proteins: Structure,Function, and Bioinformatics*. 2004; **57**: 225-242.

[44] A Chikhi ,A Bensegueni . Docking Efficiency Comparison of Surfex, a Commercial Package and Arguslab, a Licensable Freeware. *Journal of Computer Science & Systems Biology* .2008 ; **1**: 081-086.

Annexe 1 : Résultats obtenue de RMSD des complexes protéines-ligands.

N°	Code PDB	Code des ligands	RMSD (Å)
1	1AIM	ZYA	1.547
2	1DIF	A85	1.006
3	1DM2	HMD	1.577
4	1EB2	BPO	1.787
5	1G36	R11	1.601
6	1HPX	KNI	1.525
7	1IDA	0PO	1.638
8	1IDB	0DO	1.322
9	1JS3	142	1.072
10	1K1I	FD1	1.609
11	1K1J	FD2	2.018
12	1K1L	FD3	2.129
13	1K1M	FD4	2.089
14	1K1N	CCR	1.115
15	1K1O	IGN	1.621
16	1K1P	MEL	0.910
17	1N7I	LY1	1.383
18	1N7J	IDI	0.065
19	1OI9	N20	2.045
20	1RTH	U05	1.717
21	1RTI	HEF	2.372
22	1VRT	NVP	1.255
23	1YKR	628	1.964
24	1YZ3	SKA	1.221

25	1ZVX	FIN	0.451
26	2AN5	TTL	1.398
27	2EEP	AIO	1.377
28	2FR6	CTN	2.256
29	2FS9	C4A	1.770
30	2G5P	ADF	1.016
31	2G70	HNT	7.999
32	2G71	FTS	1.277
33	2HBU	UN9	0.133
34	2I78	KIQ	0.936
35	2OBF	F83	0.384
36	2ONZ	TMJ	0.505
37	2OPB	F21	1.137
38	2OPH	277	1.628
39	2QDH	M2P	1.534
40	2QJR	PZF	1.513
41	2R4B	GW7	0.891
42	2RJP	886	3.223
43	2RJQ	BAT	1.456
44	2V35	J54	1.116
45	2XBU	5GP	2.349
46	2XEY	YVQ	1.804
47	2Y9X	0TR	0.047
48	2ZJF	BSU	0.729
49	3BIZ	61E	1.733
50	3C56	PH4	1.111
51	3N9R	TD3	0.709

52	3N9S	TD4	1.201
53	3NQ1	KOJ	1.114
54	3PCG	4HP	0.120
55	3Q2A	PAB	0.303
56	3Q3M	Z82	0.039
57	3QQK	X02	0.575
58	3R8Z	Z63	1.376
59	3VLL	SHA	0.348
60	3VP2	BP0	0.036
61	3VP3	BP8	1.431
62	3VP4	BP9	0.450
63	3VVG	ZGB	16.029
64	3ZM5	IGM	3.532
65	4CDL	LLK	0.200
66	4E3M	0ND	2.496
67	4G2R	H1L	0.561
68	4GLW	0XT	0.051
69	4GLX	0XS	1.322
70	4IU6	FZ1	0.121
71	4JBS	P52	1.707
72	4MIK	JIL	1.196
73	4MP7	PFT	1.785
74	4MPC	PV2	1.684
75	4MQ4	2D5	45.423
76	4MW1	44F	2.464
77	4NCM	704	2.291
78	4PES	2PJ	1.391

79	4PNC	7NP	0.054
80	4R68	W31	1.648
81	4WK7	3PQ	1.314
82	4WKE	3PU	1.588
83	4WKI	3PW	1.256
84	4ZSD	7I6	1.666
85	4ZX4	4TL	0.828
86	5FI2	5XX	1.254
87	5FI6	5XY	2.750
88	5FI7	5XZ	1.216
89	5I3A	HQE	0.034
90	5I38	KOJ	1.485
91	5I3B	HQE	0.062
92	5TFT	P6U	0.927
93	5URS	8LA	1.495
94	5W8H	9Y1	0.273
95	4UHL	VFV	1.715
96	5EAC	TBQ	0.511
97	5EAG	5LU	1.473
98	5EAF	FQC	2.183
99	3LD6	KKK	2.111
100	3QTQ	X35	2.095

Annexe 2 : Listes des similaires

S1	73665	0.97
S2	183912	0.88
S3	644423	3.45
S4	662224	3.16
S5	728851	3.18
S6	728852	2.89
S7	759758	2.66
S8	868433	2.64
S9	1111665	2.42
S10	1596786	3.37
S11	2804749	2.97
S12	2850473	2.91
S13	2851109	2.45
S14	2853950	2.96
S15	4068793	2.28
S16	4137575	2.25
S17	7274583	2.66
S18	7274584	2.54
S19	11450701	2.28
S20	13003404	3.31
S21	13003410	3.21
S22	13003419	3.80
S23	13044632	1.54
S24	13344572	1.79
S25	13531959	2.05

S26	13672253	0.63
S27	14181966	0.78
S28	14181990	0.41
S29	14695191	0.90
S30	14695192	1.10
S31	15284862	2.76
S32	15284864	2.56
S33	15800955	0.86
S34	17911530	2.48
S35	18349582	2.10
S36	18417989	0.47
S37	18921850	3.79
S38	18960774	3.75
S39	19003931	0.29
S40	19832410	0.28
S41	19871610	1.75
S42	20292002	0.70
S43	20471283	2.31
S44	21319510	1.39
S45	21332501	2.27
S46	21332502	1.43
S47	21332503	0.62
S48	21584635	1.52
S49	21667372	1.14
S50	21740880	1.84
S51	23331858	0.13
S52	23331868	0.88
S53	25284812	3.24

S54	25284901	1.71
S55	53707745	2.87
S56	53757182	2.63
S57	54074698	2.40
S58	54108773	3.33
S59	54226743	2.00
S60	54425699	2.86
S61	54488950	2.78
S62	54541056	2.83
S63	57213107	2.12
S64	57255402	1.90
S65	57306617	0.13
S66	57424170	0.70
S67	59229518	0.45
S68	59310710	1.49
S69	59936463	1.00
S70	60339951	2.36
S71	60667970	1.93
S72	60773401	1.90
S73	62406768	2.01
S74	67677487	2.51
S75	67848524	0.84
S76	68485421	1.75
S77	68649465	1.15
S78	72116364	2.96
S79	72118819	3.70
S80	72890684	2.70
S81	72908699	2.65

S82	72912749	2.14
S83	72926667	2.05
S84	72928940	2.97
S85	72934432	1.81
S86	75357509	3.07
S87	82089109	1.67
S88	82116791	1.17
S89	82116792	1.05
S90	82119364	2.06
S91	82119365	1.42
S92	82119369	1.89
S93	82120206	1.39
S94	82122448	-0.33
S95	82123482	1.30
S96	84424199	2.30
S97	84424783	1.48
S98	85631968	1.22
S99	85631970	1.36
S100	85631973	1.32
S101	89472441	2.67
S102	90295981	2.61
S103	90492669	1.99
S104	90533276	2.20
S105	90533741	2.37
S106	90561084	2.67
S107	90561592	2.40
S108	91157607	1.04

S109	91464306	2.57
S110	94280847	1.34
S111	96105324	3.38
S112	96105325	3.16
S113	96105326	2.52
S114	96105327	3.70
S115	96110213	3.31
S116	96110215	2.96
S117	97132983	2.16
S118	97132984	2.70
S119	97153746	1.47
S120	97153747	1.81
S121	109464164	2.20
S122	109464186	1.22
S123	109464334	2.56
S124	109920686	2.91
S125	110439978	2.79
S126	110439979	2.97
S127	110442424	2.32
S128	110712630	2.20
S129	112722745	2.18
S130	112723532	2.89
S131	112723534	2.94
S132	117094730	1.21
S133	122176686	-0.19
S134	122176687	0.70
S135	122176688	1.76

S136	122176689	2.87
S137	122176693	0.47
S138	129318210	0.93

Simulation par docking moléculaire des interactions enzyme-inhibiteur : cas de la Lanostérole 14 alpha-déméthylase

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en
Biochimie Appliquée

Résumé :

La modélisation moléculaire des interactions inhibiteur-protéine est une méthode utilisée en chimie pharmaceutique, pour la recherche des nouveaux médicaments en utilisant des programmes de docking moléculaire qui permettent de tester des milliers de molécules pour une cible déterminée.

Dans notre travail nous avons fait appel au programme Surflex pour la recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la lanostérol 14 alpha-déméthylase ; une enzyme cible pour le traitement des maladies fongiques.

Les résultats du RMSD ($81\% \leq 2\text{\AA}$) accompagnés par une analyse visuelle, ont montré la fiabilité du programme Surflex.

Le docking a été réalisé sur 138 molécules (similaires de meilleur inhibiteur ; composé 5LU avec un score de 1.89) proposée par la banque de données *PubChem*. D'après les résultats, nous avons sélectionné le composé S22 (CID13003419) et le composé S37 (CID 18921850) présentant les meilleurs scores de 3.80 et 3.79 comme des nouveaux inhibiteurs théoriques plus puissants pour la Lanostérol 14 alpha-déméthylase.

L'application de la règle de Lipinski sur ces 2 composés a permis l'évaluation de leurs propriétés pharmaco-dynamiques ADME qui sont apparus positifs.

Mots clés : Surflex, docking moléculaire, champignons, Lanostérol 14 alpha-déméthylase, inhibiteur, scores, Lipinski.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie Appliquée

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr. CHIKHI A. (Pr. Université Frères Mentouri Constantine 1).

Rapporteur : Mr. MOKRANI E.H. (M.A.A Université Frères Mentouri Constantine 1).

Examineur : Mme. TENIOU.S. (M.A.A Université Frères Mentouri Constantine1).

Date de soutenance : 11/07/2019

