



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 des Frères Mentouri Constantine1

جامعة الأخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de 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:

Application du Docking moléculaire par SURFLEX Pour la mise en évidence des nouveaux inhibiteurs de la Kinase dépendante de la cycline 2 (CDK2)

Présenté et soutenu par : GHADHAB EL-HADJ TAYEB

Soutenu le : 13/09 /2020

SOUFI MAROUA

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr BENSEGUENI . A

Pr. Université des Frères Mentouri Constantine1

Rapporteur : Mr CHIKHI. A

Pr. Université des Frères Mentouri Constantine1

Examinatrice : Mme TENIOU. S

M.A.A Université des Frères Mentouri Constantine1

Année universitaire

2019 -2020

Remerciements

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements
Et notre profonde reconnaissance à tous ceux et celles
qui nous ont accompagnés et qui nous ont tant appris
au cours de cette longue expérience avec gentillesse et amour.*

*Nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné le
courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.*

Nous tenons tout d'abord, à remercier :

- notre encadreur Pr. CHIKHI. A, qui nous a accompagnés
durant toute la période de cette étude avec beaucoup de
patience et de savoir-faire. Sa gentillesse, sa disponibilité et ses
qualités humaines nous ont été d'une aide précieuse.*
- Pr. BENSEGUENI A pour avoir accepté la charge de présider le
jury de ce mémoire.*
- à Mme TENIOU S, pour avoir accepté de juger ce travail. Nous
somme honorer de la compter parmi les membres de ce jury.*
- Nous tenons aussi à remercier tous les enseignants qui nous ont
transmis notre savoir actuel tout au long de notre cursus.*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, L'amour, le
respect, la reconnaissance... Aussi, c'est tout simplement que*

Je dédie ce travail...

À MES CHERS PARENTS

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et
ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon
instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour
que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction
m'accompagnera pour toujours.*

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de
vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.*

*A mon époux le plus cher de mon cœur ; **Hassan** en remerciement pour son
amour, son soutien infailible et de sa patience exemplaire.*

*A ma fleur d'amour, ma petite étoile de force ; **Ghozlen**.*

*A la mémoire de mon défunt frère **Mustapha** que je garde au plus profond de
mon cœur.*

*A mes chers frères et leur femmes ; **Walid** et **Sara**, **Ramzi** et **Wided** et mon petit
cœur **Wafik** qui été toujours ma force durant mes années d'études.*

*A mes sœurs ; **Ikram** et **Lilya** pour votre sacrifices sans limites.*

*A mes adorables neveux ; **Deyen**, **kinane** et **Dina** que j'adore.*

*À Mon amie de toujours : **Ghozlen Afrit** en souvenir de notre sincère et
profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés
ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le
plus profond et mon affection la plus sincère.*

*A mon binôme ; **Ghadhab el haj Tayeb** d'avoir eu le courage pour
clôturer ce travail.*

**À TOUTES LES PERSONNES QUI ONT PARTICIPÉ A
L'ÉLABORATION DE CE TRAVAIL ET TOUS CEUX QUE
J'AI OMIS DE CITER**

SOUFI.M



Je dédie ce travail...

A ma mère,

Ma raison d'être, la lanterne qui éclaire mon chemin et m'illumine d'affection et d'amour, Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Je demande à Dieu de vous donner la santé, le bonheur et une longue vie.

A mes sœurs Hadjer et Meriem, et à tous mes proches.

A mes amis Amine. Nazim. Haïder et Selma en signe d'amour et de gratitude pour tous les soutiens et les sacrifices dont ils ont fait preuve à mon égard.

À ma binôme Soufi Maroua Pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

À Tous mes amies, et mes collègues de la promotion de master Biochimie Appliquée.

À tous mes enseignants durant les années d'études.

Enfin, je présente mes remerciements à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour leurs orientations et leurs conseils.

Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire

Elhamdoulillah

Résumé

Application du Docking moléculaire par SURFLEX Pour la mise en évidence des nouveaux inhibiteurs de la Kinase dépendante de la cycline 2 (CDK2)

La **kinase dépendante de la cycline 2** représente une cible importante pour les traitements anticancéreux.

Dans le but de concevoir de nouveaux composés à meilleur effet inhibiteur que le composé «**CK2**» qui agit sur la cible **cdk2**, enzyme impliquée dans les tumeurs. Le programme de docking moléculaire **Surflex** a été développé pour aider à la mise au point des molécules à activité thérapeutique. Avec un taux de valeurs de **RMSD** inférieures ou égales à **2 Å** de **65,5 %** et un **coefficient de corrélation** de **-0,63**, les performances du programme **Surflex** sont avérées. Ce test a été suivi d'une analyse visuelle de la superposition des ligands de référence et ceux obtenus par docking moléculaire.

Un criblage virtuel a été effectué sur une collection de **236 structures** avec un taux de similarité de **92%** à notre ligand de référence ont été téléchargés à partir de la chimiothèque «**PubChem**» afin d'évaluer leur affinité envers la **cdk2**. Parmi les **236** structures, **22** composés ont présenté des affinités supérieures à celle de notre ligand qui est de **4.63M⁻¹**.

Les résultats du criblage virtuel par le logiciel **Surflex** nous a permis de sélectionner les **5** meilleurs composés qui peuvent être proposés comme meilleurs inhibiteurs de notre cible thérapeutique **cdk2** et pour lesquels nous avons fait une analyse détaillée des diverses interactions.

Nous avons complété nos essais de modélisation structurale par **20 mono substitutions** et **35 bi substitutions**, dans le but d'améliorer son action inhibitrice. Parmi lesquelles **dix-sept (17)** composés substitués ont eu des affinités améliorées :

La mono substitution concerne **20** composés et a permis une amélioration de l'affinité pour **8** composés ; la meilleure (**8.95 M⁻¹**) étant celle du composé **n°1**.

De la bi substitution résulte **35** composés parmi lesquels **neuf (9)** ont des affinités améliorées supérieures à **8.95 M⁻¹** ; la meilleure étant celle du composé **n°29** qui égale à **9.62 M⁻¹**.

Enfin, l'application de **la règle de Lipinski** nous informe de manière positive sur les propriétés physicochimiques de ces nouvelles molécules ainsi que sur leur biodisponibilité par voie orale comme médicament qui ne posera aucun problème.

Il est nécessaire de vérifier et valider nos résultats théoriques par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo*.

Mots clés : Docking moléculaire, Criblage virtuel, Surflex, RMSD, cdk2, Cancer, Inhibition, Lipinski.

Abstract

Application of Molecular Docking by SURFLEX for the demonstration of new inhibitors of Cyclin 2-dependent Kinase (CDK2)

Cyclin 2-dependent kinase is an important target for **cancer treatments**.

In order to design new compounds with better inhibitory effects than the compound «**CK2**» which acts on the target **cdk2**, an enzyme involved in tumors. The **Surflex** molecular docking program was created to help the development of therapeutic molecules. With a rate of **RMSD** values less than or equal to **2 Å** of **65%** and a **correlation coefficient** of **-0.6**, the performances of the **Surflex** program are proven. This test was followed by a visual analysis of the superposition of the reference ligands and those obtained by molecular docking.

A virtual screening was carried out on a collection of **236 structures** with a similarity rate of **92%** our reference ligand was downloaded from the "**PubChem**" library in order to assess their affinity for **cdk2**. Among the **236 structures**, **22** compounds exhibited affinities greater than that of our ligand which is **4.63M⁻¹**.

The results of the virtual screening by the **Surflex** software allowed us to select the **5** best compounds which can be proposed as the best inhibitors of our therapeutic target **cdk2** and for which we have made a detailed analysis of the various interactions. We have completed our structural modelling trials with **20 mono substitutions** and **35 bi substitutions**, with the aim of improving its inhibitory action. Among which **seventeen (17)** substituted compounds had improved affinities:

Mono substitution involves **20** compounds and has improved affinity for **8** of them: the best (**8.95 M⁻¹**) being that of compound **n° 1**.

Bi-substitution results in **35** compounds of which **nine (9)** have improved affinities greater than **8.95 M⁻¹**; the best being that of compound **N° 29** which is equal to **9.62 M⁻¹**.

Finally, the application of the **Lipinski rule** informs us positively about the physicochemical properties of these new molecules as well as their bioavailability by oral route as a drug which will not pose any problem.

It is necessary to verify and validate our theoretical results by an experimental study *in vitro* and/or *in vivo*.

Keywords: molecular docking, virtual screening, Surflex, RMSD, cdk2, cancer, inhibition, Lipinski.

ملخص

تطبيق الالتحام الجزيئي بواسطة برنامج SURFLEX لتطوير مثبطات جديدة لـ Kinase cycline 2

يمثل **kinase cycline 2** مركبا مهماً للعلاجات المضادة للسرطان.

بهدف اكتشاف مركبات جديدة ذات تأثير مثبط أفضل من مركب «CK2» الذي يؤثر على **cdk2** وهو أنزيم يشارك في تفاعل الأورام , تم تطوير برنامج الإرساء الجزيئي **Surflex** للمساعدة في تطوير الجزيئات ذات النشاط العلاجي حيث تحصلنا على معدل قيم **RMSD** أقل من أو يساوي 2 \AA بنسبة **65%** ومعامل الارتباط **-0.63** , حيث تم إثبات أداء برنامج **Surflex** . تتبع هذا الاختبار تحليل بصري لآلية إلتحام المركبات المرجعية وتلك التي تم الحصول عليها عن طريق الإرساء الجزيئي.

تم إجراء فحص افتراضي على **236** جزيئة بمعدل تشابه بنسبة **92%** إلى مركباتنا المرجعية التي قمنا بتنزيلها من مكتبة المواد الكيميائية "**PubChem**" من أجل تقييم تقاربها نحو **cdk2** . من بين **236** جزيئة ، أظهر **22** مركبًا تجاذبا و ترابطا أكبر من المثبط المرجعي التي تبلغ 4.63 M^{-1}

سمحت لنا نتائج الفحص الافتراضي بواسطة برنامج **Surflex** باختيار أفضل **5** مركبات يمكن اقتراحها كأفضل مثبطات للهدف العلاجي **cdk2** وقد قمنا بتحليل مفصل للتفاعلات المختلفة .

أكملنا اختبارات الاستبدال والنمذجة الهيكلية بتحصلنا على **20** استبدالاً أحاديًا و **35** استبدالاً ثنائيًا ، بهدف تحسين عملها المثبط من بينهم **سبعة عشر (17)** مركبا كانت لهم صلات محسنة :

تعلق الاستبدال الأحادي بـ **20** مركبًا سمح بتحسين التقارب لـ **8** منها ؛ الأفضل هو المركب **1** (8.95 M^{-1})

أما نتائج الاستبدال الثنائي فهي ممثلة في **35** مركبًا تسعة (9) منها لها تقارب محسن أكبر من 8.95 M^{-1} , الأفضل هو المركب رقم **29** والذي يساوي 9.62 M^{-1} .

أخيرًا ، يُعلمنا تطبيق قاعدة **Lipinski** بطريقة إيجابية عن الخصائص الفيزيوكيميائية لهذه الجزيئات الجديدة بالإضافة إلى توفرها البيولوجي عن طريق الفم كدواء لن يطرح أي مشكلة.

من الضروري التحقق والتأكد من صحة نتائجنا النظرية من خلال دراسة تجريبية في المختبر و/ أو على الأجسام الحية.

الكلمات الدالة : الإرساء الجزيئي ، الفرز الظاهري ، **Surflex** ، **RMSD** ، **cdk2** ، تثبيط ، السرطان، **Lipinski**

SOMMAIRE

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction.....1

CHAPITRE 1 : généralités sur le cancer

1. Le cancer	3
1.1. Généralités	3
1.2. Définition	4
1.3. La cancérogenèse	5
1.3.1. Propriétés des cellules cancéreuses.....	5
1.3.2. Les étapes de la cancérogenèse.....	6
1.4. Les différentes classifications du cancer	6
1.5. Les chiffres du cancer	7
1.6. Les causes du cancer	7
1.7. La prévention et le dépistage	8
1.8. Les différents types de cancer liés à la Cdk2	9
1.8.1. Les cancers du sein	9
1) Définition.....	9
2) Epidémiologie.....	9
2.1) Statistiques mondiales (OMS 2018)	9
2.2) Statistiques nationales.....	9
1.8.2 Les cancers du poumon	9
1) Définition.....	9

2) Epidémiologie.....	10
2.1) Statistiques mondiales (OMS 2018)	10
2.2) Statistiques nationales.....	10
1.8.3 Le cancer du côlon.....	10
1) Définition...../.....	10
2) Epidémiologie.....	11
2.1) Statistiques mondiales (OMS 2018)	11
2.2) Statistiques nationales.....	11

CHAPITRE 2 : Les kinases cycline dépendantes (cdk2)

1. Généralités.....	12
2. Nomenclature et classification des CDK.....	13
3. Structure générale.....	14
4. L'enzyme Cdk2	15
4.1. Domaine catalytique.....	16
4.2. Mécanisme d'action.....	16
5. Les inhibiteurs de CDK2.....	17

CHAPITRE 3: Le Docking Moléculaire

1. Introduction	19
2. Le Docking moléculaire.....	19
3. Principe de Docking moléculaire.....	20
4. Types de Docking.....	20
5. Applications.....	21
6. Les algorithmes de recherche.....	21
6.1. Méthodes systématiques	21
6.2. Méthode stochastique (génétique)	21
6.3. Méthodes de Simulation.....	22
7. Fonctions de score.....	22
7.1. Fonctions de score basées sur les champs de force.....	22

7.2. Fonctions de score empiriques.....	23
7.3. Fonctions de score basées sur la connaissance « knowledge-based »	23
7.4. Fonctions de score consensus.....	23
8. Les principales classes d'interaction.....	24
8.1. La notion d'électronégativité.....	24
8.2. Les liaisons ioniques.....	25
8.3. Les liaisons hydrogène.....	25
8.4. Les interactions dipolaires impliquant un dipôle permanent.....	26
8.5. Les interactions de Van der Waals.....	26
8.6. Les interactions entre systèmes π	27
8.7. Les interactions cation- π	27
8.8. Les interactions impliquant des métaux.....	28
9. Les Outils de Docking.....	29
9.1. Le récepteur.....	29
9.2. Ligand.....	29
9.3. Programme	29

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE 4: Matériel et Méthodes

I. Matériel	32
1. Micro-ordinateur.....	32
2. Les banques de données et les sites internet.....	32
3. Les programmes.....	33
II. Méthodes.....	34
1. Docking moléculaire (D.M)	34
2. Tests d'évaluation de la fiabilité du docking.....	34
2.1 Coefficient de corrélation linéaire (r)	34
2.2 Le RMSD ou l'écart quadratique moyen.....	34
3. Le choix du complexe 4fkl.....	35
4. Préparation des molécules au docking moléculaire.....	36
4.1 Préparation de la protéine.....	36
4.2 Préparation des ligands	36

4.3 Les étapes du docking	36
5. Recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques de la cdk2.....	37
5.1 Le criblage virtuel.....	37
5.2 La modélisation moléculaire par substitution in silico.....	39
6. Filtrage ADME/Tox	39
7. Analyse visuelle des interactions établies entre le ligand et les acides aminés du site actif.....	40

CHAPITRE 5: Résultats et Discussion

1. Tests de fiabilité du programme SURFLEX	41
1.1 Le test RMSD	41
1.2 L'analyse visuelle	43
1.3 Le coefficient de corrélation (r)	46
2. Etude et recherche de nouveaux inhibiteurs de la cdk2.....	49
2.1 Le criblage virtuel des similaires.....	49
2.1.1 La règle de cinq de Lipinski.....	54
2.1.2 L'analyse visuelle et discussion des interactions.....	55
2.2 Essais de modélisation moléculaire.....	67
2.2.1 Évaluation pharmacologique « Drug-Likeness »	71
2.2.2 L'analyse visuelle et discussion des interactions	74

CONCLUSION	82
-------------------------	-----------

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Liste des tableaux

Tableau 1 Cdk connues avec leurs cyclines partenaires et leurs fonctions chez l'être humain.	14
Tableau 2 Adresses des principaux programmes de Docking moléculaire.	30
Tableau 3 Les micro-ordinateurs utilisés et leurs caractéristiques.	32
Tableau 4 Les caractéristiques pharmacologiques du ligand de référence.	35
Tableau 5 Résultat de l'analyse entre les Affinités obtenus par Surfex et les log IC50 des ligands déterminer expérimentalement de la pdb.	46
Tableau 6 Les 22 meilleurs similaires, leurs affinités et leurs structures.	49
Tableau 7 Les paramètres de la règle de cinq de Lipinski des 5 meilleurs similaires.	54
Tableau 8 Les paramètres de la règle de cinq de Lipinski des 5 meilleurs similaires.	56
Tableau 9 Les liaisons hydrogène établies par le composé 2 avec le site actif.	59
Tableau 10 Les liaisons hydrogène établies par le composé 3 avec le site actif.	61
Tableau 11 Les liaisons hydrogène établies par le composé 4 avec le site actif.	64
Tableau 12 Les liaisons hydrogène établies par le composé 5 avec le site actif.	66
Tableau 13 Les mono et bi substitutions de 4fkl.	68
Tableau 14 Les Propriétés physico-chimiques des meilleurs composés de la substitution (mono et bi), le ligand de référence et le meilleur similaire.	72
Tableau 15 Les liaisons hydrogène établies par le ligand similaire avec le site actif.	75
Tableau 16 Les liaisons hydrogène établies par le ligand de référence avec le site actif.	77
Tableau 17 Les liaisons hydrogène établies par le meilleur ligand monosubstitué avec le site actif.	79
Tableau 18 Les liaisons hydrogène établies par le meilleur ligand monosubstitué avec le site actif.	81
Tableau 19 Les résultats des calculs des 200 complexes utilisés pour tester la fiabilité de programme Surfex.	91
Tableau 20 Les résultats du criblage par Surfex des similaires du ligand 4fkl.	94

Liste de figures

Figure 1 Cellule mutante à l'origine d'un clone (D'après ALBERTS B., JOHNSON A., Biologie moléculaire de la cellule, 4e édition, Flammarion - © Réseau Canopé 2015).....	3
Figure 2 Cellule cancéreuse (https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/cancer/11745). .	4
Figure 3 Propriétés des cellules cancéreuses (https://www.researchgate.net/figure/Proprietes-dune-cellule-cancereuse-dapres_fig1_325682302).	5
Figure 4 Les étapes de cancérogenèse (https://www.oncolie.fr/wp-content/uploads/2014/01/1-BAZAN-Fernando-CANCEROGENESE-EPIDEMIO-2014.pdf).6	
Figure 5 Schéma présente le rôle de chaque CDK au cours du cycle cellulaire. M=Mitose; G1=Phase G1; S=Phase S; G2=Phase G2. (https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/cycle-cellulaire/la-regulation-du-cycle-cellulaire)	13
Figure 6 Structure générale de CDK. (Walter Filgueira De Azevedo Jr et al., Oct 2013)	15
Figure 7 Idéogramme chromosome 12 humain. (https://ghr.nlm.nih.gov/gene/CCNE1).	16
Figure 8 Structure cristallographique de CDK2 sans et avec la cycline A. (Malumbres, Marcos ., 2014).	16
Figure 9 Mécanisme d'action de CDk2 au niveau du cycle cellulaire. (Marie-Claude Lebart, Jean Mariani., 2004).	17
Figure 10 Structure et activité des inhibiteurs de CDK2.	18
Figure 11 Représentation schématique du Docking de deux molécules. (A) protéine. (B) Ligand. (C) Complexe moléculaire. (Laurent Hoffer, Université de Strasbourg., 2013).....	20
Figure 12 Impact sur une liaison covalente de la différence d'électronégativité entre les atomes la constituant (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoinformatique, 2013).....	24
Figure 13 La liaison ionique. (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoinformatique, 2013).....	25
Figure 14 La liaison hydrogène. (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoinformatique, 2013).....	26
Figure 15 Interactions de London. (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoinformatique, 2013).....	26
Figure 16 Les différentes configurations d'interactions non liées π - π . (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoinformatique, 2013).....	27

Figure 17 L'interaction non liée cation- π . (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoinformatique, 2013).....	28
Figure 18 Exemples de liaison de coordination ligand-ion métallique. (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoinformatique, 2013)	28
Figure 19 Comparaison des programmes de Docking les plus cités.....	30
Figure 20 Structure tridimensionnelle du complexe 4fkl.....	35
Figure 21 les résultats obtenus par Surfex selon la nouvelle commande utiliser	38
Figure 22 L'anneau bleu représentant le pourcentage des RMSD inférieurs à 2Å obtenus par Surfex.....	42
Figure 23 Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surfex (coloré en vert) du complexe 2WXV (RMSD = 0.53 Å).....	43
Figure 24 Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surfex (coloré en vert) du complexe 2R64 (RMSD = 2.06 Å).....	44
Figure 25 Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surfex (coloré en vert) du complexe 2C6K (RMSD = 5.99 Å).....	44
Figure 26 Comparaison de la géométrie du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surfex avant l'optimisation (coloré en vert) (RMSD = 2.33 Å) et aussi du finale-0 calculé par Surfex après l'optimisation (coloré en bleu) RMSD = 0.27	45
Figure 27 Corrélation entre l'activité biologique (logIC50) et l'affinité calculée par Surfex des 38 complexes choisis.	48
Figure 28 Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 1 avec le site actif de la 4fkl.....	55
Figure 29 La présentation des interactions récepteur-ligand 1 en schéma 2D.....	56
Figure 30 Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 2 avec le site actif de la 4fkl.....	58
Figure 31 La présentation des interactions récepteur-ligand 2 en schéma 2D.....	58
Figure 32 Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 3 avec le site actif de la 4fkl.....	60
Figure 33 La présentation des interactions récepteur-ligand 3 en schéma 2D.....	61
Figure 34 Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé 4 avec le site actif de la 4fkl.	63
Figure 35 La présentation des interactions récepteur-ligand du composé 4 en schéma 2D. ..	63

Figure 36 Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé 5 avec le site actif de la 4fkl.	65
Figure 37 La présentation des interactions récepteur-ligand du composé 5 en schéma 2D. ..	66
Figure 38 Exemple de l'évaluation du programme « DruLiTo » par 21 molécules différents.	73
Figure 39 Mode d'interactions de ligand similaire avec le site actif de la 4fkl.....	74
Figure 40 La présentation des interactions récepteur-ligand similaire en schéma 2D.....	74
Figure 41 Mode d'interactions de ligand de référence avec le site actif de la 4fkl.	76
Figure 42 La présentation des interactions récepteur-ligand de ligand de référence en schéma 2D.....	76
Figure 43 Le mode d'interactions du meilleur ligand mono-substitué avec le site actif du 4fkl.	78
Figure 44 La présentation des interactions récepteur-ligand du meilleur ligand mono-substitué en schéma 2D.....	78
Figure 45 Le mode d'interactions du meilleur ligand bi-substitué avec le site actif du 4fkl. .	80
Figure 46 La présentation des interactions récepteur-ligand du meilleur ligand bi-substitué en schéma 2D.....	80

Liste des abréviations

2D : bidimensionnel

3D : Trois dimensions

ΔG : énergie libre de Gibbs

Å : Angstrom

AA : acide aminé

ADN : acide désoxyribonucléique

ADME/tox : Absorption Distribution Métabolisme Excrétion/toxicité

ARN : acide ribonucléique

ATP : adénosine triphosphate

CDK2 : Cyclin-dependent kinase 2

CIRC : Centre international de recherche sur le cancer

GLOBOCAN: *Global Cancer Observatory*

HPv : papillomavirus humains

IC50 : inhibitory concentration 50%.

LH : liaison hydrogène

LogP : Coefficient de partage Eau/Octanol

N : azote

NCBI : National Center for Biotechnology Information

NH : imidogène

NIH : *National Institutes of Health*

O : Oxygène

OH : Hydroxide

OMS : Organisation mondiale de la santé

PDB : Protein Data Bank

PM : Poids Moléculaire

PMF : Potential of Mean Force

QSAR : Quantitative Structure Activity Relationship

r : Coefficient de corrélation linéaire

RMN : résonance magnétique nucléaire

RMSD : Root-Mean-Square Deviation

VdW : Van der Waals

vHb : virus de l'hépatite b

Partie

Bibliographique

The page features a decorative border consisting of a thick blue line with a thin red line inside it. At each of the four corners, there is a small red square with a white crosshair. The background is white. In the center, there are two overlapping yellow shapes: a larger, semi-transparent yellow rectangle and a smaller, solid yellow trapezoid behind it. The word "Introduction" is written in a large, bold, black serif font across the center of the yellow shapes.

Introduction

Chaque individu est constitué de près de 50 000 milliards de cellules organisées en tissus (tissu conjonctif, tissu épithélial, tissu nerveux, tissu musculaire) qui vont eux-mêmes former des organes (cœur, cerveau, poumon, peau...). Chaque jour, au sein de chaque organe, des milliers de cellules vont se multiplier (par division cellulaire) et d'autres vont mourir (par apoptose). Ce renouvellement constant permet d'assurer le bon fonctionnement de l'organisme. Il est contrôlé par des milliers de gènes qui agissent ensemble pour « ordonner » aux cellules de se multiplier ou de mourir en fonction de la situation. Une agression extérieure (alcool, tabac, soleil, virus, radiations...) ou une prédisposition génétique peut être à l'origine d'altérations de l'ADN dont sont composés les gènes. Ces altérations vont parfois conduire à l'apparition de mutations. Heureusement, les cellules possèdent des systèmes de réparation qui permettent de repérer et de corriger ces anomalies. Lorsque les mutations sont trop importantes pour être réparées, la cellule va s'autodétruire, par apoptose. Mais parfois, ces systèmes de sécurité fonctionnent mal ou ne fonctionnent plus : la cellule va alors continuer à se multiplier malgré la présence de mutations non réparées. Si ces dernières touchent des gènes impliqués dans la régulation de la prolifération cellulaire ou de l'apoptose, la cellule peut rapidement devenir incontrôlable et se multiplier de façon anarchique, conduisant à la formation d'une tumeur. [1]

Le cancer est une pathologie métabolique qui pose un grand problème de santé publique engendrant, chaque année, 18,1 millions de nouveaux cas et 9,6 millions de décès. Un homme sur cinq et une femme sur six dans le monde développeront un cancer au cours de leur vie, et un homme sur huit et une femme sur 11 meurent de cette maladie. A l'échelle nationale, La maladie du siècle se transforme en épidémie en Algérie. 50.000 nouveaux cas de cancer et pas moins de 20.000 décès ont été enregistrés en 2019. La situation risque de s'aggraver à l'avenir si rien n'est fait pour enrayer l'épidémie [2,3]. La cause du cancer implique de multiples voies. Les voies des kinases dépendantes de la cycline (cdk) comme cibles thérapeutiques importantes pour le traitement du cancer ont été bien établies. Les cdk sont des enzymes impliquées dans la réplication cellulaire, et leur rôle dans la croissance des tumeurs les a longtemps rendus en cibles de drogue attrayantes. Mais les premières tentatives industrielles d'inhibition des cdk pour restaurer les cellules à la normale ont rencontré des problèmes de toxicité. Les inhibiteurs cdk de première génération n'étaient pas spécifiques, inhibant de nombreux cdk différents, ce qui entraîne des types de toxicités et une efficacité réduite. Avec des chimiothérapies plus anciennes. La kinase 2 cycline dépendante (cdk2) est l'une des protéines kinases sérine/thréonine. Elle joue un rôle dans la régulation de la transition du cycle cellulaire de la

phase G1 à la phase S, et donc dans le contrôle de l'activité de la prolifération cellulaire. Par conséquent, les inhibiteurs cdk2 sont des agents anticancéreux potentiellement efficaces. [4]

Le criblage virtuel par docking moléculaire est une nouvelle approche visant à simuler et prédire l'affinité d'un très grand nombre de ligands pour le site actif d'une cible thérapeutique donnée, ce qui est assez facile à mettre en place, plus rapide et pour un coût bien moindre que les criblages expérimentaux. Initié au début des années 1980, cette démarche s'est développée pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de nouvelles molécules bioactives. [5]

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la kinase dépendante de la cycline 2 (cdk2) par un criblage virtuel de 236 structures avec un taux de similarité de 92% à notre ligand de référence CK2, ainsi que 55 structures nouvelles dont 20 monosubstituées et 35 bi-substituées.

Notre manuscrit est divisé en deux grandes parties :

1. Une première dite : partie bibliographique qui comprend trois chapitres dont ;

- Le premier chapitre : porte sur les principaux types de cancers en relation avec la cdk2.
- Le deuxième : donne un aperçu sur notre cible « cdk2 » et ses inhibiteurs.
- Le troisième chapitre : décrit le docking, ses algorithmes et ses logiciels.

2. une seconde dite : partie pratique qui comprend deux chapitres dont ;

- Le premier chapitre : présente le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude.
- Le second : expose les résultats et leurs interprétations suivis d'une conclusion générale et des perspectives qui clôturent ce travail.

Chapitre 1

LE CANCER

1. Le cancer

Le cancer est devenu un enjeu majeur de santé publique à l'échelle planétaire tant dans les pays développés que ceux en voie de développement et une des principales causes de mortalité (OMS, 2015). Pour l'année 2015, 8,8 millions de décès sont imputables au cancer soit 13,5 % des décès enregistrés dans le monde. Plus de 32,6 millions de personnes vivent avec le cancer dont 14,1 millions de nouveaux cas chaque année (OMS, 2015).

En Algérie la première place revient au cancer du sein chez la femme ou au cancer des poumons chez l'homme (OMS, 2014).

1.1. Généralités

Le cancer est une famille de maladies caractérisée par une dérégulation des mécanismes de division cellulaire d'un organisme. La croissance cellulaire incontrôlée qui en résulte parasite le fonctionnement normal de la machinerie biologique, et peut aboutir à des déficiences graves d'un ou plusieurs organes vitaux (principalement reins, foie et poumons). Ainsi, la plupart des cancers humains peuvent causer la mort, et il s'avère que les cancers sont devenus la première cause de mortalité dans les pays développés. [6]

C'est une maladie caractérisée par une prolifération cellulaire anormale au sein d'un tissu normal de l'organisme. Ces cellules dérivent toutes d'un même clone, la cellule initiatrice du cancer qui a acquis certaines caractéristiques lui permettant de se diviser indéfiniment et de pouvoir former des métastases.

Le cancer est un terme général pour n'importe quelle maladie pour lesquelles certaines cellules du corps humain se divisent d'une manière incontrôlée. Les nouvelles cellules résultantes peuvent former une tumeur maligne (un néoplasme) ou se propager à travers le corps et former des métastases. [7]



Figure 1 Cellule mutante à l'origine d'un clone (D'après ALBERTS B., JOHNSON A., *Biologie moléculaire de la cellule*, 4e édition, Flammarion - © Réseau Canopé 2015).

1.2.Définition

A. Selon l'OMS

« Cancer » est un terme général appliqué à un grand groupe de maladies qui peuvent toucher n'importe quelle partie de l'organisme. L'une de ses caractéristiques est la prolifération rapide de cellules anormales qui peuvent essaimer dans d'autres organes, formant ce qu'on appelle des métastases. [8]

B. Selon Larousse médicale

Maladie qui a pour mécanisme une prolifération cellulaire anarchique, incontrôlée et incessante. Cette prolifération anarchique du cancer s'oppose à la prolifération contrôlée, harmonieuse et le plus souvent intermittente qui caractérise les tissus normaux et qui n'a lieu que pour réparer les pertes cellulaires accidentelles par plaie ou agression et les pertes naturelles par vieillissement (→ cellule).



Figure 2 Cellule cancéreuse (<https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/cancer/11745>).

Le terme cancer recouvre un vaste ensemble de maladies, cataloguées selon les cellules et les tissus à partir desquels les cancers se forment. La **tumeur** développée dans un organe (tumeur primitive) va se greffer à distance sur d'autres organes (cerveau, poumon, foie, etc.), en passant par les voies lymphatiques ou sanguines. Ces tumeurs secondaires, qui reproduisent la structure de la tumeur mère, s'appellent des **métastases**. [9]

1.3. La cancérogenèse

C'est un ensemble d'événements qui conduisent à la transformation d'un tissu physiologique (normal) en tissu cancéreux ainsi qu'une accumulation d'altérations génétiques **et** une acquisition progressive des propriétés des cellules cancéreuses.

1.3.1. Propriétés des cellules cancéreuses

- ❖ Insensibilité aux signaux extérieurs : perte de l'inhibition du contact.
- ❖ Formation anormale de vaisseaux : néo angiogenèse.
- ❖ Échappement aux défenses immunitaires.
- ❖ Potentiel de prolifération illimité « immortalisation ».
- ❖ Échappement à la mort cellulaire programmée.
- ❖ Prolifération incontrôlée : processus autocrine.
- ❖ Invasion des tissus et création de métastases.

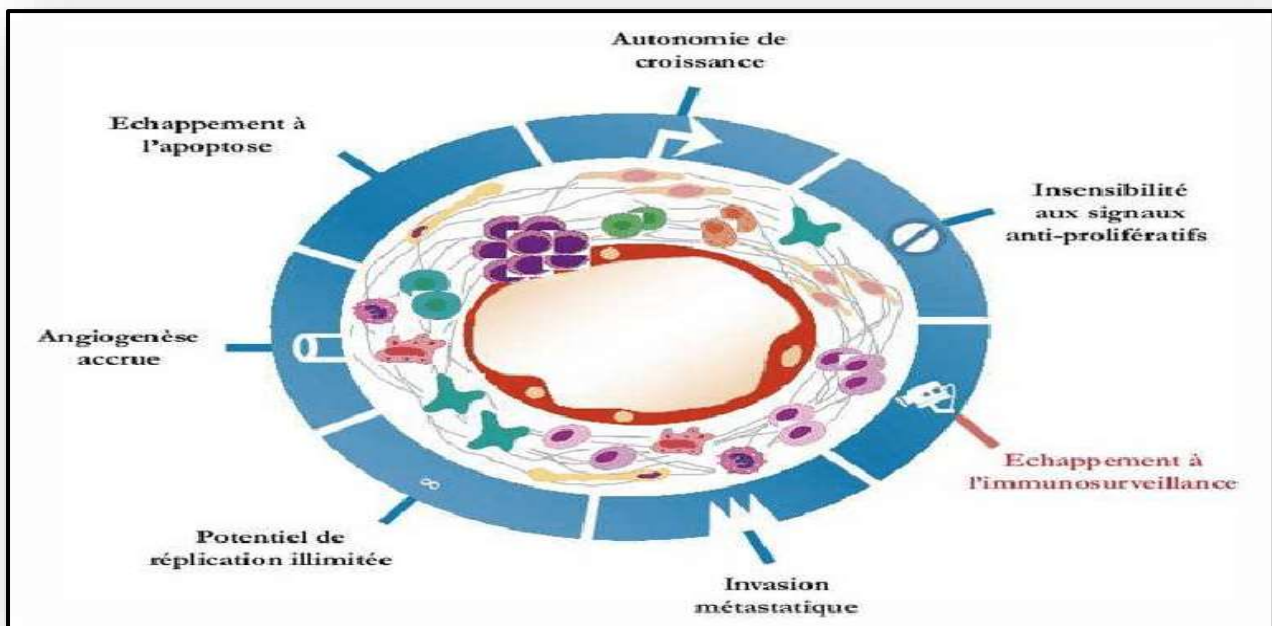


Figure 3 Propriétés des cellules cancéreuses (https://www.researchgate.net/figure/Proprietes-dune-cellule-cancereuse-dapres_fig1_325682302).

1.3.2. Les étapes de la cancérogenèse

- Phase d'initiation : Apparition de cellules qui se transforment et qui possèdent des capacités cancéreuses.
- Phase de promotion : La multiplication des cellules va en augmentant parallèlement aux mutations de l'ADN du noyau.
- Phase de progression : Etape finale dans le développement de cancer et le néoplasie et cliniquement détectable. [10]

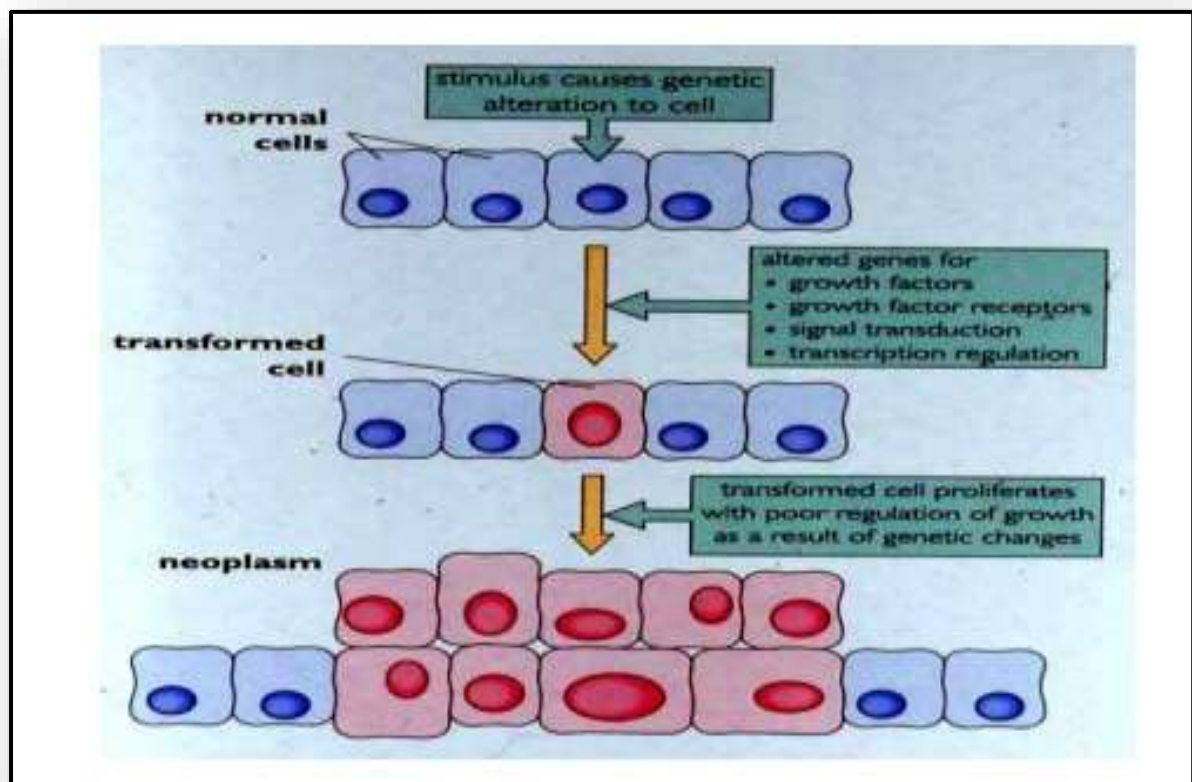


Figure 4 Les étapes de cancérogenèse (<https://www.oncolie.fr/wp-content/uploads/2014/01/1-BAZAN-Fernando-CANCEROGENESE-EPIDEMIO-2014.pdf>).

1.4. Les différentes classifications du cancer

Il n'existe pas un cancer mais une multitude de cancers pouvant se développer à partir de presque tous les tissus. La classification des cancers s'est établie selon le type de cellule, de tissus ou de l'organe affecté initialement. On distingue ainsi quatre grandes familles de cancer.

- ❖ Les carcinomes sont les plus fréquents (plus de 85 %). Ils représentent les tissus épithéliaux recouvrant les surfaces internes ou externes des glandes et des organes.

- ❖ Les sarcomes concernent les tissus conjonctifs de soutien, comme les os, la graisse ou les muscles. Ils sont cependant très rares (moins de 1 %).
- ❖ Les lymphomes sont les cancers du tissu hématopoïétique permettant la formation de toutes les cellules du sang. Les foyers impliqués sont le plus souvent les ganglions lymphatiques.
- ❖ Les leucémies concernent les tissus de la moelle osseuse responsable de la production des globules blancs. [11]

1.5. Les chiffres du cancer

Les chiffres de propagation du cancer, révélés par le professeur Kamal Bouzid, chef de service d'oncologie à l'hôpital Mustapha Pacha font froid dans le dos. En effet, 50.000 nouveaux cas et 20.000 décès ont été enregistrés au courant de l'année 2019, rapporte le journal arabophone « *Echourouk* ».

Les cas d'infections sont susceptibles d'augmenter davantage dans les années à venir, indique la même source qui précise que le cancer du sein est en tête avec 12.000 nouveaux cas en Algérie, suivi du cancer du côlon qui a connu une recrudescence terrifiante durant ces dernières années.

Le déficit budgétaire médical en Algérie affecte grandement les patients qui se retrouvent impuissants face à la pénurie de médicaments et des traitements du cancer, souligne Kamel Bouzid qui précise que le problème s'est accentué durant l'année dernière.

Le professeur a fait savoir en outre que d'ici 2025, 60.000 nouveaux cas seront comptabilisés chaque année en Algérie, estimant que le chiffre sera revu à la hausse d'ici 2030, pouvant atteindre les 70.000 cas/an. [12]

1.6. Les causes du cancer

Les cancers sont causés par l'exposition à des **virus**, à des substances naturelles ou chimiques, à des **rayonnements**. Cela a pour effet d'induire des **mutations** ou des expressions inappropriées de divers **gènes** appelés **oncogènes**, impliqués dans la prolifération des cellules (→ **division cellulaire**), dans leur **différenciation** et dans la régulation de ces phénomènes.

Les oncogènes sont normalement sous le contrôle de gènes inhibiteurs, les **antioncogènes**, qui peuvent être perdus ou subir eux-mêmes une mutation sous l'action des agents énumérés plus haut, leur fonction s'en trouvant réduite. Mais ces antioncogènes peuvent manquer de façon **héréditaire**, ce qui explique en partie l'existence de prédispositions familiales à certains cancers. Ces formes à prédisposition familiale représentent 5 % de la totalité des cancers. [9]

1.7. La prévention et Le dépistage

La prévention et le dépistage ont pour objectif de réduire la fréquence ou la gravité de certains cancers, en évitant leur survenue ou en les détectant précocement.

❖ Les principales mesures de prévention des cancers

À l'échelle individuelle, la prévention passe par la décision personnelle de réduire ses comportements à risque, en adaptant ses habitudes de vie et en adoptant quelques bonnes résolutions : arrêter le tabac, limiter sa consommation d'alcool, manger de manière équilibrée, surveiller son poids, pratiquer régulièrement une activité physique, éviter l'exposition au soleil... Le recours aux vaccins préventifs développés contre certains virus inducteurs de tumeurs fait aussi partie de la prévention : la vaccination contre le virus de l'hépatite b (vHb) ou celle contre les papillomavirus humains (HPV) peut réduire les risques respectifs de cancer du foie et de cancer du col de l'utérus.

❖ Le dépistage des cancers

Le dépistage consiste à réaliser un ou plusieurs examens afin d'établir un diagnostic de cancer chez quelqu'un ne présentant a priori encore aucun symptôme. L'intérêt du dépistage est de repérer la maladie le plus tôt possible, c'est-à-dire à un stade où la prise en charge offrira les meilleurs résultats possibles. Il permet dans certains cas de repérer aussi des lésions précancéreuses, c'est-à-dire des anomalies bénignes susceptibles de devenir cancéreuses sans traitement. Les examens de dépistage doivent régulièrement être répétés. Dans la plupart des cas, et hors prédisposition familiale particulière, les examens sont renouvelés tous les 2 ou 3 ans, selon le type de tumeur recherché. Pour les personnes ayant une prédisposition génétique au cancer, la nature et la fréquence des examens sont différentes et adaptées à l'histoire familiale ou à la nature de l'anomalie génétique identifiée. [13]

1.8. Les différents types de cancer liés à la Cdk2

Les cancers du poumon, du sein chez la femme et du côlon-rectum sont les trois principaux types de cancer en termes d'incidence et se classent parmi les cinq premiers en termes de mortalité (premier, cinquième et deuxième, respectivement). Pris ensemble, ces trois types de cancer sont responsables d'un tiers de l'incidence du cancer et de la mortalité dans le monde (OMS 2018).

1.8.1. Les cancers du sein

1) Définition

Les cancers du sein se définissent comme une prolifération maligne de cellules épithéliales bordant les canaux ou les lobules du sein appelés respectivement carcinomes canaux ou lobulaires. S'il y a une effraction de la membrane basale, séparant l'épithélium du tissu conjonctif, ces carcinomes sont dits infiltrants. Dans le cas contraire, ils sont dits carcinome *in situ* ou intra-canaux. Ils possèdent ou non un potentiel métastatique.

2) Epidémiologie

2.1) Statistiques mondiales (OMS 2018)

Le cancer du sein est le cancer le plus souvent diagnostiqué chez les femmes (24,2 %, soit environ un sur quatre des nouveaux cas de cancer diagnostiqués chez les femmes dans le monde) et ce cancer est le plus fréquent dans 154 des 185 pays couverts par GLOBOCAN 2018.

2.2) Statistiques nationales

En 2018 selon les derniers chiffres du Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), qui dépend de l'OMS, Il est également indiqué que le nombre de femmes malades avoisine les 29112, avec en première position le cancer du sein. [14]

1.8.2. Les cancers du poumon

1) Définition

Le cancer broncho-pulmonaire est une tumeur maligne qui peut se développer à la jonction entre les branches principales, dans une des bronches ou la périphérie, dans les alvéoles pulmonaires. Les cellules cancéreuses peuvent migrer dans les ganglions lymphatiques (dissémination lymphatique) en empruntant les vaisseaux sanguins (dissémination hémotogène), les cellules cancéreuses peuvent atteindre différents organes conduisant à des métastases. [15]

2) Epidémiologie

2.1) Statistiques mondiales (OMS 2018)

Le cancer du poumon est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les hommes (14,5 % du total chez les hommes et 8,4 % chez les femmes) et la principale cause de décès par cancer chez les hommes (22,0 %, soit environ un décès sur cinq).

2.2) Statistiques nationales

Pour les hommes, c'est le cancer des poumons qui se place en tête, avec un taux de 13,61 %, soit 3271 personnes atteintes. [14]

1.8.3. Le cancer du côlon

1) Définition

Le cancer du côlon (« gros intestin ») est le cancer le plus fréquent du tube digestif. Il résulte de l'accumulation de mutations dans différents gènes au sein des cellules constitutives de la couche la plus interne de la paroi colique appelée « muqueuse ».

Ces mutations sont responsables de la prolifération excessive et anarchique de ces cellules qui aboutit à la formation de petites tumeurs initialement bénignes appelées « adénomes » ou « polypes adénomateux ».

Ces polypes peuvent se transformer secondairement en tumeurs malignes c'est-à-dire cancéreuses (également appelées « adénocarcinomes ») qui ont la capacité d'infiltrer progressivement l'épaisseur de la paroi colique puis de diffuser à distance du côlon pour donner naissance à des métastases (tumeurs « filles », localisées à distance du côlon, par exemple dans le foie ou les poumons) par envahissement des vaisseaux sanguins et/ou lymphatiques.

Plusieurs années d'évolution sont nécessaires pour qu'un petit adénome se transforme éventuellement en un cancer invasif. Cette séquence adénome-cancer permet d'expliquer en partie l'efficacité du dépistage qui permet non seulement de faire le diagnostic des cancers à un stade plus précoce mais également de diminuer leur fréquence grâce à l'identification et à l'exérèse (généralement au cours de la coloscopie) des polypes adénomateux avant qu'ils ne se transforment. [16]

2) Epidémiologie

2.1) Statistiques mondiales (OMS 2018)

Le cancer colorectal (1,8 million de cas, soit 10,2 % du total) est le troisième cancer le plus fréquemment diagnostiqué après les cancers du poumon et du sein.

2.2) Statistiques nationales

Le cancer colorectal par sa fréquence et sa gravité est un problème de santé publique dans le monde. L'incidence dans le monde est estimée à un million de nouveaux cas, et une mortalité à 500 000. En Algérie, l'incidence est de 24 pour 100 000 habitants (2014).

Selon le registre du cancer de Sétif, entre 2008 et 2014, le taux standardisé chez l'homme est de 13 pour 100 000 habitants et 10,7 pour 100 000 habitants. Chez la femme. Selon le même registre, entre 1986 et 2014, la tendance des cancers colorectaux retrouvée est de 5,7% chez l'homme et 5,5% chez la femme. La mortalité en Algérie par ce cancer est classée 2 -ème chez les hommes (1 005 décès soit 9,3%) après le cancer du poumon est le 2 -ème chez les femmes (1 011 décès soit 9,2%) après le cancer du sein. [17]

Chapitre 2

**LES KINASES CYCLINE
DÉPENDANTES**

CDK2

1. Généralités

Les **kinases dépendantes des cyclines** (en anglais, *cyclin-dependent kinase* ou *cdk*) sont une famille de **protéines kinases** qui jouent un rôle majeur dans la régulation du **cycle cellulaire**. Elles sont également impliquées dans la régulation de la **transcription** en réponse à plusieurs signaux extra- et intracellulaires, le traitement des **ARN messagers** et la **différenciation** des cellules nerveuses[18]. Elles sont présentes chez tous les **eucaryotes**, et leur fonction dans le cycle cellulaire s'est fortement conservée au cours de l'évolution.

Les cellules humaines ont 20 cdk et 29 cyclines [19], dont 5 (cdk1, 2, 3,4 et 5) sont impliquées directement dans le cycle cellulaire, nous nous intéresserons dans cette étude à la Cdk 2. L'acquisition de l'activité kinasique par les Cdk nécessite l'association d'une sous-unité régulatrice nommée cycline, dont l'expression cyclique conditionne la chronologie de l'activation des Cdk. Les cyclines sont divisées en deux groupes : cyclines mitotiques et cyclines G1. Les cyclines mitotiques, indispensables à la division de la cellule, regroupent les cyclines A et B (B1 et B2). Les cyclines dites cyclines G1 (chez l'homme, cyclines C, D1, D2, D3 et E) sont présentes dans les cellules dès la phase G1, et activent les Cdk engagées dans des étapes précoces du cycle cellulaire. [20, 21]

Une dérégulation des Cdk peut contribuer au développement d'un processus néoplasique, comme le suggèrent les interactions observées entre certaines Cdk et des oncoprotéines virales, et la délétion fréquente, dans des lignées néoplasiques et des tumeurs de novo.

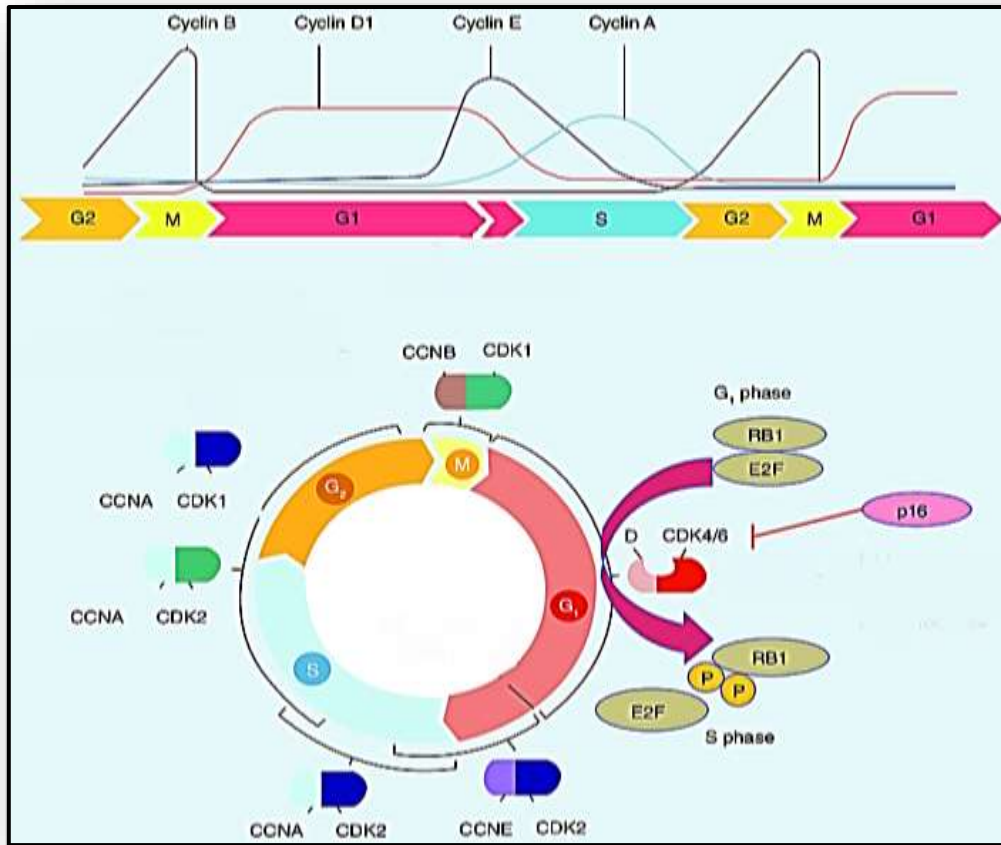


Figure 5 Schéma présente le rôle de chaque Cdk au cours du cycle cellulaire. M=Mitose; G1=Phase G1; S=Phase S; G2=Phase G2. (<https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/cycle-cellulaire/la-regulation-du-cycle-cellulaire>)

2. Nomenclature et classification des Cdk

Pour faciliter la nomenclature et l'analyse des Cdk, les protéines appartenant à cette famille ont récemment été renommées Cdk1 à Cdk20. [22]

L'expansion évolutive de la famille Cdk chez les mammifères a conduit à la division des Cdk en trois sous-familles liées au cycle cellulaire (Cdk1, Cdk4 et Cdk5) et cinq sous-familles transcriptionnelles (Cdk7, Cdk8, Cdk9, Cdk11 et Cdk20). La plupart de ces Cdk se lient à une ou quelques cyclines, ce qui correspond à la spécialisation fonctionnelle au cours de l'évolution.

Tableau 1 Cdk connues avec leurs cyclines partenaires et leurs fonctions chez l'être humain.

[23]

Cdk	Cycline partenaire	Fonction
Cdk1	Cycline B	Mitose
Cdk2	Cycline E	Transition G1/S
Cdk2	Cycline A	Rôle en phase S et en phase G2
Cdk3	Cycline C	Possiblement rôle en phase G1
Cdk4	Cycline D	Phase G1
Cdk5	P35	Transcription
Cdk6	Cycline D	Phase G1
Cdk7	Cycline H	Activatrice des CDK, transcription.
Cdk8	Cycline C	Transcription
Cdk9	Cycline T	Transcription
Cdk11	Cycline L	Inconnue

3. Structure générale

De remarquables études cristallographiques permettent aujourd'hui de comprendre l'Aspect structuraux de nombreux Cdk, qui provient principalement de structures obtenues chez *Schizosaccharomyces pombe* (Cdc2), *Saccharomyces cerevisiae* (CDC28) et certains vertébrés (CDC2 et Cdk2). On sait que, de façon générale, les cdk sont organisées en deux lobes de taille varie environ 250 résidus d'acides aminés : le petit lobe amino-terminal est constitué majoritairement de feuillets β et joue un rôle important dans la fixation de l'ATP.

Le lobe carboxy-terminal est constitué majoritairement d'hélices α et intervient dans l'interaction avec le substrat. L'acte catalytique implique des résidus situés dans les deux lobes et a lieu à leur interface. Une partie de ces résidus est consacrée à un positionnement correct de l'ATP. [24]

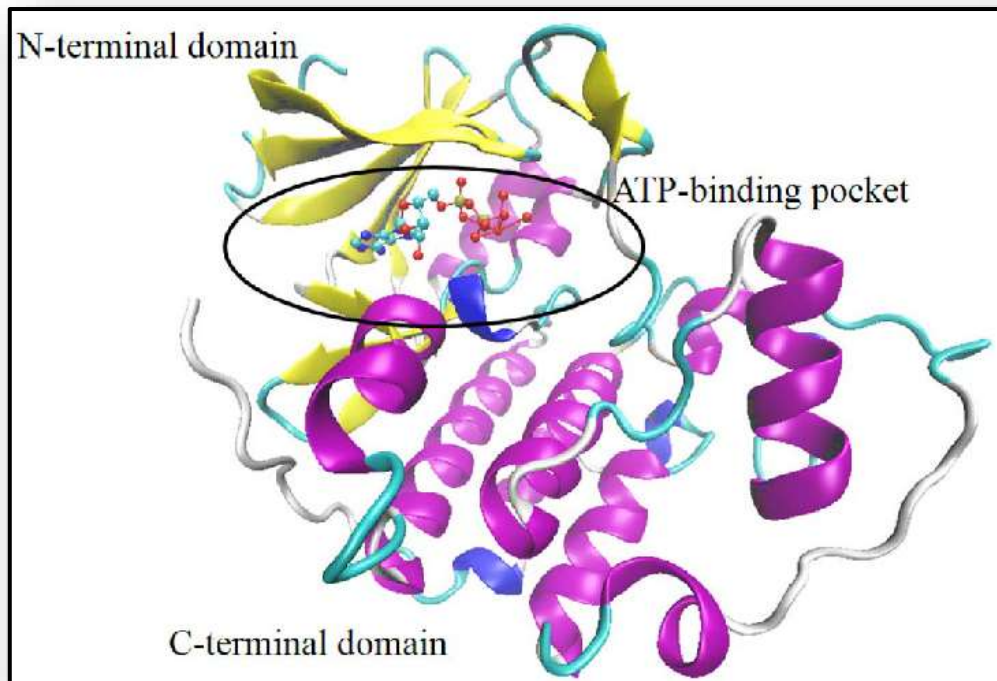


Figure 6 Structure générale de Cdk. (Walter Filgueira De Azevedo Jr et al., Oct 2013)

Le lobe N contient un élément inhibiteur riche en glycine (boucle G) et une hélice majeure unique - l'hélice C (contenant la séquence PSTAIRE dans Cdk1). Le lobe C contient le segment d'activation, qui s'étend du motif DFG (D145 dans Cdk2; EMBL: [AK291941](#)) au motif APE (E172 dans Cdk2) et comprend le résidu sensible à la phosphorylation (T160 dans Cdk2) dans le soi-disant résidu Boucle en T (figure 8). Dans la forme monomère sans cycline, la fente catalytique Cdk est fermée par la boucle en T, empêchant l'activité enzymatique. En outre, le segment d'activation dans le lobe C une plateforme pour la liaison de la région Ser / Thr de phospho-accepteur des substrats est partiellement désordonné. [25]

4. L'enzyme Cdk2 :

Cdk2 est une protéine découverte initialement par l'équipe de Philippe chez le xénope [26]. Sa masse moléculaire chez l'homme est de 33kDa. Son gène est localisé sur le chromosome 12 en 12q13. [27]

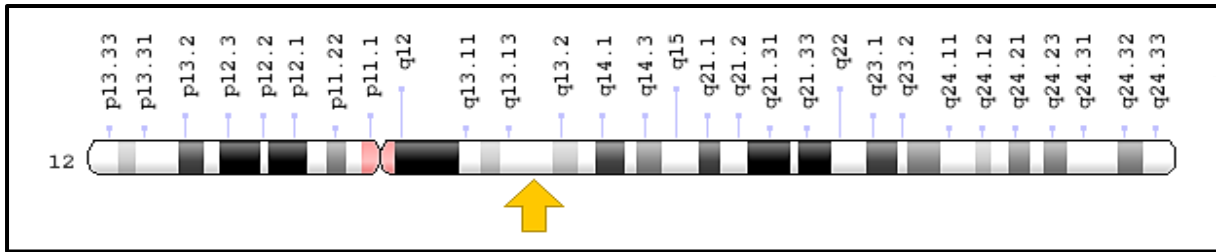


Figure 7 Idéogramme chromosome 12 humain. (<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/CCNE1>).

4.1. Domaine catalytique

Elle acquiert une activité kinasique en association avec la cycline A ou la cycline E [27, 28]. Comme Cdk1, Cdk2 subit des phosphorylations : activatrice sur la thréonine 160 et inhibitrice sur la thréonine 14 et la tyrosine 15. Le complexe Cdk2-cycline A développe une activité kinasique dès la phase G1 tardive jusqu'à la métaphase, quand la cycline A est protéolysée. L'activité kinasique du complexe Cdk2-cycline E se manifeste aussi dès la phase G1, atteint son maximum au début de phase S, puis disparaît [27, 28]. Cette kinase, probablement en association avec la cycline E, est indispensable à la mise en route de la réplication de l'ADN. [29]

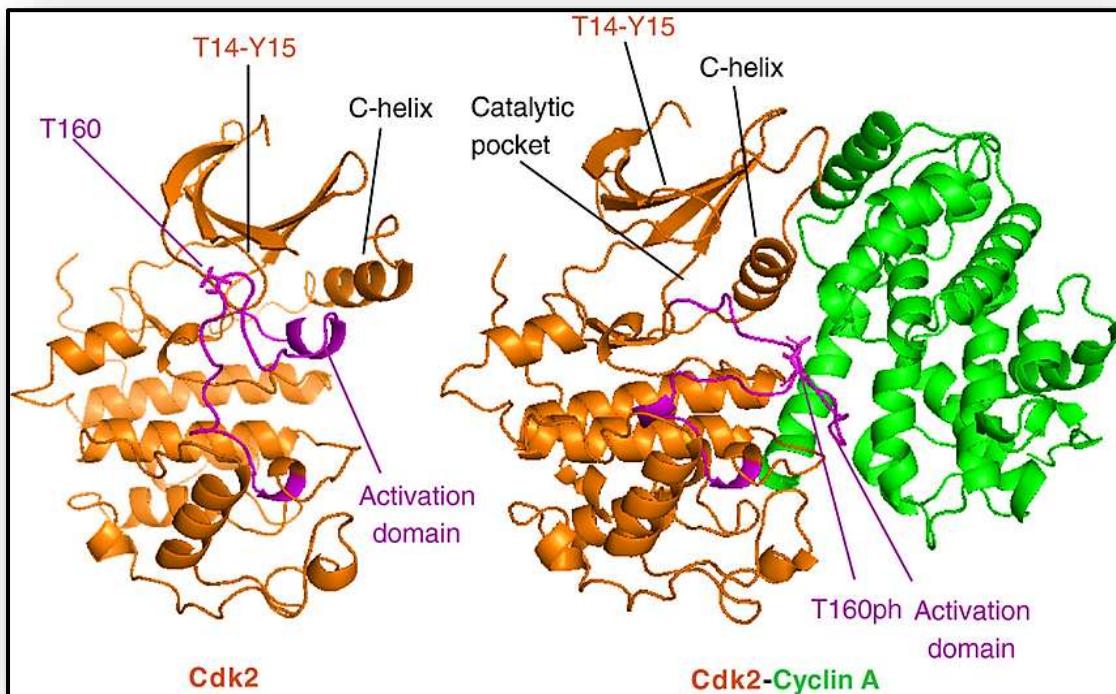


Figure 8 Structure cristallographique de Cdk2 sans et avec la cycline A. (Malumbres, Marcos., 2014).

4.2. Mécanisme d'action

La Cdk2 peut s'associer au facteur de transcription E2F, responsable de l'expression d'un certain nombre de gènes participant à la réplication de l'ADN. Dans des cellules en phase G1 tardive, certains auteurs ont trouvé la Cdk2 dans un complexe avec la cycline E, E2F et une protéine p107, apparentée à pRb, produit du gène de susceptibilité au rétinoblastome. Durant la phase S, la cycline E est remplacée dans ce complexe par la cycline A [30]. Le complexe Cdk2-cycline A peut également se lier à E2F-1, un membre de la famille E2F, directement, sans l'intermédiaire de p107. Cdk2-cycline A, à la différence de Cdk2-cycline E, est capable de phosphoryler E2F-1, qui perd, de ce fait, son affinité pour l'ADN et son activité comme facteur de transcription. [31]

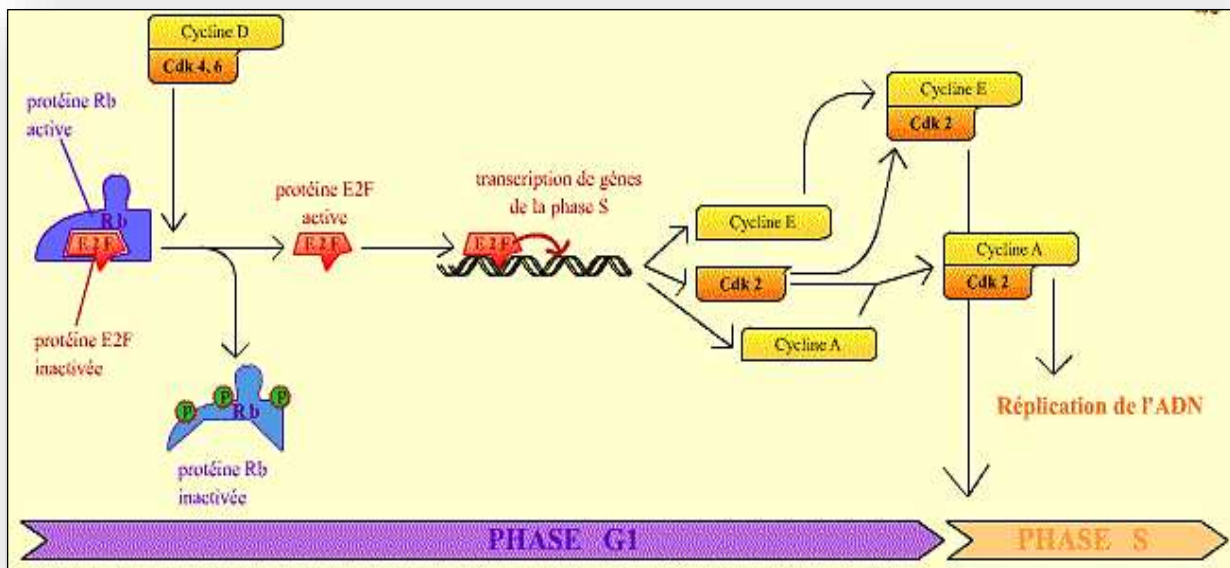


Figure 9 Mécanisme d'action de CDk2 au niveau du cycle cellulaire. (Marie-Claude Lebart, Jean Mariani., 2004).

5. Les inhibiteurs de Cdk2

La cristallisation d'inhibiteurs avec Cdk2 a permis un bond spectaculaire dans notre compréhension des mécanismes d'action de ces molécules. Outre l'ATP, sept inhibiteurs ont été co-cristallisés avec Cdk2 : l'isopentenyladénine [32], l'olomoucine [32], la roscovitine [33], le purvalanol [34], un dérivé du flavopiridol [35], l'indirubine-3'-monoxime [36] et la staurosporine. [37]

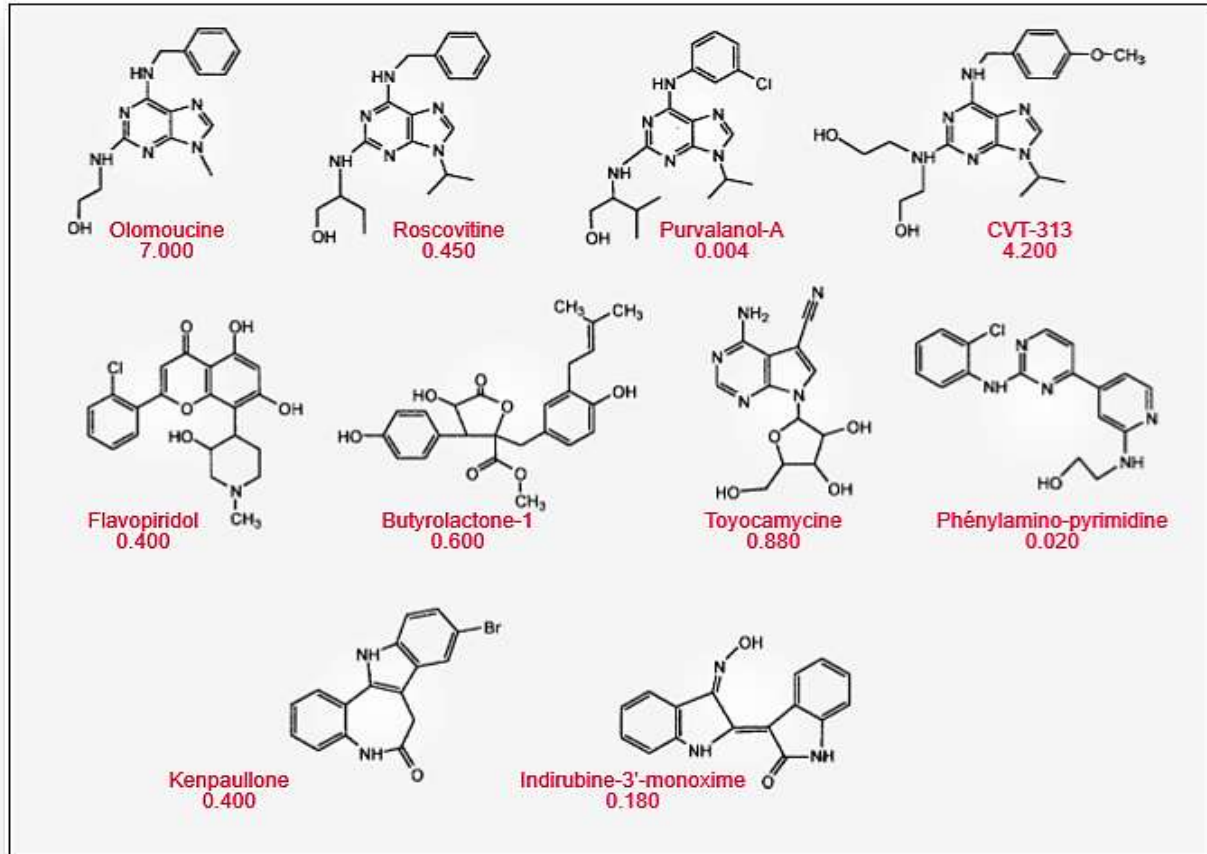


Figure 10 Structure et activité des inhibiteurs de CDK2.

L'analyse des données structurales a permis l'identification de plusieurs acides aminés de Cdk2, essentiels pour l'interaction enzyme-inhibiteur. Les résidus Ile10, Leu 83 et Leu134 assurent, à eux seuls, près de 40% de l'ensemble des contacts entre Cdk2 et les inhibiteurs (figure 10). Deux ou trois liaisons hydrogène sont constamment retrouvées entre les inhibiteurs et les résidus Leu 83 et Glu 81 de CDK2 (figure 8). La sélectivité des inhibiteurs provient sans doute d'interactions avec des résidus qui n'offrent aucune liaison avec la molécule d'ATP. Ces acides aminés ne sont pas conservés dans les kinases autres que les Cdk. Ces données structurales sont maintenant très largement utilisées pour modéliser de nouveaux inhibiteurs de Cdk et pour guider de nouvelles synthèses d'analogues.

Chapitre 3

LE DOCKING MOLÉCULAIRE

1. Introduction

L'interaction entre une protéine et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. La connaissance de la structure des complexes permet aux chercheurs de mieux comprendre le mode de fonctionnement mis en jeu lors d'une interaction entre protéine-ligand, est donc primordial pour pouvoir expliquer les mécanismes qui influent sur l'affinité entre deux molécules.

De même, la découverte des nouveaux ligands activant ou inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective.

Les progrès en matière de cristallographie et l'introduction de structures obtenues par RMN a conduit à la création d'une ressource basée sur les technologies modernes qui faciliterait l'usage et l'analyse de données structurales. Dans, le domaine de la biologie, la « Protein Data Bank » (PDB) est la base de données par excellence. [38]

Cependant, les outils informatiques ont pris place pour traiter le flot de données produites et optimiser ses avancées. L'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme anglo-saxon "Docking") est l'une des méthodes *in silico* les plus récentes. La problématique du « Docking », a été de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand par étude l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation de complexes moléculaires. [39, 40]

2. Le Docking moléculaire

Le Docking moléculaire (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français), *in silico* vise à prédire la structure et l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation d'un complexe moléculaire « ligand-protéine » ou « protéine-protéine », 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 *in vitro*.

Le Docking moléculaire permet soit de découvrir de nouvelles molécules (par assemblage de deux ou plusieurs molécules), soit de comprendre la nature d'un complexe de molécules obtenu par cristallographie. [41]

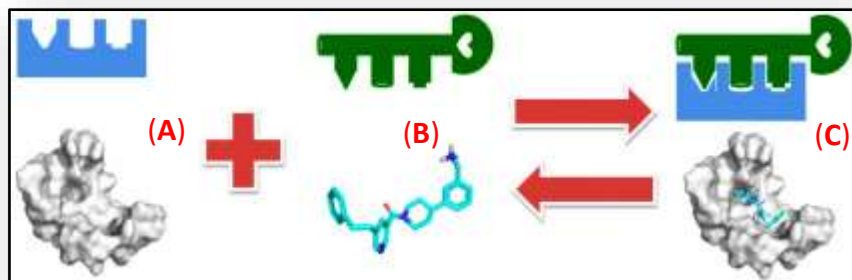


Figure 11 Représentation schématique du Docking de deux molécules. (A) protéine. (B) Ligand. (C) Complexe moléculaire. (Laurent Hoffer, Université de Strasbourg., 2013)

3. Principe de Docking moléculaire

Le Docking décrit un processus dans lequel une molécule (ligand) est placée dans le site actif d'une protéine cible dans un espace tridimensionnel (3D). Deux aspects sont importants : la prédiction de l'affinité du complexe [ligand- protéine], et la prédiction de la position correcte du ligand dans le site actif de la protéine. La prédiction d'affinité est liée à différents ligands de la collection, certains conviennent mieux que d'autres. La prédiction de position est liée à la même molécule de ligand mais dans des orientations différentes. [42,43]

4. Types de Docking

Il existe trois types de Docking moléculaire :

Le Docking rigide consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéine-ligand en considérant que chacune des deux molécules étant une entité rigide tout en conservant une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité, en interaction dans le complexe, n'est pas prise en compte. Cependant, il est tout à fait concevable que les structures de la protéine et du ligand soient modifiées durant le processus de Docking moléculaire afin d'optimiser au mieux l'interaction entre les deux entités. On parle, dans ce cas, de **Docking flexible**. [44]

Entre les deux modes existe le **Docking semi-flexible**, où les partenaires d'interaction sont partiellement déformables. En général, le récepteur est traité comme étant rigide et le ligand comme étant totalement flexible, se sont imposés, car elles permettent d'obtenir des résultats plus précis.

5. Applications

Il y a deux principales applications au programme de Docking, La plus ancienne est la prédiction du mode d'interaction. La seconde consiste à optimiser des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur.

L'optimisation de la structure du ligand déjà connu peut avoir plusieurs raisons : l'amélioration de son affinité, de sa spécificité, de sa synthèse ou encore de ses propriétés **ADMET** (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité). [45]

Le Docking moléculaire a été appliqué avec succès sur un certain nombre de cibles thérapeutiques (protéines) dont la structure 3D en complexe avec le ligand a été parallèlement déterminé. Actuellement, un bon nombre de médicaments mis sur le marché proviennent d'une conception rationnelle basé sur des stratégies de criblage virtuel.

6. Les algorithmes de recherche

Un algorithme est une méthode utilisée pour résoudre un problème particulier dont on est sûr qu'elle trouve toujours une réponse en un temps d'exécution fini. Ils ont été conçus pour rechercher de façon objective, rapide et efficace les modes d'association récepteur ligand les plus favorables.

Il existe **trois types d'algorithmes** pour le traitement de la flexibilité du ligand :

6.1. Méthodes systématiques

Le principe général est de couper le ligand en fragments rigides et flexibles. Dans un premier lieu, un ou plusieurs fragments qui doivent être rigides sont placés au sein du site actif et donc mis en interaction avec la cible, puis le ligand est reconstruit en plaçant les fragments flexibles d'une manière successive tout en exploitant les angles de torsion. [46]

Des programmes comme **FlexX**, **Surflex** et **Dock** utilisent cette approche qui permet notamment un criblage rapide de vastes chimiothèques de molécules. [47]

6.2. Méthode stochastique (génétique)

L'approche stochastique est plus précise, à partir d'une position initiale aléatoire, à l'extérieur du site actif, le ligand considéré dans son entier explore le site actif étudié par la répétition successive de mouvements et d'évaluations de l'interaction ligand-récepteur. Ces

techniques sont plus lentes que la méthode systématique mais prennent mieux en considération la flexibilité du ligand et permettent l'exploration de régions plus vastes.

Dans cette catégorie, nous pouvons citer **GOLD** et **Auto Dock**. [48]

6.3. Méthodes de Simulation

Les méthodes de simulation sont basées sur la résolution des équations du mouvement de Newton. Elles comprennent notamment les techniques de dynamique moléculaire et des algorithmes de minimisation. Les premières ne sont jamais utilisées pour générer de la flexibilité sur le ligand car elles demandent un temps de calcul non compatible avec la gestion de bases de molécules. Les secondes en revanche sont parfois utilisées dans les programmes de Docking, en complément d'un autre algorithme de recherche, afin d'atteindre une conformation de basse énergie. [49]

7. Fonctions de score

Sont des méthodes mathématiques et des fonctions discriminant les poses de Docking correctes de celles incorrectes. Ce score permettra non seulement de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées, mais également de classer la meilleure pose de différents ligands pour identifier les meilleurs d'entre eux.

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique est le suivant [50] :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}}$$

Concrètement, le score est une estimation de l'affinité entre la macromolécule et la petite molécule organique. Un score ne prédit donc en rien une activité mais bien une affinité.

7.1. Fonctions de score basées sur les champs de force

Les fonctions de score basées sur un champ de force qui est une fonction mathématique exprimant l'énergie d'un système par la somme de divers termes issus de la mécanique moléculaire. L'utilisation de champ de force permet de calculer l'énergie d'interaction du complexe récepteur-ligand (interactions intermoléculaires) et l'énergie interne du ligand.

Les interactions entre récepteur et ligand comprennent souvent des termes de **Van der Waals** et **électrostatiques** [51, 52]. Les fonctions de score qui se basent sur les champs de force les plus rigoureux comme **AMBER** [53,54], **CHARMM** (Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics). [55, 56]

7.2. Fonctions de score empiriques

Les fonctions empiriques de score estiment l'affinité des complexes protéine-ligand en se basant sur un décompte du nombre d'interactions dans le système protéine-ligand comme par exemple le nombre de liaisons hydrogène, les contacts hydrophobes, les contacts hydrophiles, les contraintes de torsion dues à la formation du complexe protéine-ligand, etc. Elles sont utilisées dans la plupart des algorithmes d'amarrage notamment **FlexX** [57], **Chemscore** et **LUDI** [57, 65].

7.3. Fonctions de score basées sur la connaissance « knowledge-based »

Ces fonctions proviennent de l'analyse des structures tridimensionnelles de complexes ligand-protéine déterminés de manière expérimentale. Des règles définissant la géométrie préférentielle des interactions sont déduites de ces structures grâce à des moyens statistiques. [58]

Ces fonctions statistiques permettent d'établir une corrélation entre l'état thermodynamique du complexe protéine-ligand qui forme un système et la probabilité de trouver ce complexe dans un état microscopique donné. Ainsi les fréquences sont converties en enthalpie libre (énergie) grâce à une distribution de Boltzmann, les potentiels sont donc nommés potentiels de force moyenne (Potential of Mean Force : PMF).

7.4. Fonctions de score consensus

Les fonctions de score consensus [59, 60], combinent les informations obtenues à partir des différents scores, afin de compenser les erreurs des fonctions de score individuelles.

Plusieurs études ont montré que ces fonctions performent le calcul des énergies libres des complexes et ainsi les interactions protéine - ligand mieux que les fonctions individuelles [61, 62]. Un exemple de fonction de score consensus est **X-CSCORE** [63] qui combine un **PMF** [64-65] et **ChemScore**. [66]

8. Les principales classes d'interaction

En dehors de la formation d'une liaison covalente entre le ligand et sa cible comme c'est le cas pour les inhibiteurs dits suicide, l'association d'un ligand à sa cible est réversible et résulte d'interactions favorables non liées / non covalentes entre eux.

Etant donné que les principales classes d'interaction rencontrées en biologie et chimie médicinale seront régulièrement abordées dans ce manuscrit, elles sont brièvement introduites dans ce sous-chapitre. Une interaction peut notamment impliquer un ligand et son récepteur (interactions intermoléculaires) ou concerner une seule entité (interactions intramoléculaires).

On peut également se référer à la revue de **Bissantz et al** pour une description très approfondie et quasi-exhaustive des différents types d'interaction ligand-récepteur rencontrés en biologie. [67]

8.1. La notion d'électronégativité

La notion d'électronégativité est fondamentale pour comprendre un bon nombre d'interactions. Un atome électronégatif a la capacité d'attirer le nuage électronique vers lui-même. Lorsqu'il y a une différence d'électronégativité entre les atomes d'une liaison covalente, le doublet électronique de la liaison n'est plus partagé équitablement entre les atomes impliqués, et il y a l'apparition d'un dipôle. On attribue une charge partielle δ^- à l'atome le plus électronégatif et une charge partielle δ^+ à l'atome le moins électronégatif. A l'opposé, lorsque la différence d'électronégativité est très faible ou nulle, le doublet électronique de la liaison reste globalement équitablement réparti entre les atomes.

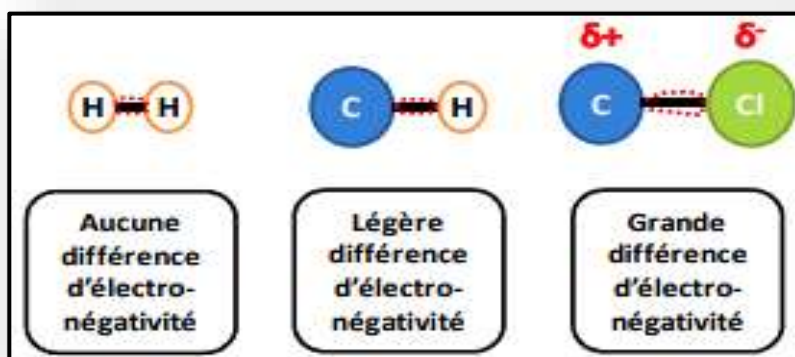


Figure 12 Impact sur une liaison covalente de la différence d'électronégativité entre les atomes la constituant (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoinformatique, 2013)

Enfin, les particules chargées génèrent localement un champ électrique, ouvrant la voie à des interactions électrostatiques. Ces dernières sont attractives lorsque deux charges en interaction sont de signes opposés, et répulsives lorsque les charges sont de même signe.

8.2. Les liaisons ioniques

Les liaisons ioniques ou ponts salins concernent les fortes interactions électrostatiques attractives entre charges de signe opposé. La distance entre les centres chargés doit être inférieure à 4,0-4,5 Å environ pour que l'on considère l'interaction électrostatique comme une liaison ionique en tant que telle. Bien qu'elle soit plus faible que celle d'une liaison covalente, l'énergie d'une liaison ionique reste très importante pour une interaction non covalente (de l'ordre de 10 kcal.mol⁻¹). [68]

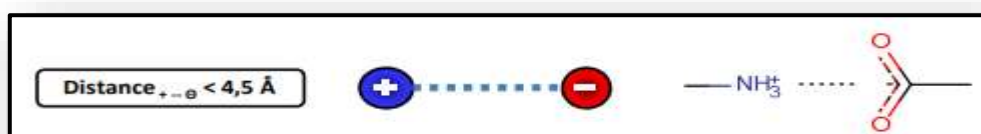


Figure 13 La liaison ionique. (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoinformatique, 2013)

8.3. Les liaisons hydrogène

Les liaisons hydrogène (LH) sont des interactions d'origine électrostatique entre un atome électronégatif dit "accepteur" (A porteur d'une charge partielle δ^-) et un atome d'hydrogène polaire (H porteur d'une charge partielle δ^+) qui est lié de manière covalente à un atome électronégatif dit "donneur" (D porteur d'une charge partielle δ^-). [69]

Les atomes d'oxygène et d'azote sont les donneurs et accepteurs les plus courants dans notre contexte d'intérêt. Une distance faible entre le donneur et l'accepteur est nécessaire pour qu'une LH soit significative (0,8 à 2,8 Å), et son énergie est maximale (de l'ordre de 5 kcal.mol⁻¹ [70]).

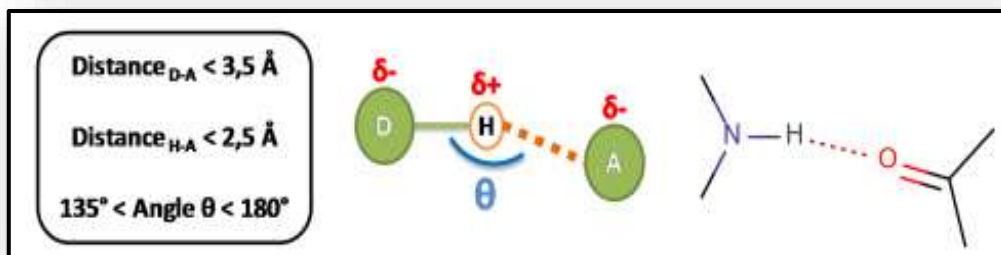


Figure 14 La liaison hydrogène. (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoïnformatique, 2013)

8.4. Les interactions dipolaires impliquant un dipôle permanent

Dans les molécules globalement neutres, les interactions électrostatiques ne disparaissent pas pour autant. Même si les charges partielles se neutralisent, la séparation locale des charges due aux différences d'électronégativité génère néanmoins des dipôles.

8.5. Les interactions de Van der Waals

Les interactions de Van der Waals (VdW), également connues sous le nom d'interactions de London ou de forces de dispersion, impliquent des dipôles instantanés. Contrairement aux interactions dipolaires décrites auparavant, les interactions de VdW n'impliquent pas de dipôle permanent.

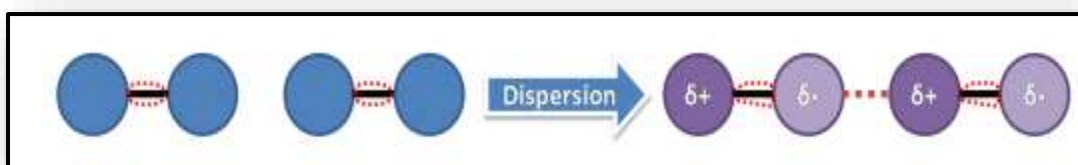


Figure 15 Interactions de London. (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoïnformatique, 2013)

Les interactions de VdW sont de faible intensité (ordre de grandeur du kcal.mol⁻¹) de distance entre 3 à 4 Å, mais elles sont néanmoins très importantes en pratique à cause de leur très grand nombre, les interactions de VdW sont essentiellement responsables de la complémentarité stérique lors d'un phénomène de liaison.

8.6. L'effet hydrophobe

Les molécules non polaires et peu polarisables ont tendance à se regrouper, ce qui crée une force de liaison hydrophobe. Les groupements vont se positionner de manière à présenter la plus faible surface de contact avec l'eau. Les groupements vont donc s'attirer mutuellement par des forces de type dispersion (London).

8.7. Les interactions entre systèmes π

Les interactions non liées π - π impliquent des systèmes π comme les cycles aromatiques. Ces derniers sont très souvent présents dans les ligands organiques et dans les macromolécules biologiques. Deux configurations sont principalement observées expérimentalement [71-72] :

- interaction π - π face à face - les deux cycles aromatiques sont parallèles et leurs centres géométriques sont distants de moins de 4 Å environ. Deux sous-catégories peuvent être créées selon la présence (conformation décalée) ou non (conformation en sandwich) d'un décalage entre les deux cycles parallèles.
- interaction π - π en forme de T ("edge to face") les deux cycles aromatiques forment un angle droit et leurs centres géométriques (centroïdes) sont distants de moins de 5,5 Å environ.

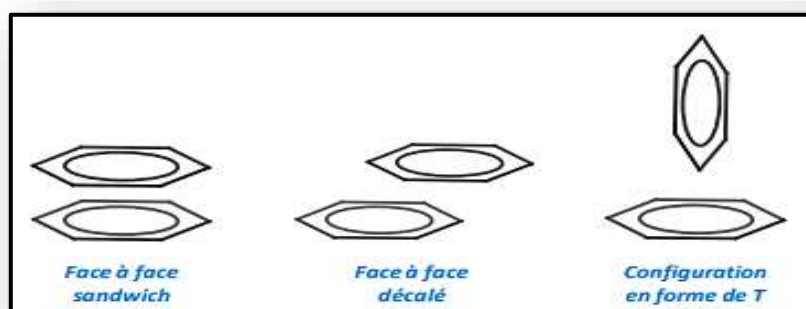


Figure 16 Les différentes configurations d'interactions non liées π - π . (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoinformatique, 2013)

8.8. Les interactions cation- π

Comme leur nom le suggère, ces interactions non liées de nature électrostatique impliquent un cation (un ion positif ou un groupe porteur d'une charge positive) et un système π (par exemple un cycle aromatique) [73]. Comme pour d'autres classes d'interaction, un critère de

distance permet d'identifier de manière géométrique les interactions cation- π : la distance entre le centre chargé et le centre géométrique du système π doit être inférieure à 5 Å environ. [74]

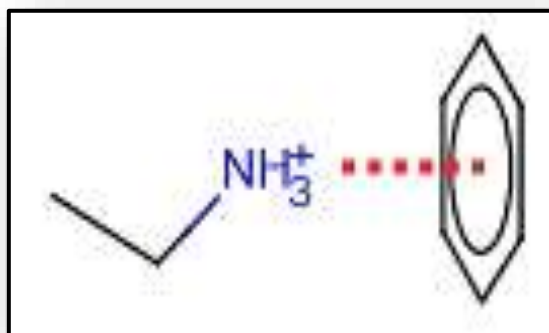


Figure 17 L'interaction non liée cation- π . (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoinformatique, 2013)

8.9. Les interactions impliquant des métaux

Les groupements chimiques possédant un doublet d'électrons non appariés peuvent former une liaison de coordination avec un cation métallique, dès lors qu'un site de coordination est libre au niveau de cet ion.

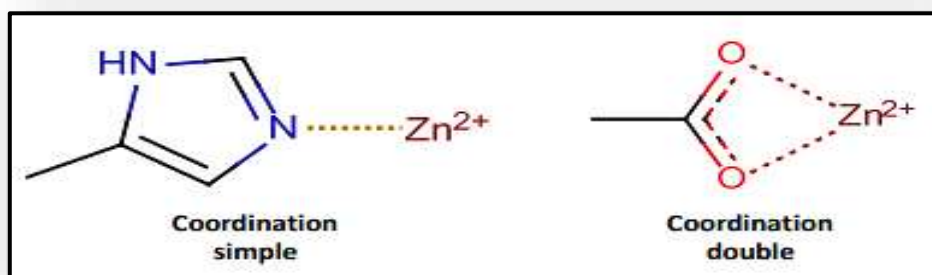


Figure 18 Exemples de liaison de coordination ligand-ion métallique. (Laurent HOFFER, Docteur de l'Université de Strasbourg, Chémoinformatique, 2013)

Les résidus impliqués dans ce type d'interaction sont principalement l'aspartate, le glutamate, l'histidine et la cystéine, et les principaux ions métalliques rencontrés sont le zinc, le fer, le calcium, le magnésium, le cuivre et le manganèse [75]. En pratique, une distance empirique maximale variant de 2,6 Å à 2,8 Å est généralement utilisée pour identifier ce type d'interaction.

9- Les Outils de Docking

Les éléments indispensables pour pratiquer un Docking moléculaire se limitent en un récepteur macromoléculaire de nature protéique appelée « cible », une petite molécule appelée ligand et un programme de Docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi.

9.1. Le récepteur

Un récepteur est un organe, une cellule ou une molécule qui assure la réception d'information. Dans le cas d'une molécule, le récepteur est une protéine spécialisée capable de se lier spécifiquement et réversiblement à une autre molécule appelée ligand. Les structures 3D que nous utilisons proviennent de la PDB « Protein Data Bank ». [76]

9.2. Ligand

Ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal. [77]

En Docking moléculaire, le choix du ligand est une étape très importante. Ce choix doit être pertinent en raison de la spécificité du site actif de la cible évitant de tester inutilement des molécules. [78]

9.3. Programme

Plus de 30 programmes de Docking moléculaire (commerciaux ou non) sont disponibles [79]. Les plus fréquemment cités sont respectivement : **AutoDock** [80], **GOLD** [81], **FlexX** [82], **DOCK** [83] et **ICM**. [84]

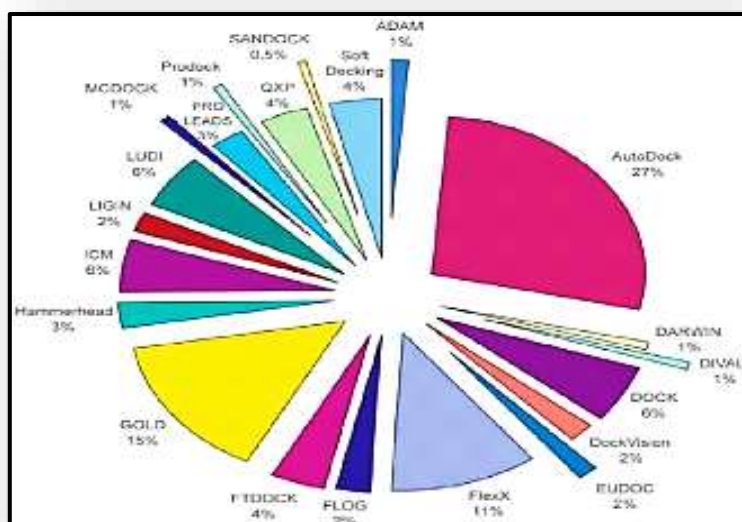


Figure 19 Comparaison des programmes de Docking les plus cités [85]

Tableau 2 Adresses des principaux programmes de Docking moléculaire. [86]

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

✓ SURFLEX

Parmi les programmes de Docking moléculaire, nous avons utilisé le programme Surflex pour réaliser le travail de recherche. Ce programme repose sur l'ajustement de fragments en commençant par construire un modèle « en négatif » du site actif dit protomol.

Ce modèle est constitué par le volume accessible du site et les points d'interaction tels que les sites de liaison hydrogène, les charges ou les sites lipophiles. Son algorithme est appelé également de fragmentation incrémentale car, dans un premier temps, la molécule est découpée en parties rigides et en liaisons flexibles. Par la suite, les parties rigides sont positionnées en premier et le ligand est reconstruit de proche en proche, explorant diverses conformations lors de la mise en place des liaisons flexibles ce qui permet un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés. [87]

Partie Pratique

Chapitre 4

**MATÉRIEL ET
MÉTHODES**

I. Matériel

1. Micro-ordinateur

Deux micro-ordinateurs ont été utilisés pour l'exécution et l'analyse de notre travail dont les caractéristiques sont rassemblées dans le tableau suivant :

Tableau 3 Les micro-ordinateurs utilisés et leurs caractéristiques.

	Micro-ordinateur 1	Micro-ordinateur 2
Mémoire (RAM)	4.00 GO	8.00 GO
Type du système	Système d'exploitation 64 bits	Système d'exploitation 64 bits
Processeur	Intel(R) Core (TM) i5-4300 CPU @ 1.90 GHz, 2494 MHz	Intel(R) Core (TM) i5-4210U CPU @ 1.70 GHz, 2.40GHz
Système d'exploitation	Microsoft Windows 10 professionnel	Windows Windows 10 professionnel

L'utilisation de plusieurs programmes et la consultation de plusieurs bases et banques de données ont été nécessaires pour pouvoir réaliser notre partie pratique.

2. Les banques de données et les sites internet

➤ PDB (Protein Data Bank)

La banque de données protéiques (Protein Data Bank) est la principale source de données de biologie structurale et permet en particulier d'accéder à des structures 3D de protéines d'intérêt pharmaceutique. Ces structures sont principalement déterminées par les deux méthodes la cristallographie à rayons X et la RMN.

➤ PubChem

C'est une banque de données américaine de molécules chimiques gérée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI), branche de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis sous l'autorité de la National Institute of Health (NIH) (Murray, 2001). La PubChem englobe plusieurs millions de composés mis en ligne, gratuitement, pour chaque substance une grande quantité de données de divers ordres chimique, biochimique, Pharmacologique, production, toxicologie. [88]

3. Les programmes

➤ **Arguslab**

Dans sa version 4.0.1. Il nous a permis de séparer les complexes issus de la pdb.[98]

➤ **Viewerlite**

Dans sa version la plus récente 4.2.0 pour la visualisation des interactions hydrophobes et les liaisons hydrogènes formées entre les différents inhibiteurs et le site actif de l'enzyme étudiée.[89]

➤ **OpenBabel**

Dans sa version 2.4.1. Il nous a servi pour la conversion des fichiers, contenant les données chimiques, d'un format à un autre (pdb, mol2, sdf, smile.....).[99]

➤ **Surflex**

Dans sa version 1.3. Nous a permis de réaliser un docking moléculaire rapide afin d'arrimer les ligands dans un environnement constitué d'acides aminés avec une bonne précision. [100]

➤ **Excel (2019)**

Nous a permis de tracer et calculer respectivement la droite et le coefficient de corrélation linéaire.

➤ **Biovia Discovery studio visualizer**

Nous a permis de préparer et visualiser aussi bien l'enzyme que les ligands afin d'étudier les interactions effectuées entre la protéine et le ligand. [101]

➤ **Titan**

Dans sa version 1.0.1, nous a permis la construction moléculaire des ligands issus de la littérature ainsi que la minimisation de leur énergie intramoléculaire.

➤ **DruLiTo**

Permet de calculer les propriétés physico-chimiques des molécules aux formats .sdf et .mol auxquelles il applique plusieurs filtres tels que la règle de Lipinski.

II. Méthode

1. Docking moléculaire (D.M)

Le docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules extraites, dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. 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. Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand ». [90]

2. Tests d'évaluation de la fiabilité du docking

Il est nécessaire d'étudier la fiabilité des logiciels d'ancrage moléculaire afin de valoriser les résultats fournis le long de notre travail. On a réalisé deux tests pour affirmer la fiabilité de notre logiciel utilisé « Surfex », le premier concerne **le coefficient de corrélation (r)** et le deuxième, **le RMSD (Root-Mean-Square Deviation)**.

2.1. Coefficient de corrélation linéaire (r)

Le coefficient de corrélation linéaire de Bravais-Pearson permet d'étudier l'intensité et le sens de la corrélation qui existe entre deux variables, dans notre cas : les valeurs expérimentales de l'IC₅₀ des molécules étudiées et leurs affinités simulées par le docking moléculaire. La valeur du coefficient de corrélation est située entre -1 et 1. Plus le coefficient de corrélation est proche des valeurs extrêmes -1 et 1, plus la corrélation linéaire entre les variables est forte. [91]

2.2. Le RMSD ou l'écart quadratique moyen

La fiabilité d'un programme de docking est évaluée en termes de capacité à reproduire des complexes protéine-ligand déterminés expérimentalement.

La valeur de déviation quadratique moyenne ou RMSD (Root Mean Square Deviation) entre la conformation et l'orientation du ligand déterminée par le programme de docking et sa pose dans le complexe expérimental doit être la plus petite possible. Le ratio admis est une différence maximale de 2 angströms (Vieth et al, 1998 ; Grosdidier, 2007 ; Chikhi et Bensegueni, 2008). Plus la valeur de déviation quadratique moyenne se rapproche de 0, plus la conformation

prédite par le logiciel se superpose avec celle de référence. La norme actuelle pour évaluer la performance d'un logiciel de docking est de faire ce test sur environ une centaine de complexes protéine-ligand cristallisés (Kramer et al, 1999 ; Kellenberger, 2004). Ce premier test a été réalisé sur 200 complexes tirés de la PDB. [91]

3. Le choix du complexe 4fkl

La **Cyclin-dependent kinase 2** est la cible thérapeutique que nous avons étudiée dans notre travail, sa structure tridimensionnelle est disponible sous format pdb via la banque de données Protein Data Bank. Parmi les 50 complexes "cdk2 humaine-inhibiteur" proposés par cette banque, nous avons choisi le complexe ayant pour code : 4fkl. Le choix de ce complexe est dicté par sa faible valeur de résolution 1.26 Å et son faible poids moléculaire. Le complexe a été téléchargé sous format pdb :

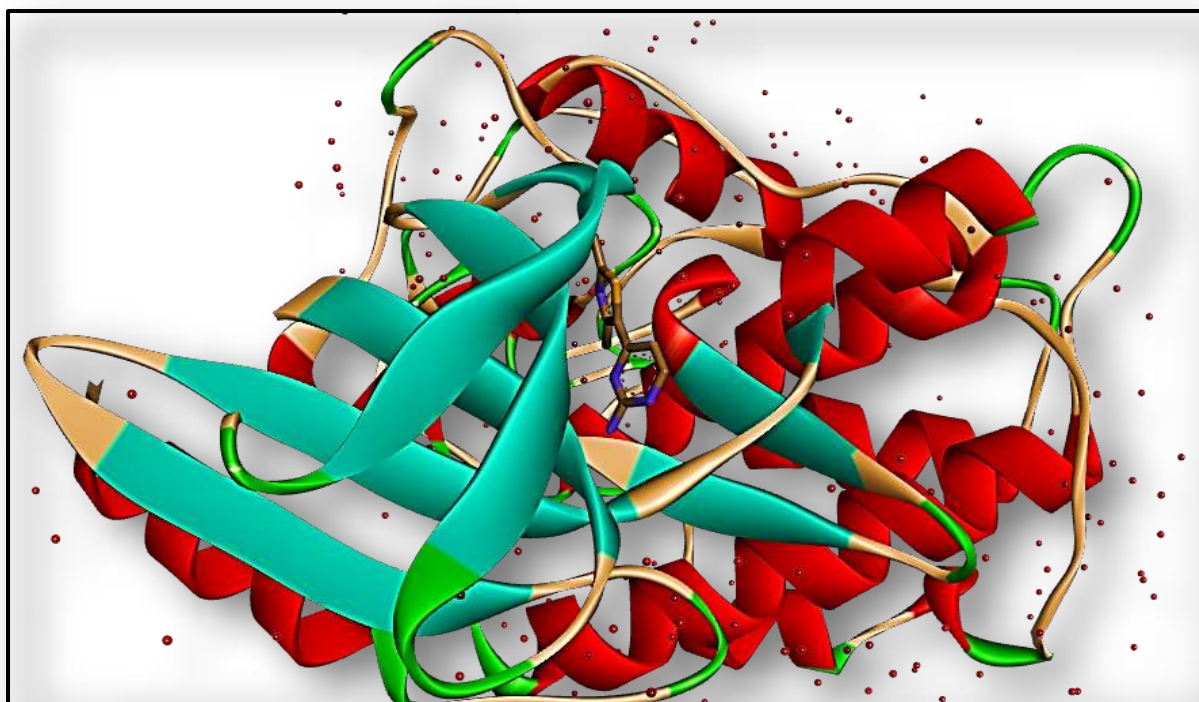


Figure 20 Structure tridimensionnelle du complexe 4fkl

Aussi, parmi les différents complexes ; le ligand du complexe 4fkl affiche les meilleures caractéristiques physicochimiques que l'on retrouve dans le tableau suivant :

Tableau 4 Les caractéristiques physicochimiques du ligand de référence CK2 .

Le ligand	PM	Donneur de H	Accepteur de H	Liaison rotatable	Log P
CK2	210.09	4	4	1	-0.151

4. Préparation des molécules au docking moléculaire

4.1. Préparation de la protéine

Notre cible thérapeutique traitée est la **Cyclin-dependent kinase 2 (cdk2 ou 4fkl-p)**. Avant son utilisation par Surflex, le complexe 4fkl doit subir quelques modifications nécessaires : L'enzyme étant formée d'une seule chaîne, nous avons éliminé les molécules d'eau et le ligand par Arguslab pour permettre une utilisation plus aisée de l'enzyme avec un site actif libre lors du docking moléculaire. Le programme Surflex fonctionne mieux avec le format .mol2, donc les molécules sont protonées et transformées dans le format .mol2 par le programme OpenBabel 2.4.1.

4.2. Préparation des ligands

- La séparation du ligand (CK2 ou **4fkl-I**) par Arguslab est réalisée par l'élimination de tous les autres composants du complexe (protéine, molécules d'eau, métaux...).
- Enregistrement des modifications apportées au ligand (CK2) au format pdb.
- Conversion des ligands (ligand de référence ou autres) au format .mol2 pour les adapter au docking par Surflex grâce à OpenBabel 2.4.1.

4.3. Les étapes du docking

Nous avons réalisé les étapes du docking moléculaire par le logiciel Surflex selon le protocole suivant [92] :

➤ **1ère étape : génération du protomol**

L'identification du site actif par la construction d'une pseudo-molécule appelée « protomol » est une étape réalisée grâce à la commande suivante :

Surflex-dock proto 4fkl-I.mol2 4fkl-p.mol2 pl

➤ **2ème étape : le docking moléculaire**

Cette étape nécessite la disponibilité de la protéine format .mol2, le protomol généré dans l'étape précédente et les ligands sous format .mol2. Le docking moléculaire par « Surflex » permet d'avoir les dix (10) meilleures positions (conformations) de chaque ligand au sein du site actif étudié, classées par leur score (Final-0, Final-1.....Final-9). Cette étape a été réalisée en utilisant la commande suivante :

Surflex-dock dock 4fkl-l.mol2 pl-protomol.mol2 4fkl-p.mol2

➤ **3ème étape : calcul du RMSD**

Le RMSD considéré est celui des atomes lourds ; Cette étape a été réalisée en utilisant la commande suivante :

Surflex-dock rms 4fkl-l.mol2 final-0.mol2

➤ **4ème étape: optimisation du RMSD**

Cette étape est supplémentaire pour optimiser quelques valeurs du RMSD. Cette étape a été réalisée en utilisant la commande suivante :

Surflex-dock oprms ligand.mol2 final-0.mol2

5. Recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques de la cdk2

5.1. Le criblage virtuel

La banque de donnée PubChem fournit un nombre de similaires coordonné avec le taux de similarité structurale désiré au ligand de référence. Cette dernière nous a proposé 236 composés présentant 92 % d'homologie à notre ligand de référence. Nos similaires ont été téléchargés puis convertis du format .sdf au format .mol2 avec le programme OpenBabel 2.4.1.

Ces similaires ont subi un criblage virtuel au niveau du site actif de notre cible enzymatique dans le but de prédire leur affinité envers elle grâce à la commande « dock_list » du logiciel Surflex.

Cette commande ne s'applique qu'après une préparation indispensable comme suit :

- Répertoire dans un dossier les similaires.
- Créer un fichier que l'on nomme « ligarchive » par exemple, incluant l'adresse de chaque similaire dans son répertoire précis.
- Fournir la protéine ainsi que le protomol au format .mol2.

Dans notre travail, nous avons utilisé une nouvelle méthode dont le logiciel OpenBabel nous a permis la conversion de tous les ligands au même temps dans un seul fichier nommé

« ligarchive » au format .mol2. On note bien que cette dernière est plus rapide que la précédente.

Surflex-dock dock_list ligarchive pl-protomol.mol2 protein.mol2 log

Pour obtenir un seul résultat (final-0) par ligand nous avons utilisé la commande suivante :

Surflex-dock -ndock_final 1 dock_list ligarchive pl-protomol.mol2 protein.mol2 log

Dans cette partie nous avons remplacé le mot « log » par le mot ligand afin d'obtenir des résultats bien ordonnées et nommés du premier ligand jusqu'au dernier .

Surflex-dock -ndock_final 1 dock_list ligarchive pl-protomol.mol2 protéine.mol2 ligand

```

File Edit Format View Help
|145241382: 42 atoms, 4 rot: [Time 5: srch 0 aln 1 m+c 2 pol 2] [Ncn 75: 3 26 2466 2576]
  [ligand-0: 6.47 crash -2.21 polar 2.74 ]
|145241378: 28 atoms, 2 rot: [Time 2: srch 0 aln 1 m+c 0 pol 1] [Ncn 73: 3 24 2424 2074]
  [ligand-1: 4.38 crash -0.26 polar 1.98 ]
|145241372: 33 atoms, 3 rot: [Time 3: srch 0 aln 0 m+c 2 pol 1] [Ncn 61: 3 12 2131 2521]
  [ligand-2: 4.53 crash -2.40 polar 3.38 ]
|145104957: 22 atoms, 3 rot: [Time 2: srch 0 aln 1 m+c 0 pol 1] [Ncn 73: 3 24 2424 2074]
  [ligand-3: 2.20 crash -0.35 polar 2.06 ]
|144906581: 24 atoms, 2 rot: [Time 2: srch 0 aln 1 m+c 0 pol 1] [Ncn 73: 3 24 2424 2074]
  [ligand-4: 3.22 crash -0.44 polar 2.98 ]
|143760996: 45 atoms, 5 rot: [Time 6: srch 0 aln 2 m+c 2 pol 2] [Ncn 85: 3 36 2676 2586]
  [ligand-5: 4.50 crash -1.40 polar 2.21 ]
|143143329: 27 atoms, 2 rot: [Time 2: srch 0 aln 1 m+c 0 pol 1] [Ncn 73: 3 24 2424 2074]
  [ligand-6: 4.45 crash -0.35 polar 3.04 ]
|143143319: 32 atoms, 4 rot: [Time 3: srch 0 aln 1 m+c 0 pol 2] [Ncn 73: 3 24 2424 2074]
  [ligand-7: 3.17 crash -0.61 polar 1.08 ]
|143143311: 35 atoms, 5 rot: [Time 4: srch 0 aln 1 m+c 1 pol 2] [Ncn 73: 3 24 2424 2074]
  [ligand-8: 4.60 crash -1.25 polar 1.72 ]
|143143278: 30 atoms, 3 rot: [Time 3: srch 0 aln 1 m+c 0 pol 2] [Ncn 73: 3 24 2424 2074]
  [ligand-9: 4.26 crash -0.38 polar 3.05 ]
|142948185: 22 atoms, 1 rot: [Time 2: srch 0 aln 0 m+c 1 pol 1] [Ncn 59: 3 10 1401 1331]
  [ligand-10: 4.14 crash -0.28 polar 1.72 ]
|142210127: 19 atoms, 1 rot: [Time 1: srch 0 aln 0 m+c 0 pol 1] [Ncn 59: 3 10 1573 1503]
  [ligand-11: 4.03 crash -0.93 polar 2.36 ]
|141365955: 22 atoms, 1 rot: [Time 1: srch 0 aln 0 m+c 1 pol 0] [Ncn 55: 3 6 488 998]
  [ligand-12: 3.13 crash -0.30 polar 1.87 ]
|141351159: 30 atoms, 2 rot: [Time 3: srch 0 aln 1 m+c 1 pol 1] [Ncn 73: 3 24 2424 2074]
  [ligand-13: 3.18 crash -1.03 polar 2.75 ]
|141258356: 29 atoms, 2 rot: [Time 3: srch 0 aln 1 m+c 0 pol 2] [Ncn 73: 3 24 2424 2074]
  [ligand-14: 4.24 crash -0.80 polar 1.17 ]
|141258355: 29 atoms, 2 rot: [Time 3: srch 0 aln 1 m+c 0 pol 2] [Ncn 73: 3 24 2424 2074]
  [ligand-15: 4.09 crash -0.74 polar 1.89 ]
|141253361: 42 atoms, 5 rot: [Time 5: srch 0 aln 1 m+c 2 pol 2] [Ncn 77: 3 28 2508 2578]
  [ligand-16: 3.37 crash -1.30 polar 0.02 ]
|141172162: 25 atoms, 2 rot: [Time 1: srch 0 aln 0 m+c 0 pol 1] [Ncn 73: 3 24 2424 2074]
  [ligand-17: 4.03 crash -1.25 polar 1.49 ]
<

```

Figure 21 : les résultats obtenues par Surflex selon la nouvelle commande utiliser

5.2 . La modélisation moléculaire par substitution *in silico*

La modélisation moléculaire sert à construire de nouvelles molécules ou le remplacement de quelques groupements chimiques par d'autres. Ces substitutions ont été réalisées dans le but de découvrir de nouveaux inhibiteurs plus efficaces. L'étude de la modélisation moléculaire par substitution permet d'améliorer l'affinité de manière significative par un choix judicieux des fragments à substituer et de proposer de nouveaux inhibiteurs meilleurs que notre ligand de référence.

6. Filtrage ADME/Tox

Chaque médicament éventuel doit de se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible coût de production, être soluble, stable, brevetable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité [93]. En 1997 Lipinski et al ont proposé « la règle de 5 » également appelée « règle de LIPINSKI » permettant de déterminer si un composé chimique possède des caractéristiques médicamenteuses précises. Selon cette règle, un composé possède toutes les chances d'être disponible oralement s'il respecte au moins 3 des 5 critères suivants :

1. Possède une masse moléculaire inférieure à 500 daltons.
2. Un coefficient de partition (log P) ou une lipophilie entre -2 et 5.
3. Ne possède pas plus de 5 donneurs de ponts hydrogène (OH et NH).
4. Ne possède pas plus de 10 accepteurs de ponts hydrogène (O et N).
5. Le nombre de fonctions rotatives (flexibles et linéaires) inférieur à 15. [94]

Le log P est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanol et dans l'eau. $\log P = \log (\text{Coct}/\text{Ceau})$. Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule. Diverses études statistiques ont mis en évidence les valeurs optimales de log P pour qu'un composé (typiquement un médicament) soit absorbé par le corps humain :

- Pénétration au cerveau: **2,0**
- Absorption orale: **1,8**
- Absorption sublinguale: **5**
- Absorption percutanée: **2,6** [94]

Des compléments à cette règle ont été apportés, notamment par Veber :

- Le nombre de liaisons à libre rotation (FRB) ≤ 10
- La surface polaire de la molécule (PSA) $\leq 140 \text{ \AA}$ [95]

Les paramètres précédemment cités sont déduits à partir des structures 3D en utilisant le logiciel DruLiTo pour nos meilleurs composés substitués.

7. Analyse visuelle des interactions établies entre le ligand et les acides aminés du site actif

C'est une étape importante qui permet de vérifier et de comparer les résultats du RMSD calculé et la superposition des molécules. Elle permet également d'observer et de dénombrer les différentes interactions réalisées entre le ligand et les résidus du site actif.

Chapitre 5

**RÉSULTATS ET
DISCUSSION**

Dans le domaine de la modélisation moléculaire, l'**amarrage** est une méthode qui calcule l'orientation préférée d'une molécule vers une seconde lorsqu'elles sont liées par l'ensemble des interactions assurant la stabilité du complexe formé et déclenchant un signal responsable de l'effet thérapeutique.

Avec le développement des outils informatiques dans les 20 dernières années, la modélisation moléculaire et plus précisément le Docking moléculaire s'est très vite introduit dans le domaine de la recherche en biologie. Le programme de Docking moléculaire Surfex est développé pour aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique. Il a été utilisé pour étudier l'inhibition de la cdk2, dans le but de découvrir des nouveaux inhibiteurs. L'évaluation de l'affinité de ces molécules a mis en évidence celles présentant le meilleur effet inhibiteur.

L'intensité de signal est calculée par ce programme qui traduit en score basé sur la puissance de l'affinité ou l'énergie attribuée par l'ensemble des interactions.

1. Tests de fiabilité du programme SURFLEX

Avant d'aborder l'étude de l'inhibition de la cdk2 par diverses molécules, nous avons tenté d'évaluer la fiabilité du programme Surfex utilisé.

Souvent, les performances d'un programme de Docking moléculaire sont évaluées en termes de capacité à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux.

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

- La détermination du RMSD complétée par une visualisation des complexes formés.
- Le calcul du coefficient de corrélation.

1.1. RMSD

En bio-informatique , la **déviati on quadratique moyenne des positions atomiques** (ou simplement **la déviati on quadratique moyenne , RMSD**) est la moyenne de la déviati on de chacun des atomes du ligand (ligand docké) par rapport à ceux de la molécule d'origine (ligand de référence).

Ce test permet d'estimer la performance du programme de Docking à reproduire l'orientation spatiale expérimentale du ligand à l'intérieur du site actif. Le positionnement correspond à l'identification correcte du site de liaison sur la protéine. Autrement dit, il faut que l'évaluation quantitative de la déformation spatiale entre la pose du ligand calculée par Surfex et la conformation dans le complexe expérimental soit la plus petite possible. Donc ce test se base sur une comparaison entre le ligand de référence et celle prédite par le logiciel de Docking après calcul des interactions qui présente une conformation ayant la plus grande affinité (final-0).

Le test est approuvable seulement si la valeur du RMSD est inférieure ou égale à 2 Å. L'évaluation de la fiabilité du programme par le RMSD a été effectuée sur 200 complexes (protéine-ligand) que nous avons téléchargés de la PDB et regroupés dans le tableau 1 des annexes.

Parmi 200 complexes utilisés, seuls 139 complexes ont eu une valeur de $RMSD \leq 2 \text{ \AA}$ et sont considérés comme résultats positifs. Ce qui donne à un pourcentage de 69.5 % et que seulement 30.5 % des résultats sont supérieurs à 2 Å.

Conformément aux travaux de (Chikhi. A. et Bensegueni. A., 2008) et (Teniou. S., 2012) qui révèlent un pourcentage de 63% à partir de 300 complexes et 85,8% sur 134 complexes successivement. Le programme Surfex est un outil de modélisation moléculaire de haute performance.

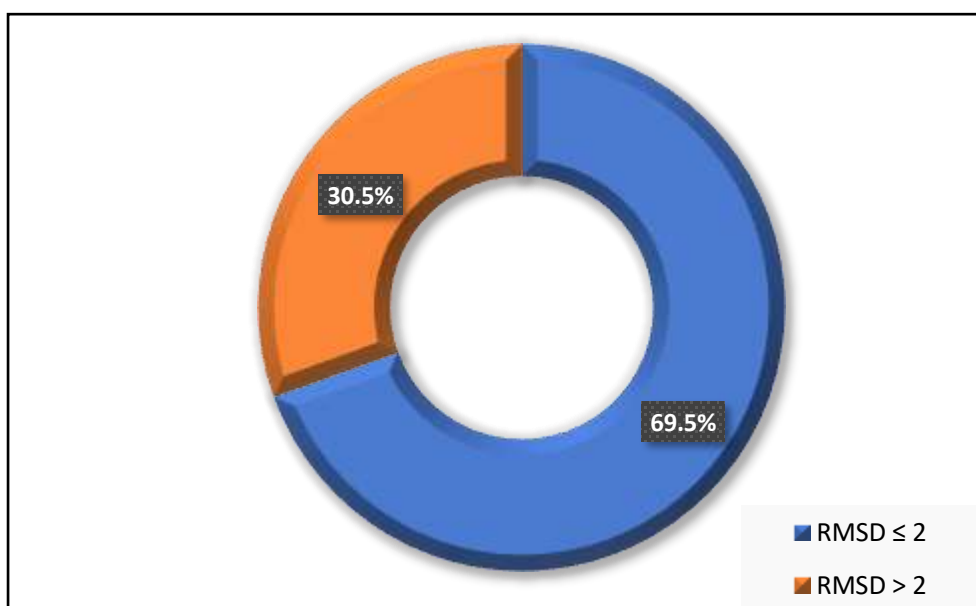


Figure 22 L'anneau bleu représentant le pourcentage des RMSD inférieurs à 2Å obtenus par Surfex.

1.2. L'analyse visuelle

L'analyse visuelle faisant suite au test RMSD est une étape essentielle et complémentaire pour juger la performance du programme Surflex. Elle permet une vérification de la superposition du ligand expérimental par rapport à celui docké.

La visualisation des résultats du Docking moléculaire est réalisée avec 4 inhibiteurs dont le premier a un RMSD inférieur à 2 Å ; le deuxième a une valeur proche de 2 Å ; le troisième est nettement supérieur à 2 Å ; quant au quatrième nous avons choisi un résultat de Docking optimisé par le logiciel Surflex par l'option « oprms » qui présente une valeur de 0.275 Å.

La comparaison des conformations expérimentales du ligand et des conformations optimales calculées par le logiciel Surflex des 4 complexes est montrée dans les figures suivantes :

La meilleure conformation du ligand générée par le Docking (colorée en vert) est superposée à la pose expérimentale du ligand de référence (colorée en rose).

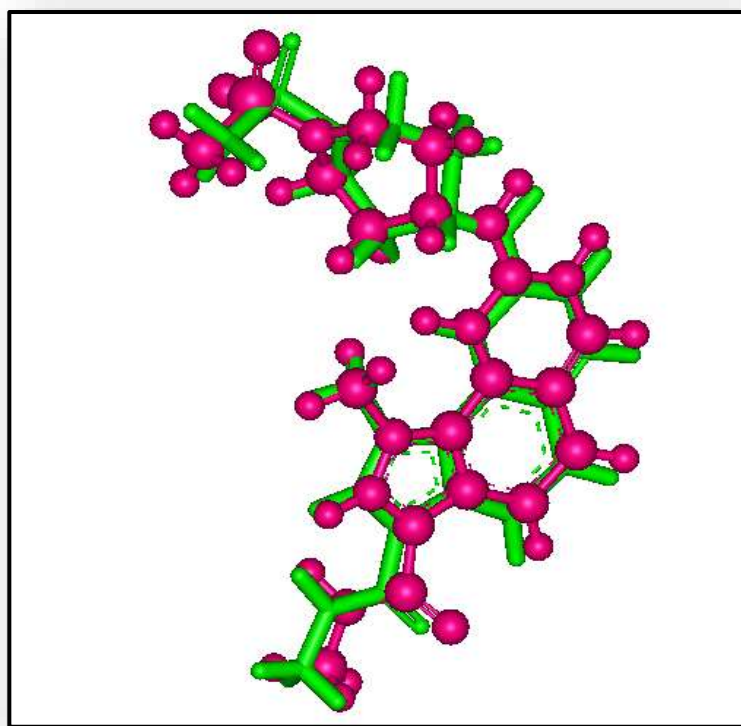


Figure 23 Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en vert) du complexe 2wxv (RMSD = 0.53 Å).

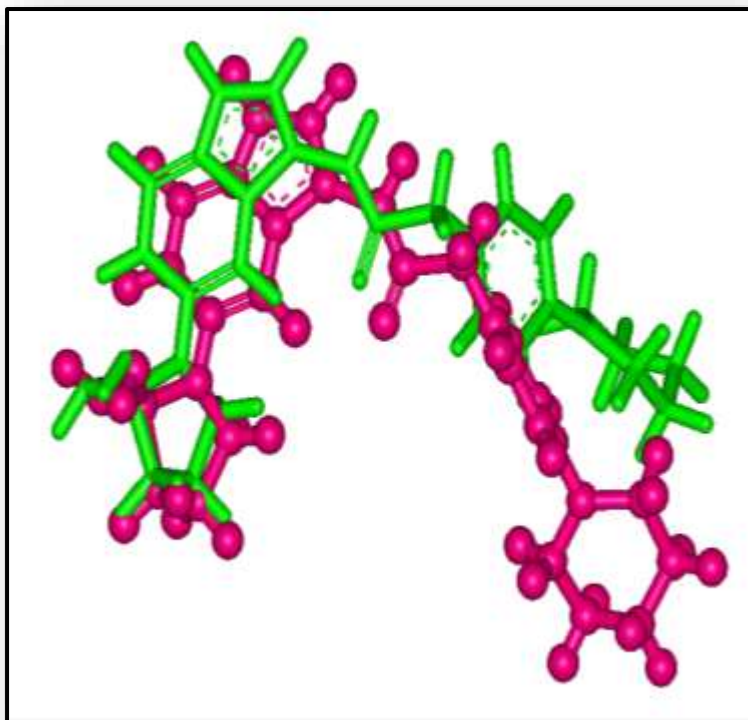


Figure 24 Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en vert) du complexe 2r64 (RMSD = 2.06 Å).

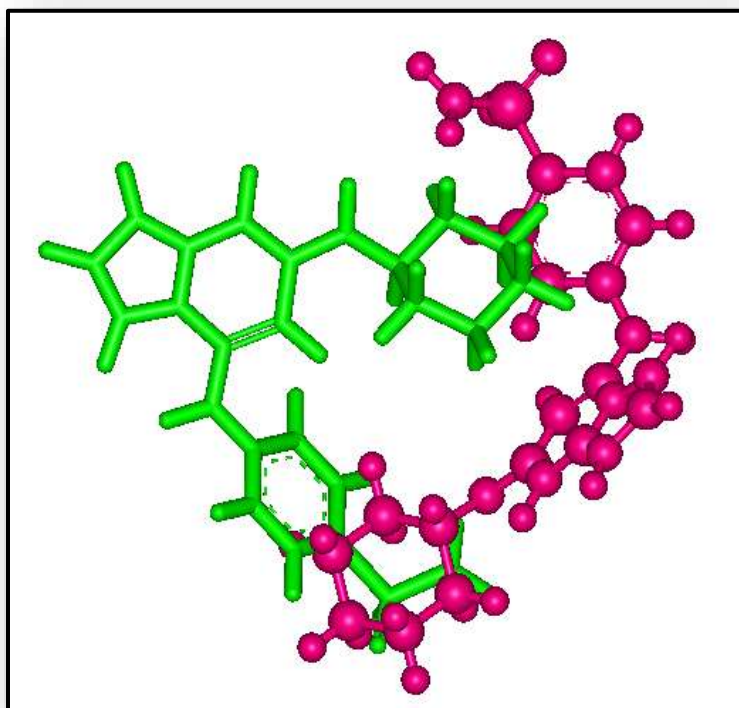


Figure 25 Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en vert) du complexe 2c6k (RMSD = 5.99 Å).

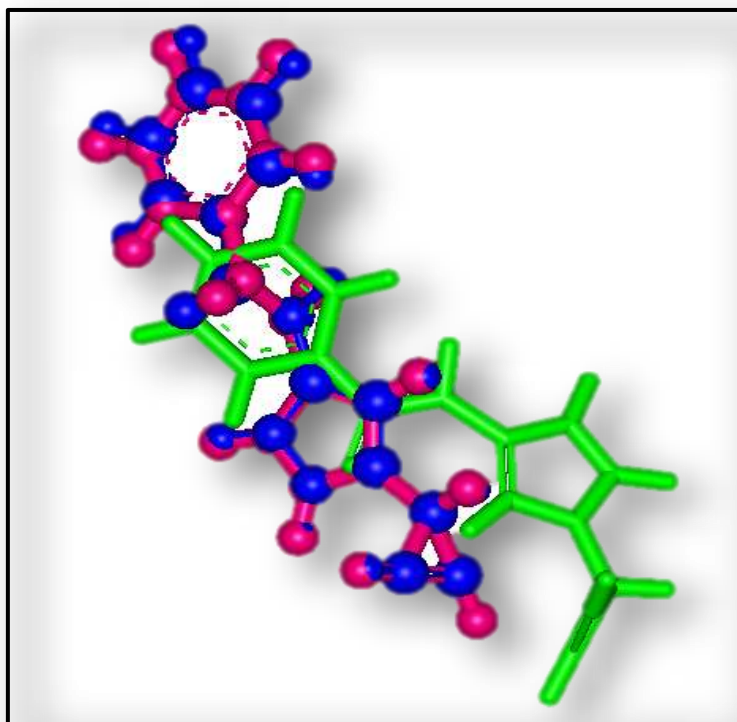


Figure 26 Comparaison de la géométrie du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surfex avant l'optimisation (coloré en vert) (RMSD = 2.33 Å) et aussi du finale-0 calculé par Surfex après l'optimisation (coloré en bleu) du complexe Ivyz (RMSD = 0.27 Å).

Dans le premier cas la superposition de la conformation optimale du ligand obtenue par docking avec la géométrie du même ligand donnée par diffraction des rayons-X est maximale, de ce fait la superposition est presque parfaite (figure 23).

Dans le deuxième cas, avec un RMSD de 2.06 Å, elle l'est moins (figure 24), alors que pour le troisième complexe, avec un RMSD de 5.99 Å (figure 25), il n'y a aucune superposition remarquée.

Concernant le quatrième cas, la superposition du modèle du ligand simulé par Surfex sans optimisation est totalement loin vis-à-vis de la conformation déterminée expérimentalement, alors qu'après l'optimisation la superposition est presque parfaite avec un RMSD de 0.27 Å.

1.3. Le coefficient de corrélation (r)

Dans le même objectif, nous avons fait un deuxième test qui consiste principalement à évaluer le degré de corrélation qui existe entre les affinités de 38 inhibiteurs de la cdk2 calculées par Surfex et les valeurs de leurs IC₅₀ déterminées expérimentalement dans la littérature.

Ces derniers sont téléchargés à partir de la PDB dans le format pdb portant des codes et des IC₅₀ différent.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous ;

Tableau 5 Résultat de l'analyse entre les Affinités obtenus par Surfex et les log IC₅₀ des ligands déterminer expérimentalement de la pdb.

Composé	Code PDB	IC₅₀ (nM)	log IC₅₀	Affinité (M⁻¹)
01	2g9x	45	1,73	4.05
02	1r78	3	0,47	8.96
03	2duv	87	1,93	6.07
04	2uzn	30	1,47	6.96
05	2b52	8	0,9	8.54
06	2bpm	2	0,32	7.04
07	2uzb	120	2,07	5.3
08	3py1	130	2,11	8.58
09	3ej1	120	2,07	5.53
10	3py0	130	2,11	7.16
11	2r64	30	1,47	6.13
12	2j9m	140	2,14	5.13

13	2wih	45	1,65	6.69
14	2iw9	8.89	0,94	6.56
15	2iw6	140	2,14	5.27
16	2w06	83	1,91	5.53
17	3eoc	230	2,36	6.1
18	3ns9	3	0,47	8.45
19	3qtu	70	1,84	6.15
20	3qtx	70	1,84	7.05
21	3qtz	50	1,69	6.09
22	3quo	20	1,3	6.09
23	3rah	12	1,07	8.31
24	3ral	100	2	6.06
25	3rpv	70	1,82	5.92
26	3s2p	68	2	6.67
27	4fki	67	1,84	5.56
28	4fko	12	1,83	4.01
29	3pj8	40	1	4.65
30	1aq1	7	0,84	9.18
31	4erw	7	0,84	7.59
32	4rj3	93	1,96	1.07
33	2btr	95	1,96	3.54
34	2w17	2	1,96	9.78

35	1ckp	9	0,3	8.2
36	2vtq	140	2,14	4.01
37	1ke6	5.69	0,75	9.84
38	3uli	70	1,84	7.48

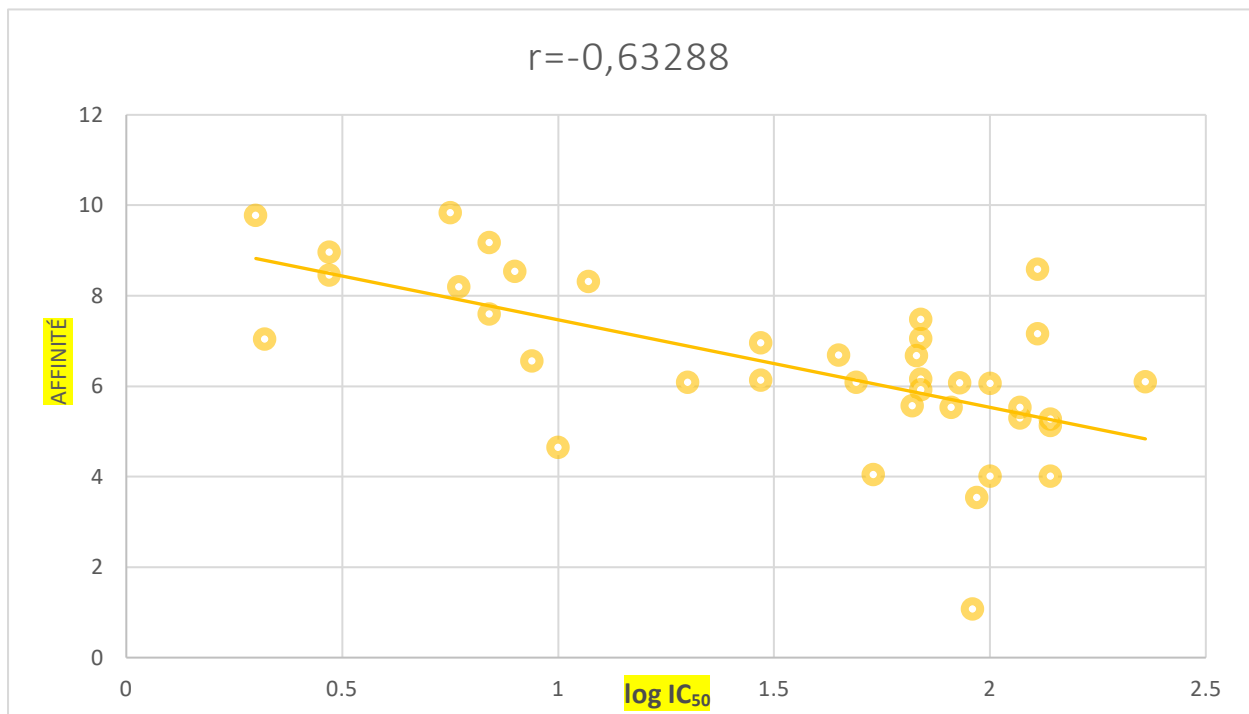


Figure 27 Corrélation entre l'activité biologique ($\log IC_{50}$) et l'affinité calculée par Surfex des 38 complexes choisis.

La valeur r égale à -0.63 montre qu'il y a une corrélation entre les deux paramètres analysés. Cette valeur légèrement supérieure au valeur absolue à -0.5 signifie que la corrélation a une intensité moyenne négative.

Les résultats des travaux effectués par d'autres auteurs sont bien meilleurs que le notre. En effet, ils ont trouvé la valeur $r = 0.70$ (BRAHMI .A et BOUGUERN .A., 2019) affirmant ainsi la performance du logiciel Surfex.

2. Etude et recherche de nouveaux inhibiteurs de la cdk2

La plupart des laboratoires pharmaceutiques implique une stratégie pour optimiser et découvrir de nouveaux médicaments plus efficaces à dose minimale dévoilant une moindre toxicité. Dans ce cadre nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs plus puissants envers la cdk2 que le ligand de référence CK2.

Il est primordial d'étudier, dans un premier temps, les mécanismes mis en jeu dans l'interaction du meilleur inhibiteur réellement actif sur la cible.

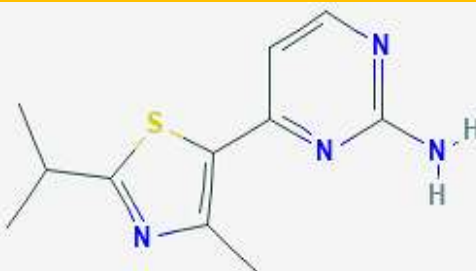
2.1. Le criblage virtuel des similaires

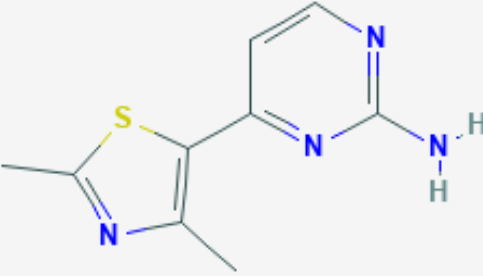
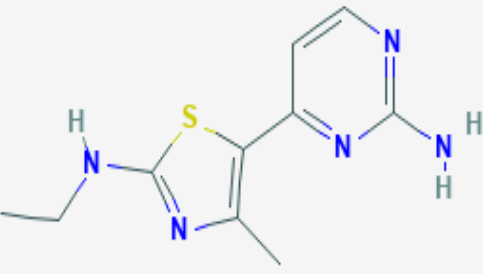
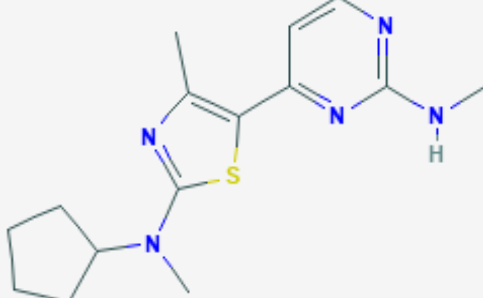
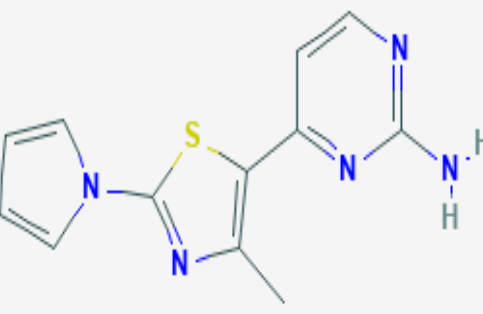
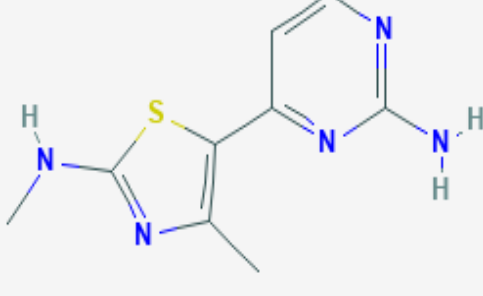
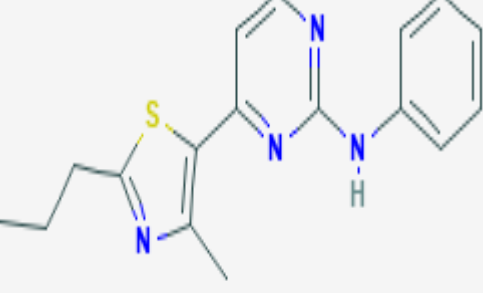
Nous avons effectué le criblage virtuel de 236 similaires du ligand de notre complexe 4fkl téléchargés de la chimiothèque PubChem présentant une homologie structurale de 92 % à notre ligand de référence.

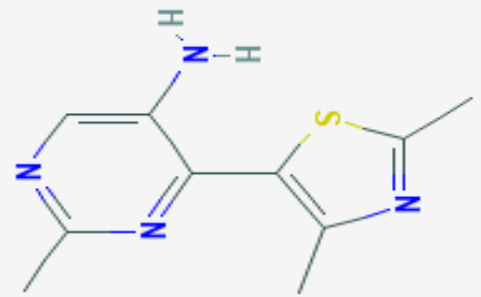
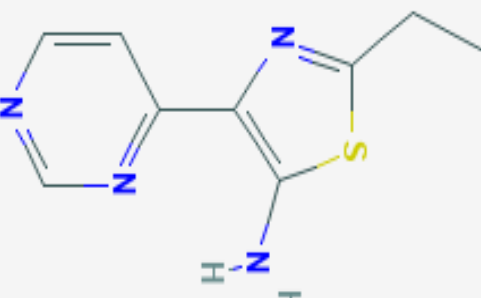
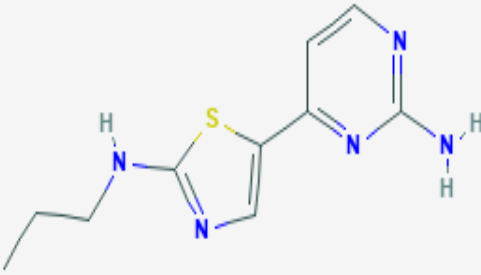
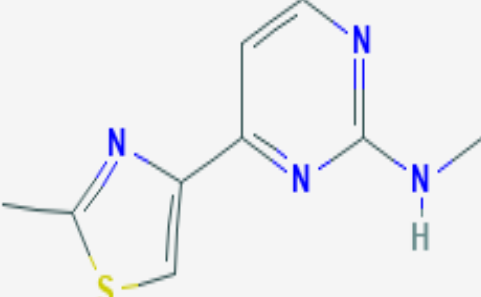
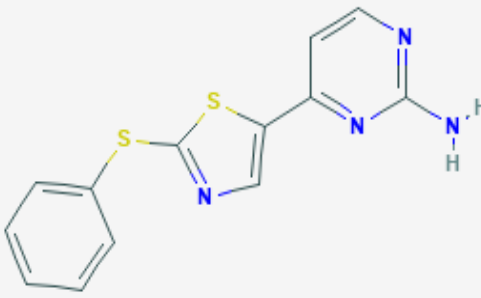
A l'aide du programme Surflex, nous avons pu simuler la formation de ces complexes et évaluer leurs affinités. L'interface graphique **Biovia Discovery Studio** nous a aidés à visualiser le nombre et le type de liaisons mises en jeu lors de ces interactions.

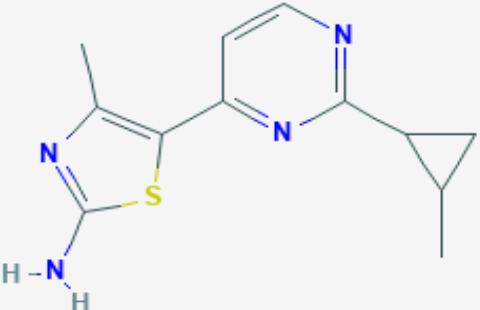
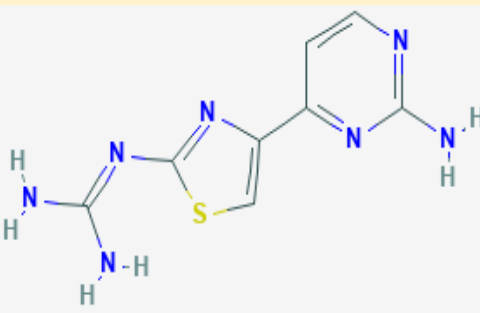
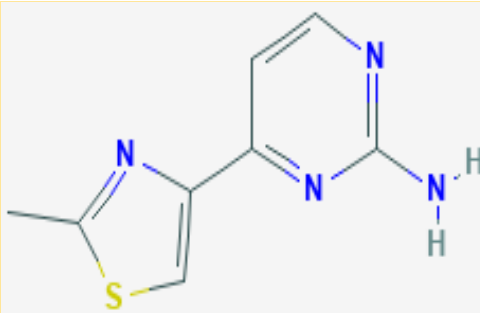
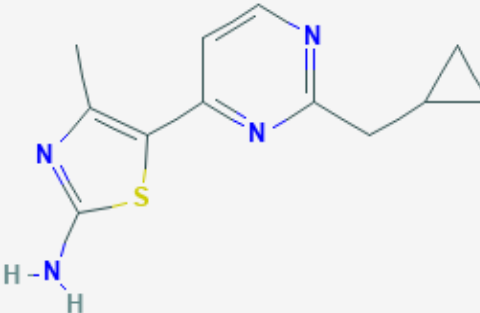
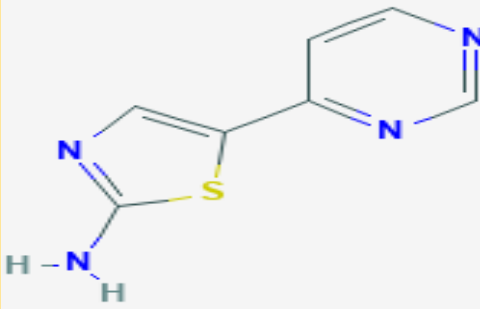
Parmi les 236 similaires (regroupés dans le tableau 2 des annexes), seulement 22 ligands présentent une affinité supérieure à celle de notre ligand de référence, estimée à $4.63M^{-1}$ et que nous regroupons dans le tableau 2 :

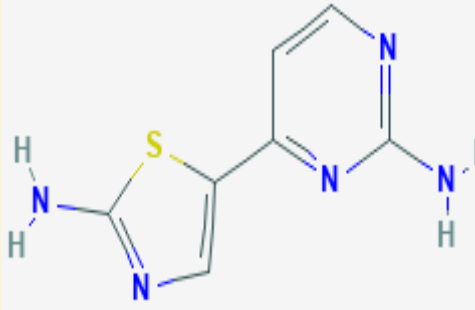
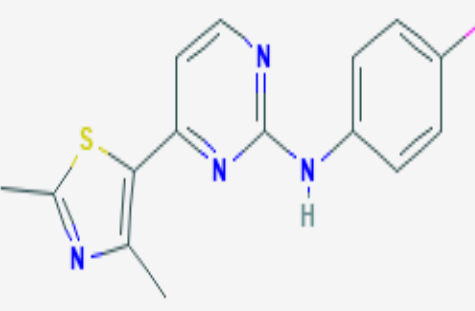
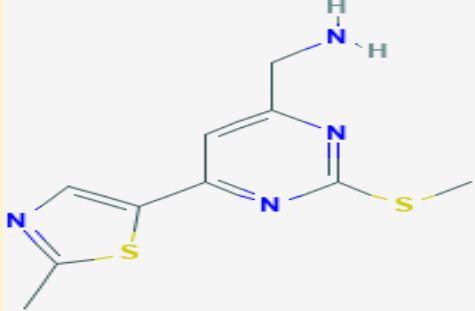
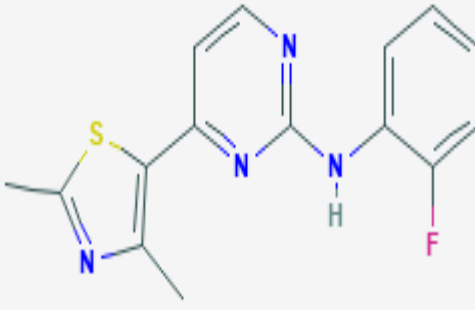
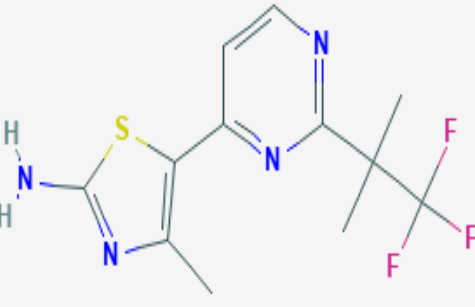
Tableau 6 Les 22 meilleurs similaires, leurs affinités et leurs structures.

N°	InChI Key du composé	N° CID	Affinité (M ⁻¹)	La structure
01	YYJWREDJUARDP U-UHFFFAOYSA-N	126534318	7.13	

<p>02</p>	<p>CTFDMGIBHFQW KB-UHFFFAOYSA- N</p>	<p>447956</p>	<p>6.71</p>	
<p>03</p>	<p>IOUXEYWLUIRPPF -UHFFFAOYSA-N</p>	<p>11637250</p>	<p>6.54</p>	
<p>04</p>	<p>MESAXUJAZPWO GS-UHFFFAOYSA- N</p>	<p>145241382</p>	<p>6.47</p>	
<p>05</p>	<p>ISVYGEMPWNXK NE-UHFFFAOYSA- N</p>	<p>10220758</p>	<p>6.35</p>	
<p>06</p>	<p>AOBBJOVOCADLP V-UHFFFAOYSA-N</p>	<p>11651467</p>	<p>6.27</p>	
<p>07</p>	<p>OTZHGFSNHNAZL N-UHFFFAOYSA-N</p>	<p>57507176</p>	<p>6.13</p>	

<p>08</p>	<p>RICOOOWKRNGK QP-UHFFFAOYSA- N</p>	<p>131487622</p>	<p>6.05</p>	
<p>09</p>	<p>YKRFNVSXQLDX BI-UHFFFAOYSA- N</p>	<p>131558795</p>	<p>5.77</p>	
<p>10</p>	<p>LZGJIKPAJYGGJH- UHFFFAOYSA-N</p>	<p>90885992</p>	<p>5.71</p>	
<p>11</p>	<p>BVBJTVKYZIJD M Y-UHFFFAOYSA-N</p>	<p>116202548</p>	<p>5.68</p>	
<p>12</p>	<p>CTSHTIFAOVOIOK -UHFFFAOYSA-N</p>	<p>141147839</p>	<p>5.53</p>	

<p>13</p>	<p>ZHTPRFXALUPNC R-UHFFFAOYSA-N</p>	<p>59293707</p>	<p>5.45</p>	
<p>14</p>	<p>RWCROZABXCKIB X-UHFFFAOYSA-N</p>	<p>13582277</p>	<p>5.31</p>	
<p>15</p>	<p>KGAZZYVJCPKVD V-UHFFFAOYSA-N</p>	<p>2744836</p>	<p>5.30</p>	
<p>16</p>	<p>NBUROYAJOMCTF W-UHFFFAOYSA- N</p>	<p>57506658</p>	<p>5.24</p>	
<p>17</p>	<p>JPAGFEDOUUYBC I-UHFFFAOYSA-N</p>	<p>116811747</p>	<p>5.21</p>	

<p>18</p>	<p>MWPNLDGNUMFFG ES-UHFFFAOYSA- N</p>	<p>129839731</p>	<p>5.16</p>	
<p>19</p>	<p>KHCBBUSMCSOJK M-UHFFFAOYSA- N</p>	<p>9931269</p>	<p>5.11</p>	
<p>20</p>	<p>JVXZSQBBNZGGT G-UHFFFAOYSA-N</p>	<p>131510163</p>	<p>5.09</p>	
<p>21</p>	<p>HOKDXVAONYXH JK-UHFFFAOYSA- N</p>	<p>6539284</p>	<p>5.04</p>	
<p>22</p>	<p>VNMBPDQSFNGN AF-UHFFFAOYSA- N</p>	<p>59293733</p>	<p>5.03</p>	

Les 5 meilleurs sont :

- Le composé : 01 avec une affinité de **7.13 M⁻¹**.
- Le composé : 02 avec une affinité : **6.71 M⁻¹**.
- Le composé : 03 avec une affinité : **6.54 M⁻¹**.
- Le composé : 04 avec une affinité : **6.47 M⁻¹**.
- Le composé : 05 avec une affinité : **6.35 M⁻¹**.

2.1.1. La règle de cinq de Lipinski

Chaque pro-médicament doit respecter certaines conditions pour être considéré comme « Drug-like ». Notamment l'absorption, et la distribution du futur médicament dans le corps humain, donc la règle de Lipinski présente un excellent test pour accepter ou refuser les similaires comme inhibiteurs à potentiel médicamenteux.

Plusieurs serveurs web proposent le calcul de ces paramètres, comme le site Web SwissADME que nous avons consulté. Parmi les 22 ligands similaires, nous avons choisi les 5 premiers qui présentent une affinité largement supérieure à celle de notre ligand de référence, les résultats de cette opération sont cités dans le tableau 3.

Tableau 7 Les paramètres de la règle de cinq de Lipinski des 5 meilleurs similaires.

Nº	Nº CID	PM (g/mol)	Donneur De H	Accepteur De H	Liaison rotatable	Log P	Log K (perméation cutanée)
01	126534318	234.32	1	3	2	2.21	-6.20
02	447956	206.27	1	3	1	1.58	-6.58
03	11637250	235.31	2	6	3	1.7	-6.55
04	145241382	303.4	1	6	4	3.4	-5.76
05	10220758	257.32	1	5	2	1.7	-6.65

D'après les 2 tableaux nous avons conclu que les 5 similaires inhibent la cdk2 avec une affinité (final-0) supérieure à 4.63M⁻¹ et remplissent tous les critères de la règle de cinq de Lipinski validant ainsi leur biodisponibilité orale.

NB : l'activité biologique ne peut être confirmée que par des tests « in vitro » et/ou

« In vivo ».

2.1.2. L'analyse visuelle et discussion des interactions

Dans cette étude, on commence toujours avec les cinq molécules ayant les meilleures propriétés parmi les composés étudiés précédemment.

Le docking de ces composés dans le site actif de la protéine donne plusieurs informations intéressantes concernant les interactions formées entre ces derniers. Nous avons fait appel à l'interface graphique " Show 2D" du programme **Biovia Discovery Studio** pour visualiser et analyser le nombre et le type de liaison formant le complexe.

Les interactions prédites par le docking sont, en général, électrostatiques. Parmi les liaisons électrostatiques, les liaisons Hydrogènes sont très répandues et importantes en raison de leur force qui bascule entre celle de la liaison covalente et celle des forces de Van Der Waals. [96]

A - Etude des interactions du composé 1

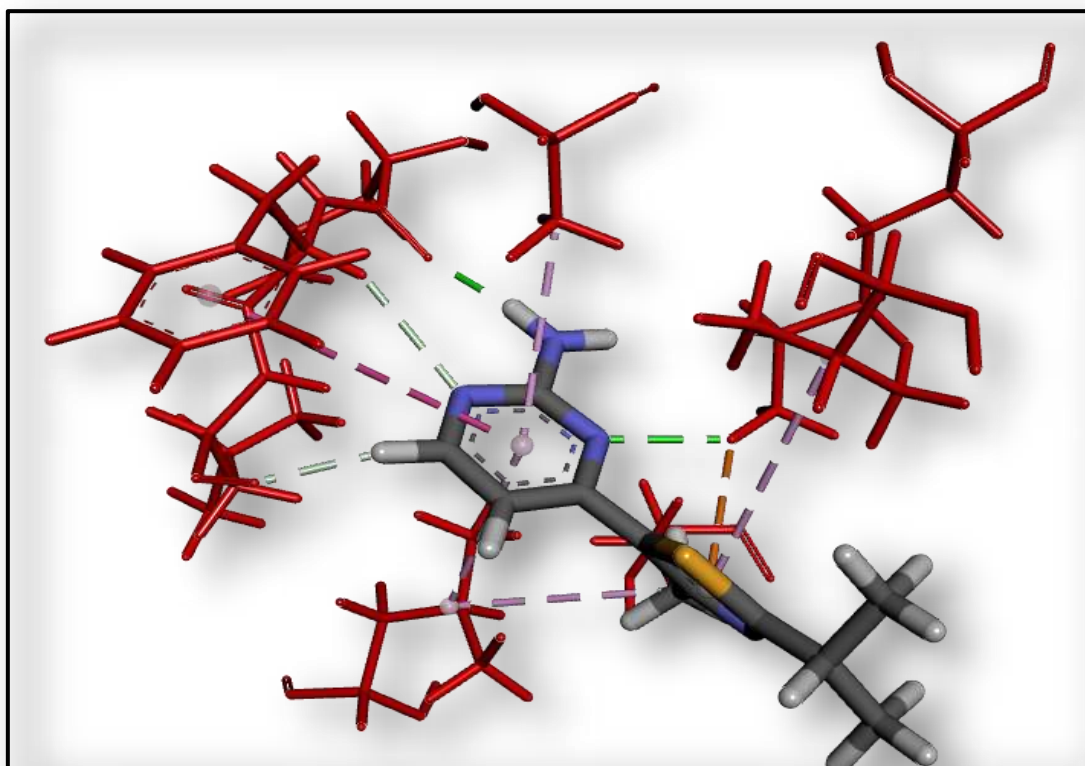


Figure 28 Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 1 avec le site actif de la 4fkl.

La présentation des interactions récepteur-ligand en schéma 2D

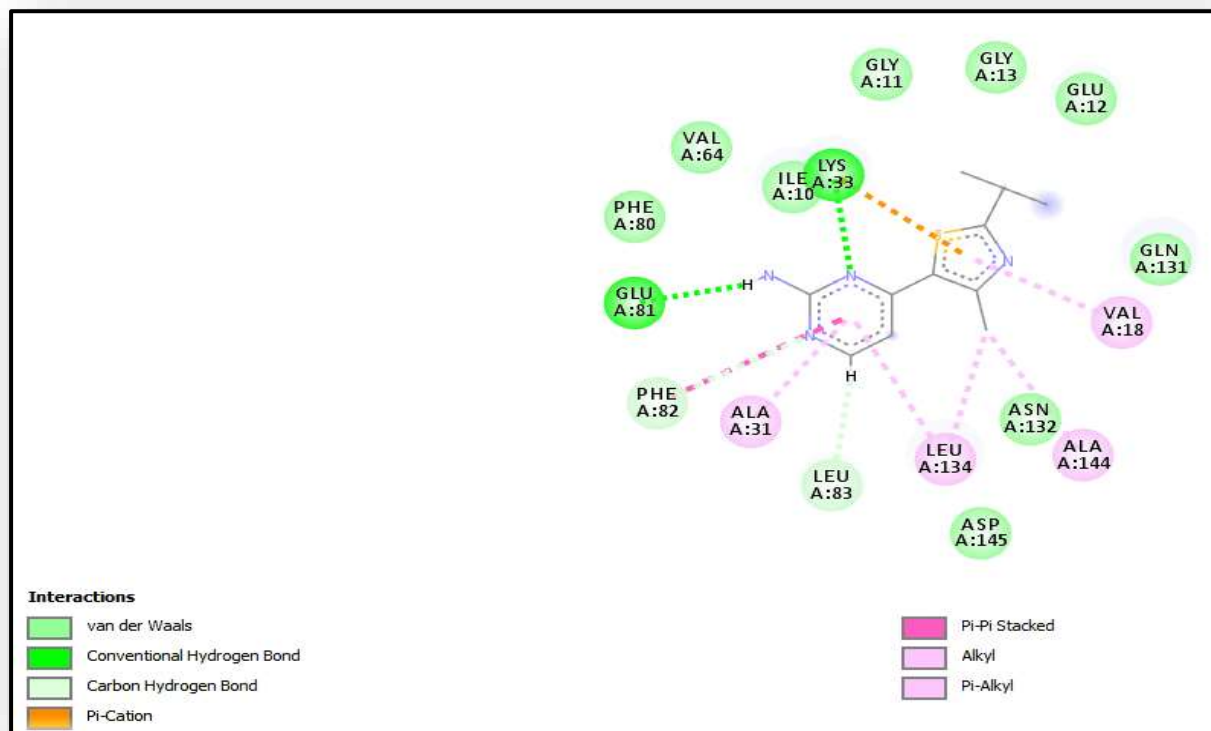


Figure 29 La présentation des interactions récepteur-ligand 1 en schéma 2D.

➤ Discussion des résultats :

Tableau 8 Les liaisons hydrogène établies par le composé 1 avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison de l'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	H (N° 29)= H-----O (N° 1209) de l'AA : GLU81	Conventional Hydrogen Bond	1,950844
02	N (N° 3)=N----HZ3 (N°533) de l'AA : LYS33	Conventional Hydrogen Bond	2,252731

Le composé 1 forme 2 liaisons hydrogènes (Conventional Hydrogen Bond) qui lient deux atomes électro-négatifs discutées dans le tableau ci-dessus.

Le schéma graphique 2D indique aussi des forces attractives de Van Der Waals colorées en vert clair impliquant les aminoacides suivants :

- 2 Glycines numérotée 11 et 13 ; l'Asparagine 132 et la Glutamine 131.
- 2 phénylalanines numérotées 80 et 82 ; l'acide aspartique 145 et l'acide glutamique 12.
- La leucine numéroté 83 et la valine 64.
- L'isoleucine 10.

En rose s'ajoutent des interactions hydrophobes réalisées par les alkyls hydrocarbonés apolaires que nous retrouvons entre :

- Les ramifications hydrocarbonées du ligand avec les radicaux aliphatiques des aminoacides ALA 31 et 144 ; VAL 18 ; LEU 134 ainsi que PHE 82.
- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides ALA 31 ; VAL 144 et LEU 134 formant des interactions Pi-Alkyle.

Une autre interaction hydrophobe nommée Pi-Pi Stacking qui s'établit entre deux cycles est présente entre l'un des cycles du ligand et le noyau aromatique de l'acide aminé Phénylalanine 82.

L'autre interaction impliquant le cycle du ligand est une interaction Pi-Cation réalisée avec la charge positive du NH_3^+ de l'acide aminé LYS 33.

B - Etude des interactions du composé 2

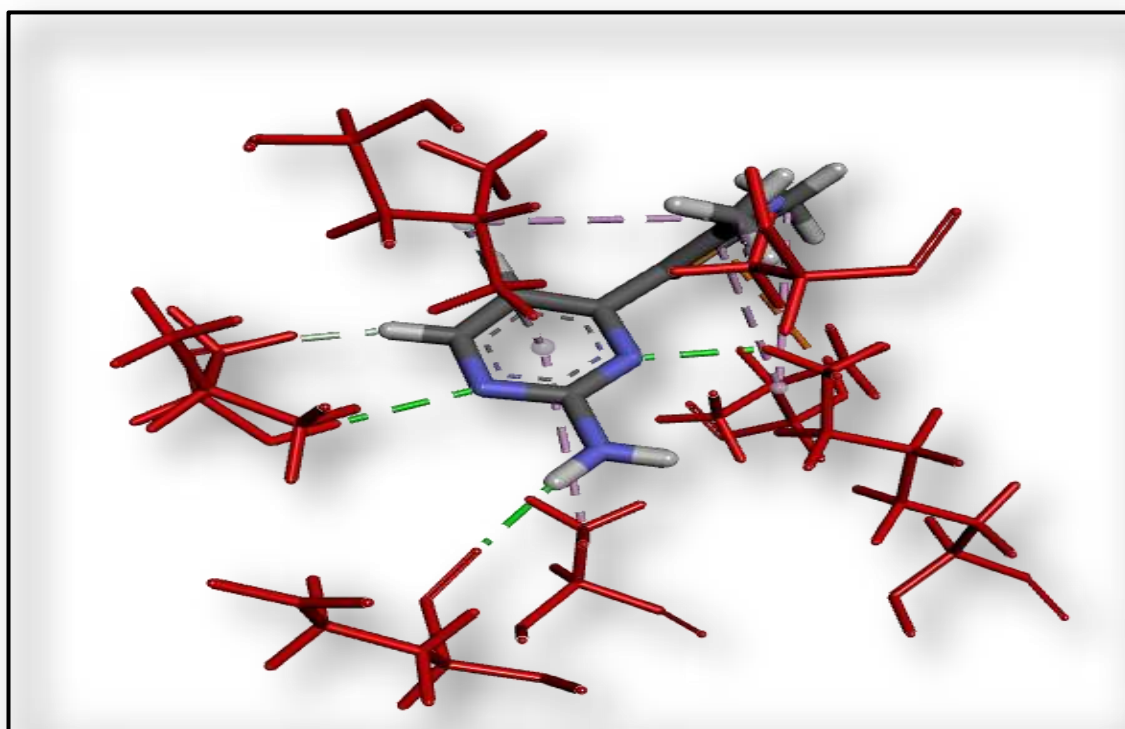


Figure 30 Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 2 avec le site actif de la 4fkl.

La présentation des interactions récepteur-ligand en schéma 2D

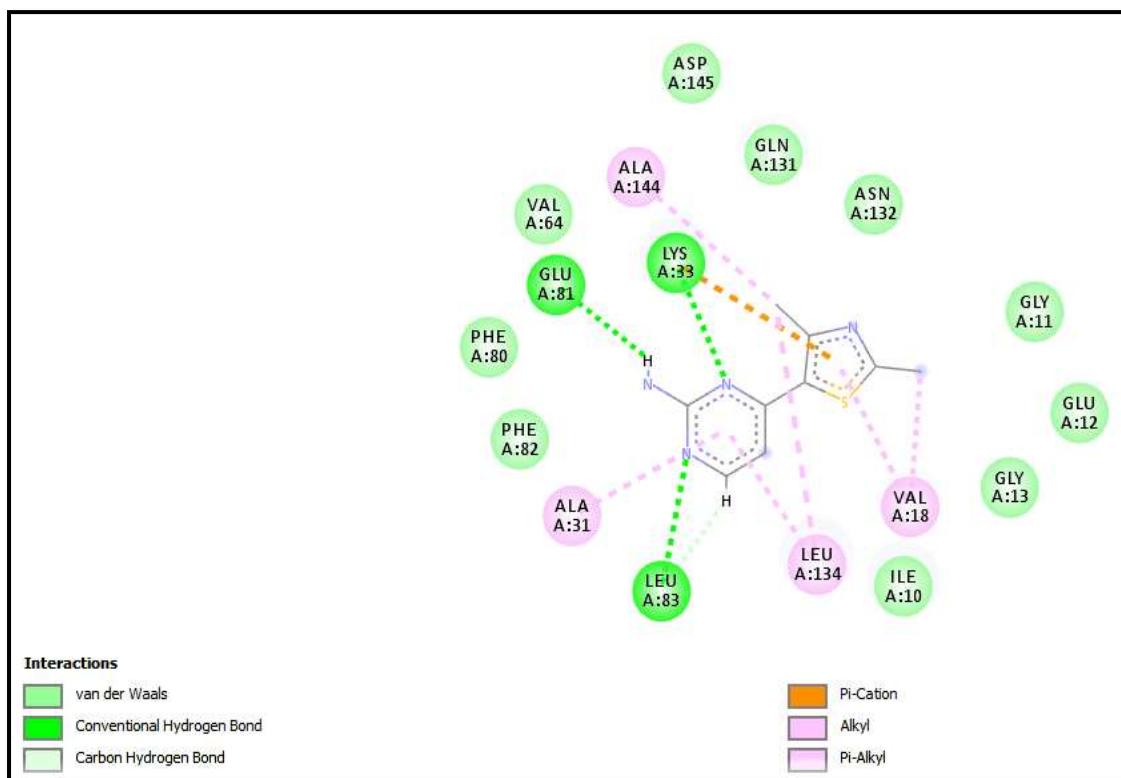


Figure 31 La présentation des interactions récepteur-ligand 2 en schéma 2D.

➤ **Discussion des résultats :**

Tableau 9 Les liaisons hydrogène établies par le composé 2 avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	N (N° 3)=N----HZ3(N°533) de l'AA : LYS33	Conventional Hydrogen Bond	2,347496
02	H (N° 24)=N----O (N°1209) de l'AA : GLU81	Conventional Hydrogen Bond	2,026599
03	N (N° 4)=N----HN(N°1249) de l'AA : LEU83	Conventional Hydrogen Bond	2,401925

Le composé 1 forme 3 liaisons hydrogènes conventionnelles (Conventional Hydrogen Bond) qui lient deux atomes électronégatifs discutées dans le tableau ci-dessus.

Le schéma graphique 2D indique aussi des forces attractives de Van Der Waals colorées en vert clair impliquant les aminoacides suivants :

- 2 Glycines numérotées 11 et 13 ; l'Asparagine 132 et la Glutamine 131.
- 2 phénylalanines numérotées 80 et 82 ; l'Acide aspartique 145 et l'acide glutamique 12.
- La valine 64 et l'isoleucine 10.

En rose s'ajoutent des interactions hydrophobes réalisées par les alkyls hydrocarbonés apolaires que nous retrouvons entre :

- Les ramifications hydrocarbonées du ligand avec les radicaux aliphatiques des aminoacides ALA 31 et 144 ; VAL 18 et LEU 134.
- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides ALA 31 ; 144 et la Leucine 134 formant des interactions Pi-Alkyle.

L'autre interaction implique le cycle du ligand est une interaction Pi-Cation entre l'AA lys 33 et la valine 18.

C - Etude des interactions du composé 3 :

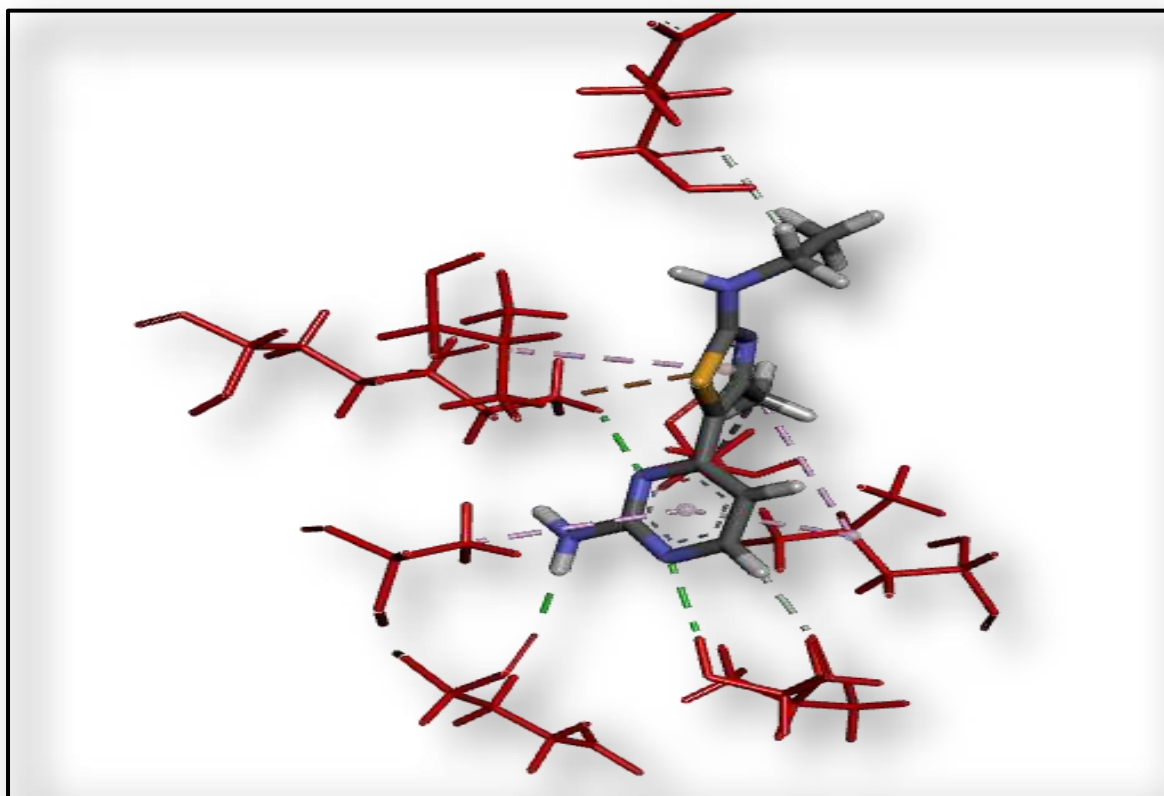


Figure 32 Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 3 avec le site actif de la 4fk1.

La présentation des interactions récepteur-ligand en schéma 2D

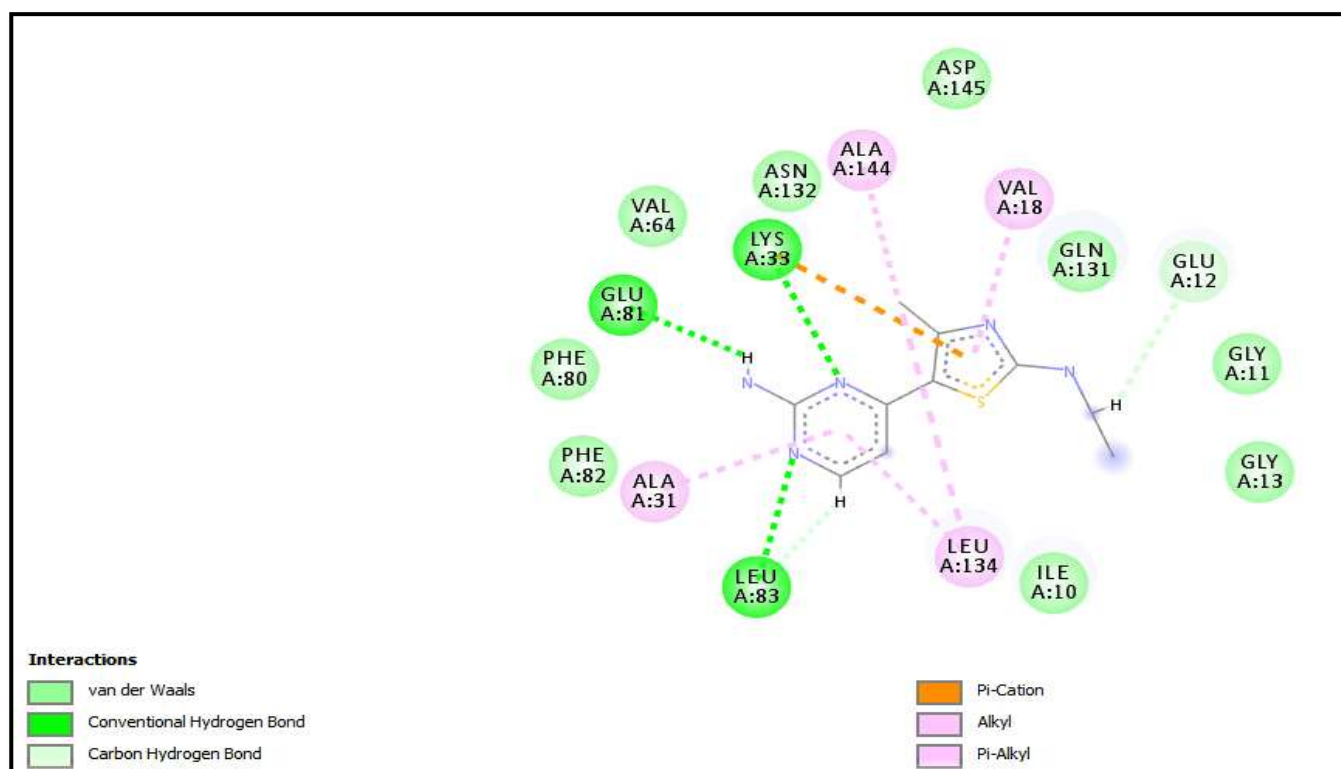


Figure 33 La présentation des interactions récepteur-ligand 3 en schéma 2D.

➤ Discussion des résultats

Tableau 10 Les liaisons hydrogène établies par le composé 3 avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	N (N° 5)=N---HN (N°1249) de l'AA : LEU83	Conventional Hydrogen Bond	2,347496
02	H (N° 29)=N---O (N°1209) de l'AA : GLU81	Conventional Hydrogen Bond	1,991169
03	N (N° 4)=N---HZ3 (N°533) de l'AA : LYS33	Conventional Hydrogen Bond	2,162246

Le composé 3 forme 3 liaisons hydrogènes conventionnelles (Conventional Hydrogen Bond) qui lient deux atomes électronégatifs discutées dans le tableau ci-dessus.

Le schéma graphique 2D indique aussi des forces attractives de Van Der Waals colorées en vert clair impliquant les aminoacides suivants :

- 2 Glycines numérotées 11 et 13 ; l'Asparagine 132 et la Glutamine 131.
- 2 phénylalanines numérotées 80 et 82 ; l'Acide aspartique 145 et L'acide glutamique 12.
- La valine numérotée 64 et L'isoleucine 10.

En rose s'ajoutent des interactions hydrophobes réalisées par les alkyls hydrocarbonés apolaires que nous retrouvons entre :

- Les ramifications hydrocarbonées du ligand avec les radicaux aliphatiques des aminoacides ALA 144 et 31 ; VAL 18 et LEU 134.
- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides ALA 31 et 144 et la Leucine 134 formant des interactions Pi-Alkyle.

D - Etude des interactions du composé 4

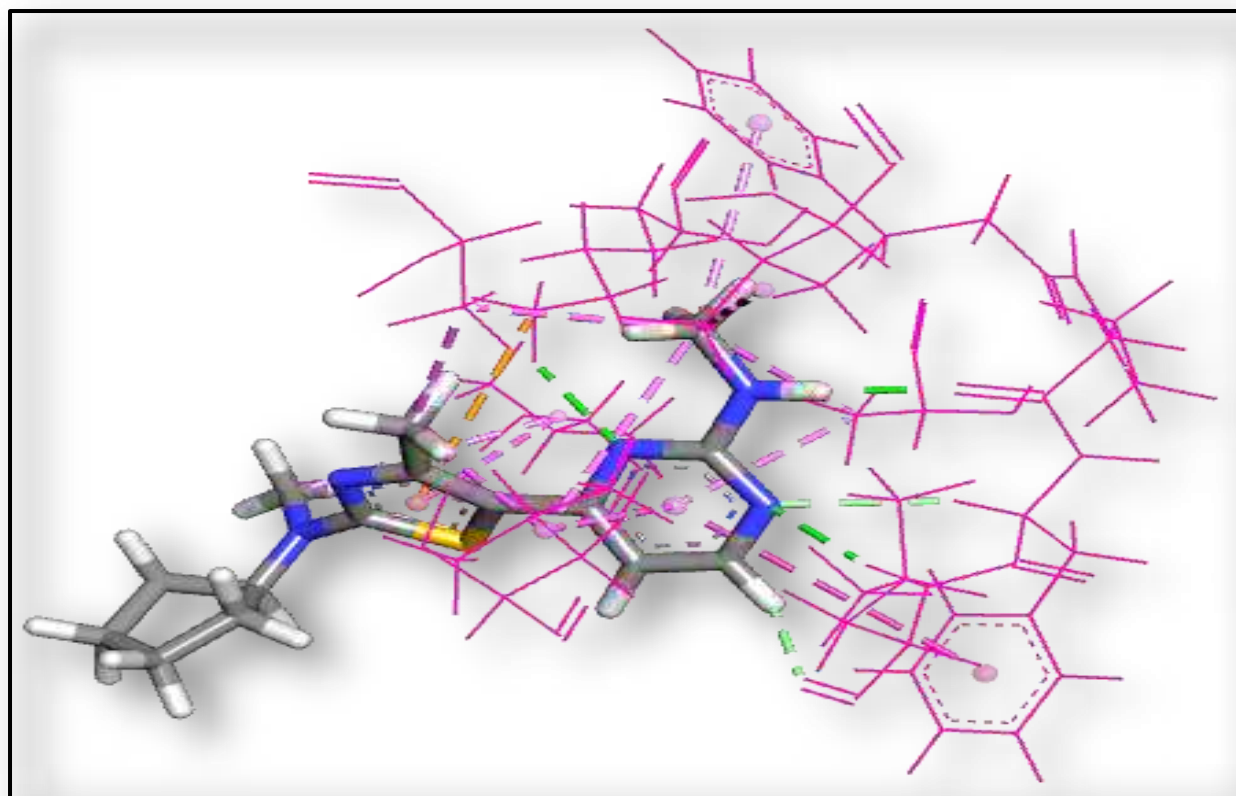


Figure 34 Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé 4 avec le site actif de la 4fkl.

La présentation des interactions récepteur-ligand en schéma 2D

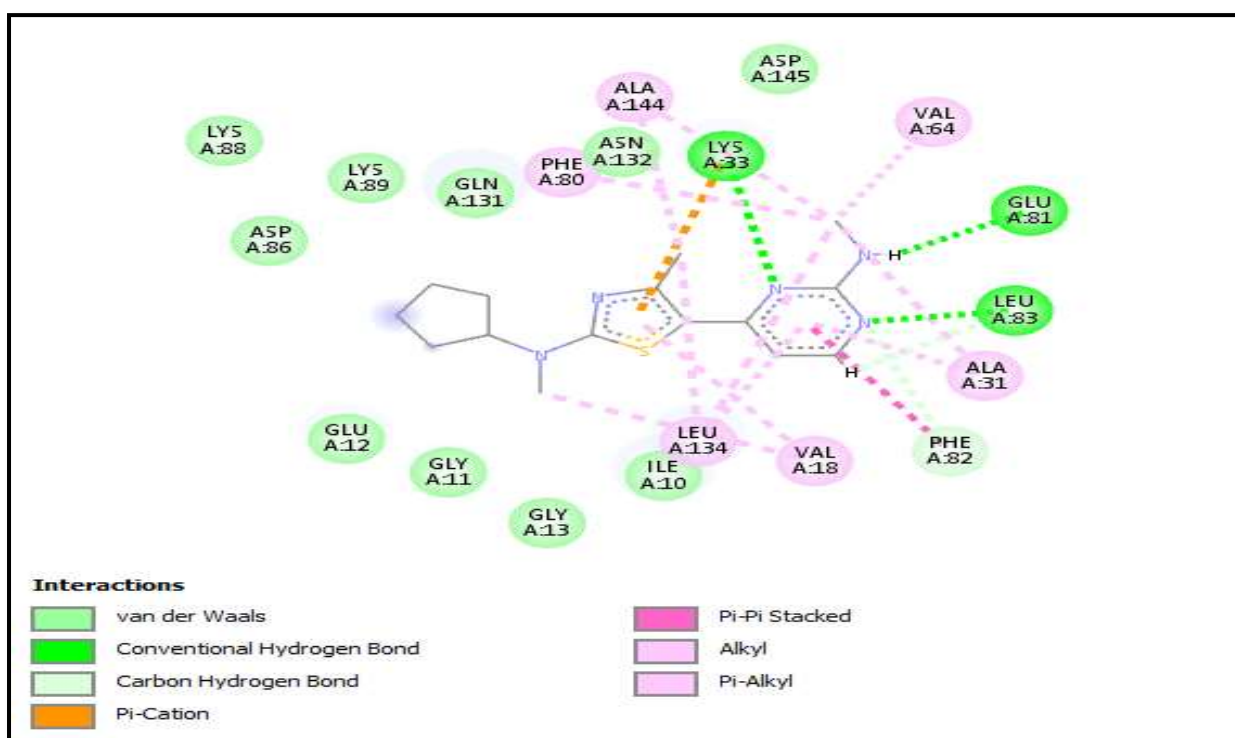


Figure 35 La présentation des interactions récepteur-ligand du composé 4 en schéma 2D.

➤ **Discussion des résultats :**

Tableau 11 Les liaisons hydrogène établies par le composé 4 avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	N (N°4)=N----H (N°533) de l'AA : LYS33	Conventional Hydrogen Bond	2,470878
02	N (N°5)=N ----- H (N°1 249) de l'AA : LEU83	Conventional Hydrogen Bond	2,210306
03	H (N° 39)=H----O (N° 1 1 209) de l'AA : GLU81	Conventional Hydrogen Bond	1,968694

Le composé 4 forme 3 liaisons hydrogènes (Conventional Hydrogen Bond) qui lient deux atomes électronégatifs discutées dans le tableau ci-dessus.

Le schéma graphique 2D indique aussi des forces attractives de Van Der Waals colorées en vert clair impliquant les aminoacides suivants :

- 2 Glycines numérotées 11 et 13 ; l'Asparagine 132 et la Glutamine 131.
- 2 Lysines numérotées 88 et 89 ; 2 ASP 86 et 145 ; GLU 12.
- L'isoleucine 10.

En rose s'ajoutent des interactions hydrophobes réalisées par les alkyls hydrocarbonés apolaires que nous retrouvons entre :

- Les ramifications hydrocarbonées du ligand avec les radicaux aliphatiques des aminoacides ALA 31 et 144 ; VAL 18 et 64 ; LEU 134 ainsi que PHE 80.
- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides ALA 31 ; VAL 18 et la Leucine 134 formant des interactions Pi-Alkyle.

Une autre interaction hydrophobe nommée Pi-Pi Stacking qui s'établit entre deux cycles est présente entre l'un des cycles du ligand et le noyau aromatique de l'acide aminé Phénylalanine 82.

Une dernière interaction du type Pi-Cation relie le cycle du ligand à la charge positive NH_3^+ de LYS 33.

E - Etude des interactions du composé 5

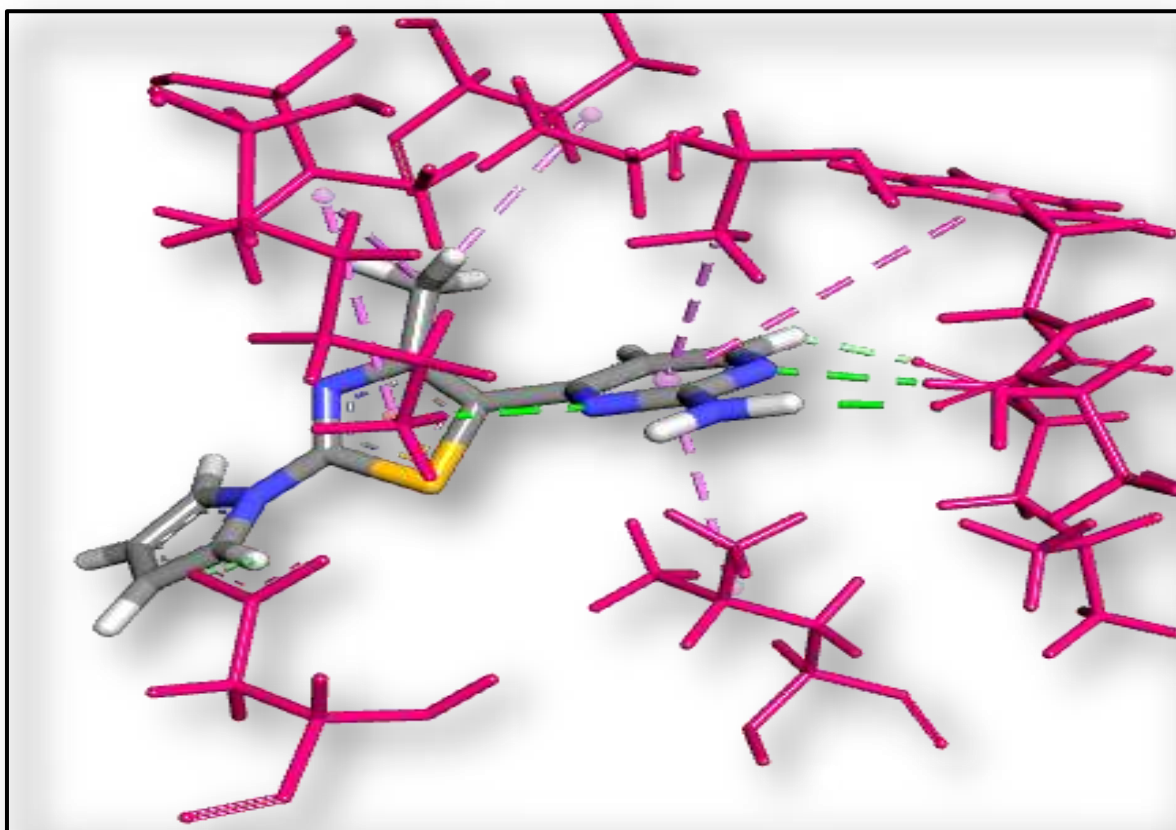


Figure 36 Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé 5 avec le site actif de la 4fkl.

La présentation des interactions récepteur-ligand en schéma 2D

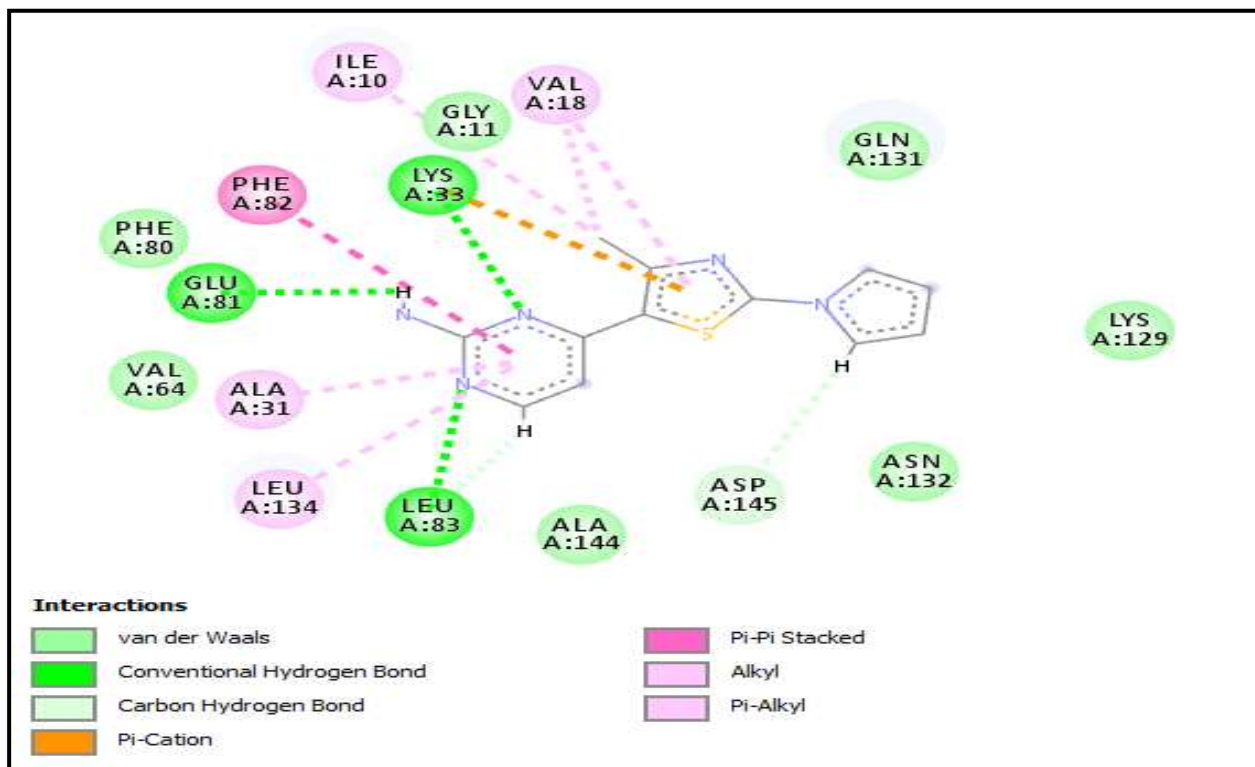


Figure 37 La présentation des interactions récepteur-ligand du composé 5 en schéma 2D.

➤ Discussion des résultats

Tableau 12 Les liaisons hydrogène établies par le composé 5 avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	N (N°4)=N----H (N°533) de l'AA : LYS33	Conventional Hydrogen Bond	2,237739
02	N (N°5)=N ----- H (N°1 249) de l'AA : LEU83	Conventional Hydrogen Bond	2,378239
03	H (N° 29)=H----O (N° 1 209) de l'AA : GLU81	Conventional Hydrogen Bond	1,983220

Le composé 5 forme 3 liaisons hydrogènes (Conventional Hydrogen Bond) qui lient deux atomes électro-négatifs discutées dans le tableau ci-dessus.

Mises à part les liaisons hydrogènes, les forces attractives de Van Der Waals figurent en vert clair impliquant les aminoacides suivants :

- La Glycine 11 ; l'Asparagine 132 et la Glutamine 131.
- Le Lysine 129 et l'Acide aspartique 145.
- Le Phénylalanine 80; l'Alanine 144 et la Valine 64.

A l'addition, des interactions hydrophobes schématisées en rose par effet des alkyles qui sont les radicaux à chaînes aliphatiques apolaires dont la terminaison est un groupement non-fonctionnel CH_3 et que nous retrouvons entre :

L'atome de chlore et les radicaux des aminoacides VAL 18 et ILE 10.

Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides Leucine 134; Valine 18 et Alanine 134.

Une autre interaction hydrophobe nommée Pi-Pi Stacking qui s'établit entre deux cycles est présente entre l'un des cycles du ligand et le noyau aromatique de l'acide aminé Phénylalanine 82.

Une dernière interaction du type Pi-Cation relie le cycle du ligand à la charge positive NH_3^+ de LYS 33.

2.2. Essais de modélisation moléculaire

Afin de rationaliser au mieux le développement de nouveaux inhibiteurs de la cdk2, une étude plus approfondie fut menée sur la structure de meilleur similaire à notre ligand de référence provenant de la banque des ligands PubChem dont l'affinité est de 7.13 M^{-1} . Cette étude nous a permis de cibler les radicaux de notre ligand à modifier dans le but de créer de nouvelles liaisons hydrogène afin d'améliorer cette affinité.

Pour cela, nous avons effectué 2 types de substitutions : **20 mono substitutions** et **35 bi substitutions** indiquées dans le tableau dans lequel est également représenté le modèle bidimensionnel, dessiné avec le logiciel **Arguslab** et **Titan**.

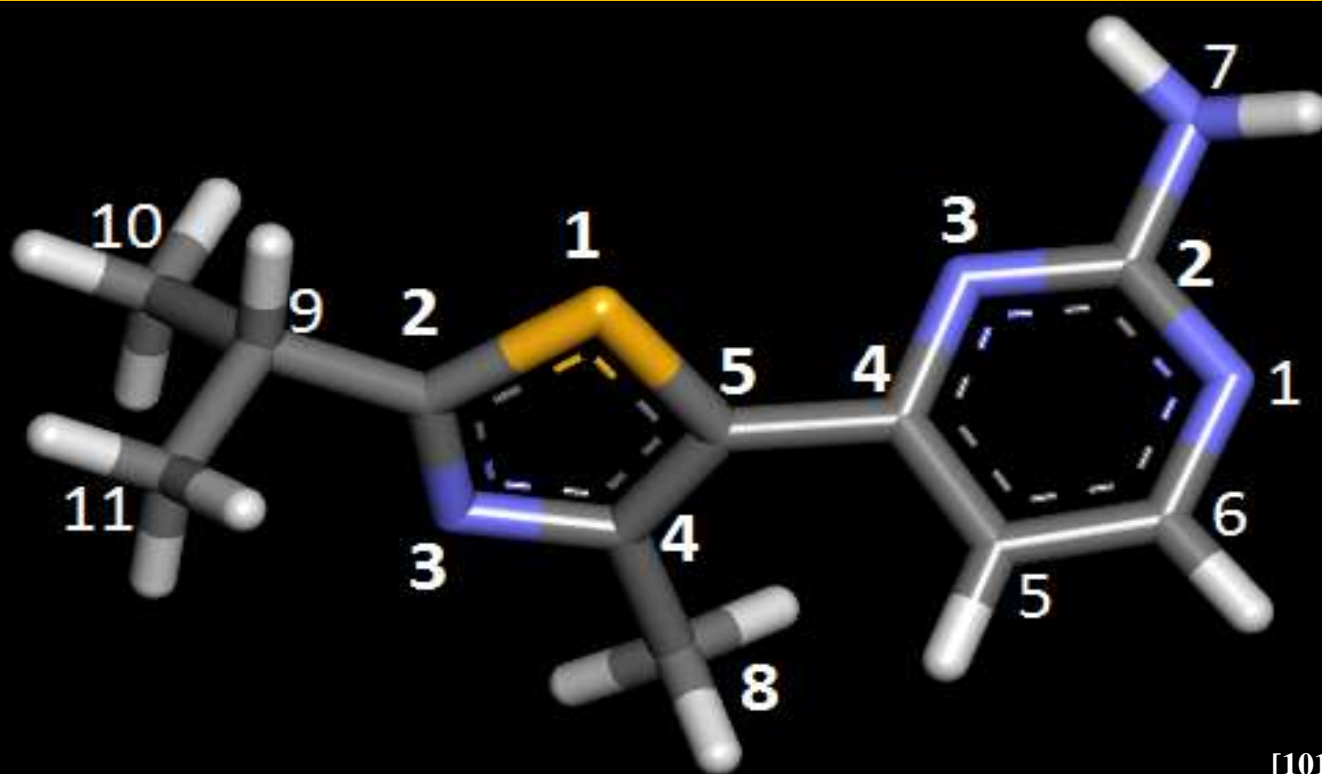
La substitution réalisée par l'ajout d'un groupement méthyle (CH_3), d'un hydroxyle (OH), d'une fonction amine (NH_2), un groupement (C=O) -H, (C=O) -OH, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$, (C=O) - NH_2 , (C=O) - NH_3 ou d'un cycle benzène lié à l'oxygène SP_3 à la place des hydrogènes liés à certains carbones de l'inhibiteur.

La mono substitution concerne 20 composés et a permis une amélioration de l'affinité pour 8 d'entre eux : 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 8 ; la meilleure ($8.95 M^{-1}$) étant celle du composé 1.

De la bi substitution résulte 35 composés parmi lesquels neuf ont des affinités améliorées supérieures à $8.95 M^{-1}$ représentées par les composés 21, 22, 29 et 31.

Tableau 13 Les mono et bi substitutions de 4fkl.

POSITIONS DES ATOMES DU 4FKL	LES MONO-SUBSTITUTIONS					SCORE (M^{-1})
	C5	C8	C9	C10	C11	
1			O-benzène			8.95
2				CO-OH		7.95
3		CO-OH				7.87
4				O-benzène		7.56
5		CO-OH				7.50
6	CO-NH2					7.25
7					CO-OH	7.23



[101]

8		(C=O)-H				7.20
9	CO-OH					7.14
10				CH2-CH3		7.14
11					O-benzène	7.05
12				CO-OH		7.00
13	CH2-CH3					7.00
14	NH2					6.99
15				O-benzène		6.86
16	CH3					6.72
17				(C=O)-H		6.67
18	(C=O)-H					6.63
19					CH2-CH3	6.28
20				CH3		6.17

LES bi-SUBSTITUTIONS

	C5	C8	C9	C10	C11	C13	N7	SCORE (M ⁻¹)
21			O-benzène		CO-NH2			9.21
22				CO-OH	O-benzène			9.31
23		CO-OH		CO-NH2				8.51
24		CO-OH		O-benzène				8.31
25	CO-NH2		O-benzène					8.61
26			O-benzène		CO-OH			8.92
27					CO-OH			8.40
					CO-OH			
28	CO-OH		O-benzène					8.23
29				CO-OH	O-benzène			9.62
30		O-benzène		CO-OH				8.57
31	NH2		O-benzène					9.21
32		CO-OH		O-benzène				8.19
33		(C=O)-OH	(C=O)-OH					8.04
34			(C=O)-OH		O-benzène			8.19
35		CH3	(C=O)-OH					8.62

36		(C=O)-H		CH2-CH3				8.10
37		CH3		CH2-CH3				8.10
38				CH2-CH3			NH2	8.20
39		(C=O)-H		CH2-CH3				8.22
40		(C=O)-H				(C=O)-OH		8.23
41		(C=O)-H	O-benzène					8.12
42		(C=O)-H		(C=O)-NH2				8.11
43	CH2-CH3			(C=O)-NH2				8.83
44	CH2-CH3			CH2-CH3				8.79
45	CH2-CH3					CH2-CH3		8.77
46	CH2-CH3			NH2				8.53
47	CH2-CH3						NH2	8.15
48	CH2-CH3					O-benzène		8.26
49	CH3					(C=O)-NH2		8.51
50				(C=O)-H				8.53
				(C=O)-H				
51				(C=O)-H				8.17
				OH				
52				(C=O)-OH	CH2-CH3			8.83
53					CH2-CH3	(C=O) -OH		8.10
54		CH3			CH2-CH3			8.08
55		(C=O)-NH2			CH2-CH3			8.07

2.2.1. Évaluation pharmacologique « Drug-Likeness »

Il était très important de compléter cette étude par l'application de la méthode de filtrage ADME qui est basée sur la règle de cinq, afin de nous renseigner sur les propriétés pharmacocinétiques (ADME) des molécules proposées pour déduire si nos trois composés (meilleur similaire, meilleur composé mono substitué, meilleur composé bi-substitué) peuvent agir comme médicament, par l'utilisation du logiciel "DruLiTo" qui estime la biodisponibilité à travers l'application des filtres suivants :

- ❖ La règle de Lipinski.
- ❖ Filtre de Veber.
- ❖ Filtre de Ghose.
- ❖ MDDR like rule, avec MDDR: MDL Drug Data Report.
- ❖ BBB likeness, avec BBB: Blood Brain Barrier.

- **Le filtre de Ghose**

Le filtre Ghose est un filtre de type médicament décrit dans Ghose, AK. ; Viswanadhan, VN. ; Wendoloski JJ.

Une approche basée sur les connaissances dans la conception de bibliothèques de chimie combinatoire ou médicinale pour la découverte de médicaments. Une caractérisation qualitative et quantitative des bases de données connues sur les médicaments. **J. Comb. Chem., 1, 55, (1999).**

Les paramètres par défaut utilisés sont :

- Masse moléculaire entre 160 et 480
- LogP entre -0,4 et +5,6
- Nombre d'atomes entre 20 et 70
- Réfractivité molaire entre 40 et 130

- **Le filtre de veber**

Le filtre Veber est un filtre de règle générale pour les médicaments actifs par voie orale décrit dans **Veber et. al. J Med Chem. 2002; 45(12): 2615-23.**

Les paramètres par défaut utilisés ici sont :

- Liaisons rotatives ≤ 10
- Surface polaire topologique ≤ 140

Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 14 Les Propriétés physico-chimiques des meilleurs composés de la substitution (mono et bi), le ligand de référence et le meilleur similaire.

Composé	PM (g/mol)	Log P	Accepteur de H	Donneur de H	Surface polaire	Réfractivité Molaire	Nombre molaire	Liaison rotable
Ligand de référence	210.09	- 0.151	4	4	62.11	53.63	28	1
Meilleur similaire	234.09	-0.151	4	1	88.4	68.4	30	2
Meilleur mono substitution	326.12	1.003	5	1	97.63	99 .99	41	4
Meilleur bi- substitution	370 .11	-0 .065	7	2	143.93	106.33	44	7

Nous avons travaillé en utilisant les paramètres par défaut.

Après ce test nous avons conclu que :

✓ Tous les composés remplissent les critères ADME de biodisponibilité orale.

▪ Conclusion :

Le logiciel « DruLiTo » permet l'identification des composés « Drug-like » parfaitement mais ne peut pas distinguer les composés à potentiel médicamenteux.

Ce logiciel offre aussi la possibilité de détecter la toxicité de certains composés par l'invalidation (indique les composés invalides en rose automatiquement -Figure38-) auxquels s'appliquent des filtres qui prédisent la biodisponibilité orale « Drug Likeness ».

St. No.	Titre	MW	logP	HBA	HBD	TPSA	MRB	Swiss	ADAMFong	wGED
1	Urethra_Doc	270.36	0.367	6	3	88.86	1	1	3	0.814
2	OCL000030	270.36	0.367	6	3	88.86	1	1	2	0.814
3	OCL000196	245.86	0.872	2	2	48.86	1	0	2	0.78
4	OCL000306	421.82	1.462	2	2	60.53	1	1	2	0.852
5	OCL000440	245.36	1.886	2	2	64.73	2	2	2	0.907
6	OCL000254	235.86	1.794	2	2	60.66	2	1	2	0.876
7	OCL000440	174.82	0.179	2	1	64.37	1	0	1	0.81
8	OCL000441	264.36	0.622	4	1	42.85	1	0	1	0.881
9	OCL000441	146.12	0.621	4	1	66.62	1	0	2	0.881
10	OCL000876	281.86	2.587	4	1	66.38	1	1	2	0.816
11	OPN000196	281.86	2.587	4	2	66.38	1	1	2	0.816
12	OCL000014	270.36	1.408	4	2	73.12	4	4	4	0.373
13	OCL000286	345.12	0.527	6	4	141.54	2	0	4	0.289
14	OCL000076	281.86	0.896	6	1	142.82	1	1	1	0.82
15	OCL000451	286.12	1.24	6	1	61.81	1	1	1	0.876
16	OPN000440	252.86	1.160	6	1	66.46	1	1	2	0.82
17	OCL000416	220.86	0.881	6	1	41.86	1	0	2	0.816
18	OCL000406	236.12	0.906	6	2	41.12	1	1	2	0.728
19	OCL000408	236.12	0.906	6	2	41.12	1	1	2	0.728
20	OCL000447	145.12	0.842	6	2	65.16	1	1	2	0.832
21	OCL000408	142.1	2.2	6	2	67.29	1	1	2	0.886

Figure 38 Exemple de l'évaluation du programme « DruLiTo » par 21 molécules différents.

Sur un total de 21 molécules, DruLiTo indique 2 composés en rose parce qu'ils ne valident pas les propriétés ADME qui caractérisent un composé « drug-like ».

Une toxicité qu'il faut vérifier par de nombreuses méthodes in silico comme : construction de bases de données toxicologiques, établissement de modèles QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship ou relation quantitative structure-activité), et méthodes basées sur la structure. [97]

2.2.2. L'analyse visuelle et discussion des interactions

A- Etude des interactions de ligand similaire :

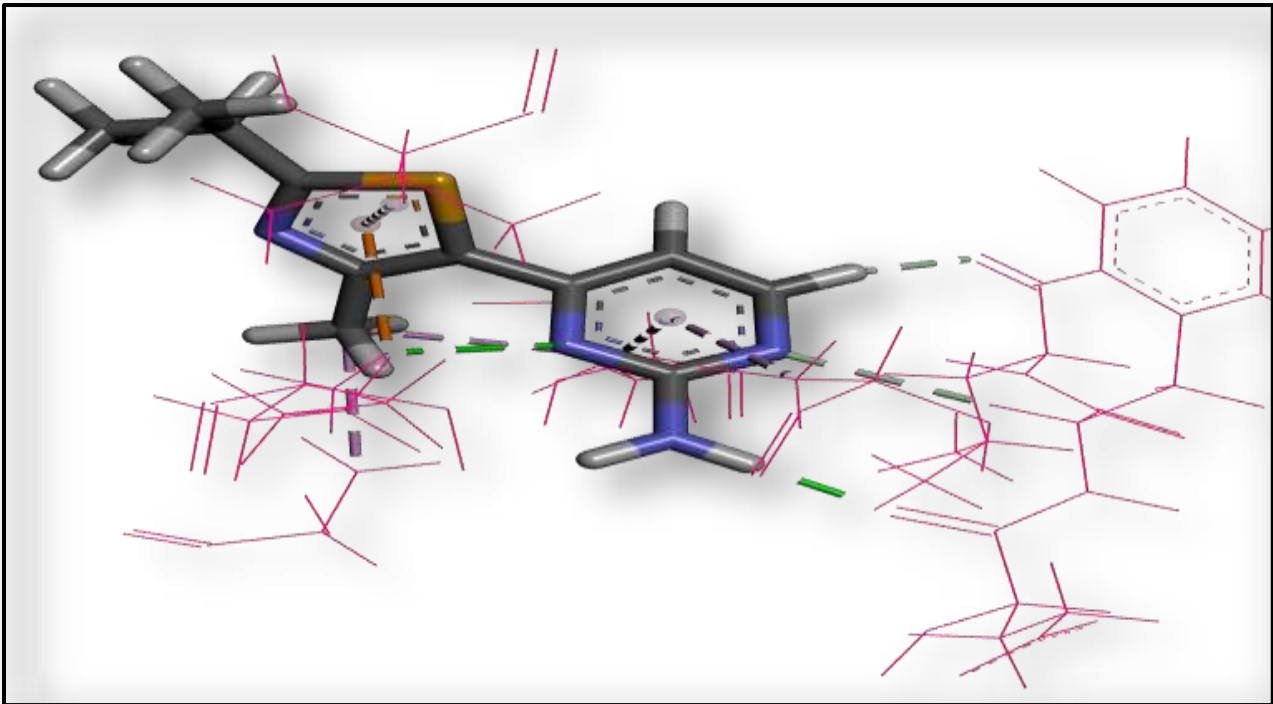


Figure 39 Mode d'interactions de ligand similaire avec le site actif de la 4fkl.

La présentation des interactions récepteur-ligand en schéma 2D

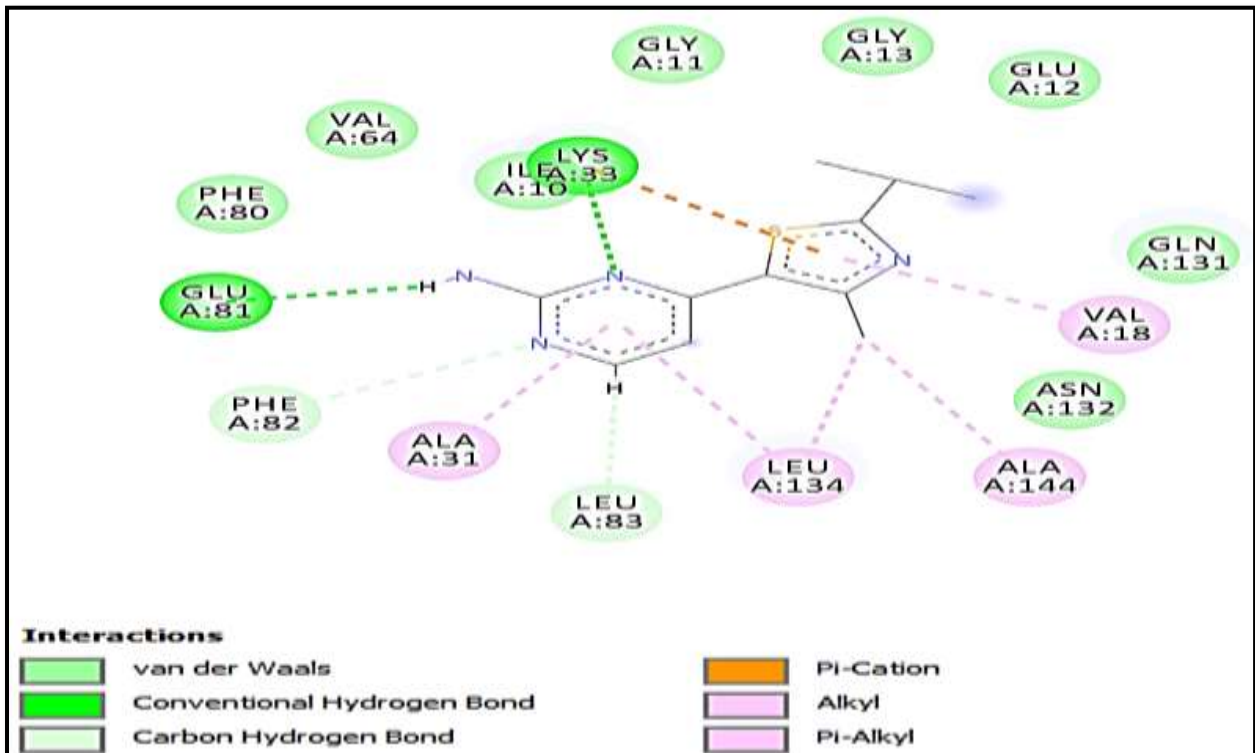


Figure 40 La présentation des interactions récepteur-ligand similaire en schéma 2D.

➤ **Discussion des résultats :**

Les liaisons hydrogènes :

Tableau 15 Les liaisons hydrogène établies par le ligand similaire avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	N (N°3)=N----H (N°533) de l'AA : LYS33	Conventional Hydrogen Bond	2,210902
02	H (N°29)=H ----- O (N°1 209) de l'AA : GLU81	Conventional Hydrogen Bond	1,974239

En plus des liaisons Hydrogène discutées dans le tableau ci-dessus, on trouve aussi :

Les forces attractives de Van Der Waals faisant intervenir les aminoacides suivants :

- PHE 80 ; 82 et VAL 64 ainsi que l'ILE 10.
- GLY 11 ; 13 ; GLU 12 ; GLN 131 et ASN 132.

Des interactions Hydrophobes :

- De types alkyles établies entre le carbone et les radicaux hydrocarbonés de la Leu 134 et Ala144.
- De type Pi-Alkyle établies entre le noyau du cyclopentane, benzène et les radicaux hydrocarbonés apolaires du Val 1 8 ; Leu 134 et Ala 31.

D'autres interactions électrostatiques s'ajoutent aux précédentes comme : L'interaction Pi-Cation entre le noyau du cycle aromatique de ligand et la Lys numérotée 33.

B- Etude des interactions de ligand de référence :

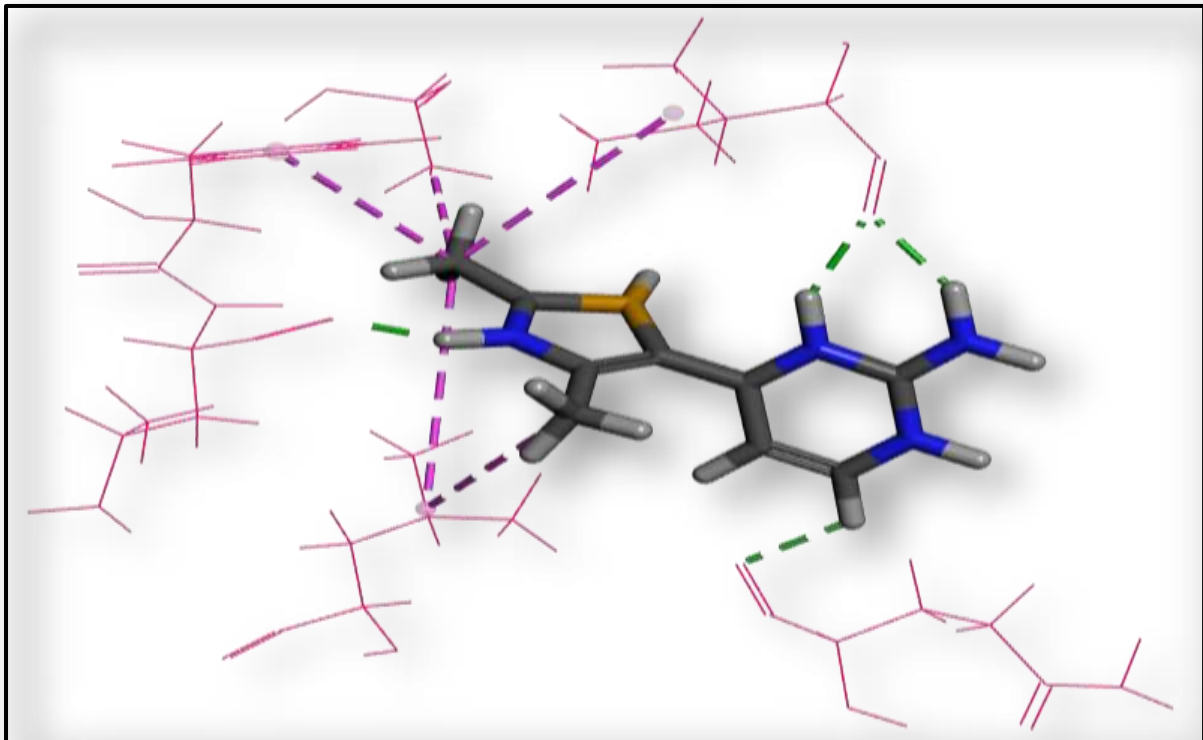


Figure 41 Mode d'interactions de ligand de référence avec le site actif de la 4fkl.

La présentation des interactions récepteur-ligand en schéma 2D

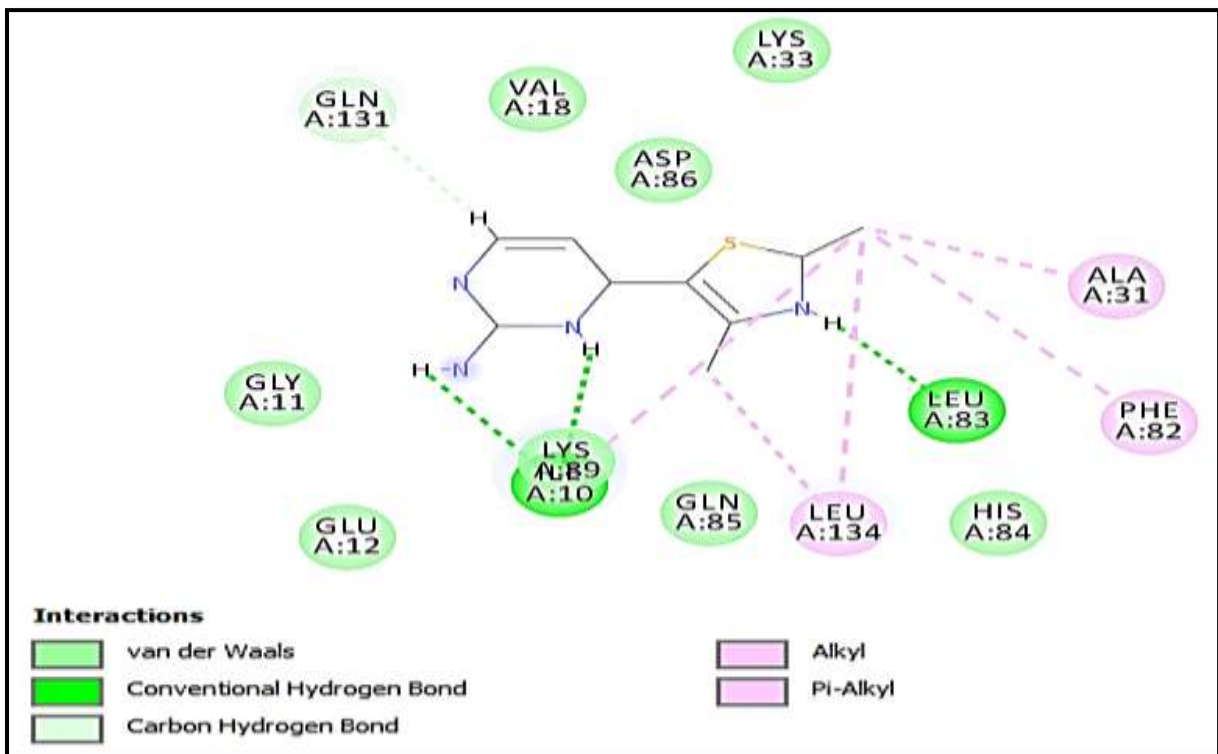


Figure 42 La présentation des interactions récepteur-ligand de ligand de référence en schéma 2D.

➤ Discussion des résultats :

Les liaisons hydrogènes :

Tableau 16 Les liaisons hydrogène établies par le ligand de référence avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	H (N°19)=H----O (N°1244) de l'AA : LEU83	Conventional Hydrogen Bond	1,855189
02	H (N°23)=H ----- O (N°164) de l'AA : ILE10	Conventional Hydrogen Bond	2,033508
03	H (N° 28)=H----O (N° 164) de l'AA : ILE10	Conventional Hydrogen Bond	2,062253

En plus des liaisons Hydrogène discutées dans le tableau ci-dessus, on trouve aussi :

Les forces attractives de Van Der Waals impliquant les aminoacides suivants :

- ASP 86 ; LYS 33 et VAL 18 ainsi que HIS 84.
- GLY 11 ; GLU 12 et GLN 85 ;131.

Des interactions Hydrophobes :

- De types alkyles établies entre le carbone et les radicaux hydrocarbonés de la Ala 31 ; Phe 82 ; Leu 134 et Ile 10.
- De type Pi-Alkyle établies entre le noyau du cyclopentane, benzène et les radicaux hydrocarbonés apolaires du Leu 134 et Ala 31.

C-Etude des interactions du meilleur ligand mono-substitué

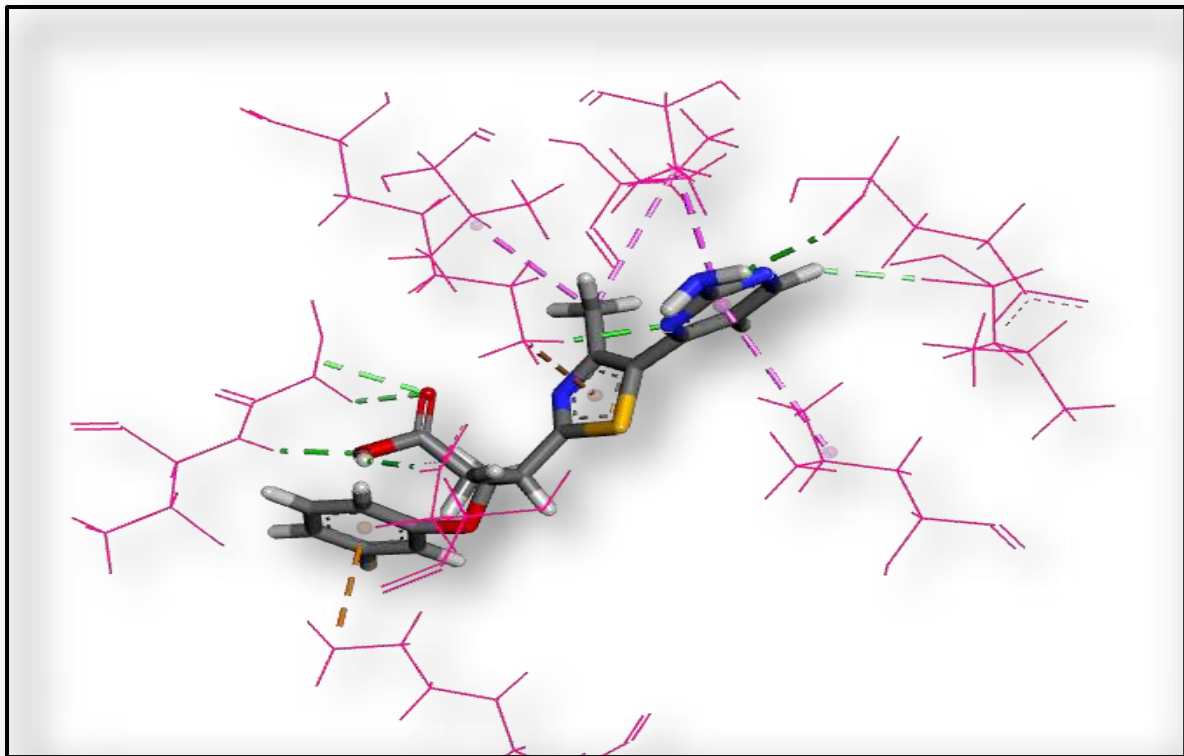


Figure 43 Le mode d'interactions du meilleur ligand mono-substitué avec le site actif du 4fkl.

La présentation des interactions récepteur-ligand en schéma 2D

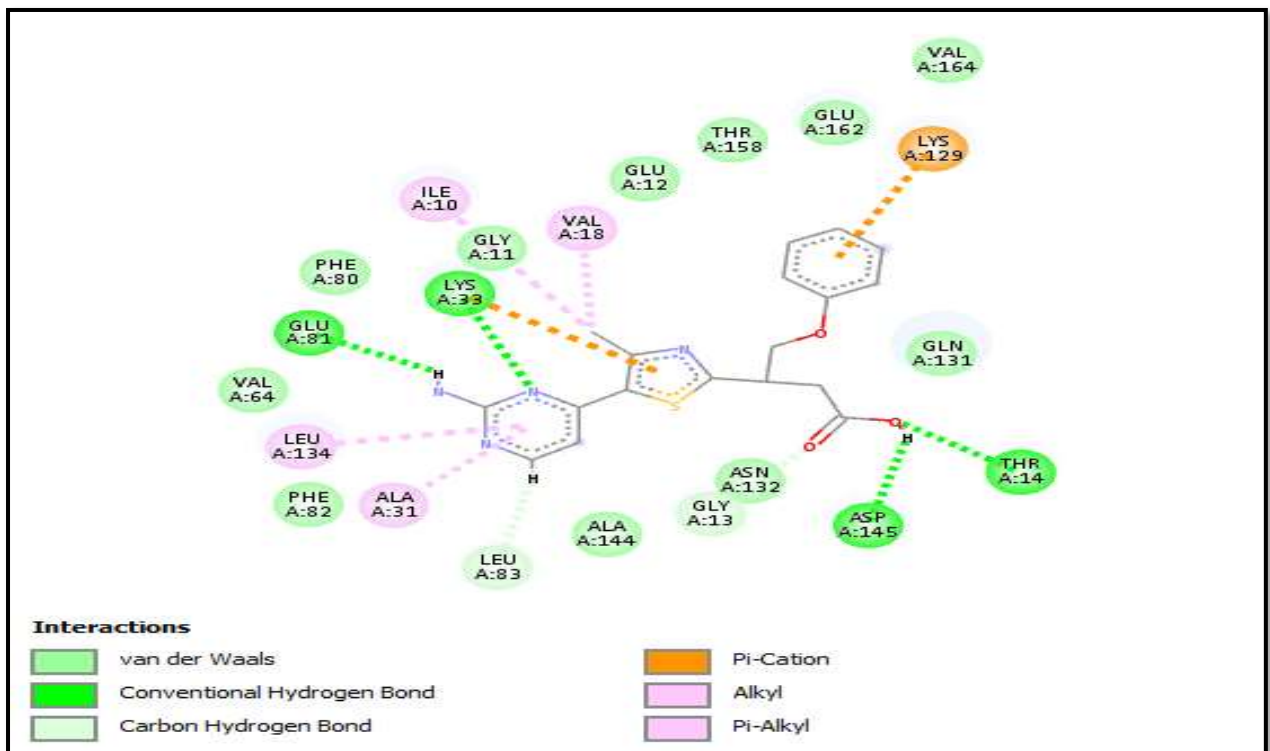


Figure 44 La présentation des interactions récepteur-ligand du meilleur ligand mono-substitué en schéma 2D.

➤ **Discussion des résultats :**

Les liaisons hydrogènes :

Tableau 17 Les liaisons hydrogène établies par le meilleur ligand monosubstitué avec le site actif.

Liaison H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
1	H (n°21)----- A:GLU81:O(n°1209)	Conventional Hydrogen Bond	2,158793
2	A:LYS33:HZ3(n°533)----- N(n°12)	Conventional Hydrogen Bond	2,182005
3	H(n°44)-----A:ASP145:OD2(n° 2 262)	Conventional Hydrogen Bond	2,045346
4	A:THR14:HN(n°261)----- :O(n°43)	Conventional Hydrogen Bond	2,150139

En plus des liaisons Hydrogène discutées dans le tableau ci-dessus, on trouve aussi :

Les forces attractives de Van Der Waals faisant intervenir les aminoacides suivants :

- ALA : 144 ; ASN :132 ; GLN :131 ; VAL :164 et 64 ; THR :158
- GLU :162 et 12 ; VAL :64; GLY :11 ; PHE :80 et

Des interactions Hydrophobes :

- De types alkyles établies entre le carbone et les radicaux hydrocarbonés de la VAL :18 et ILE :10.
- De type Pi-Alkyle établies entre le noyau du cycle benzène et les radicaux hydrocarbonés apolaires du Leu 134 et Ala 31.

D'autres interactions électrostatiques s'ajoutent aux précédentes comme : L'interaction Pi-Cation entre le noyau du cycle aromatique de ligand et la Lys : 129 et 33.

D- Etude des interactions du meilleur ligand bi-substitué

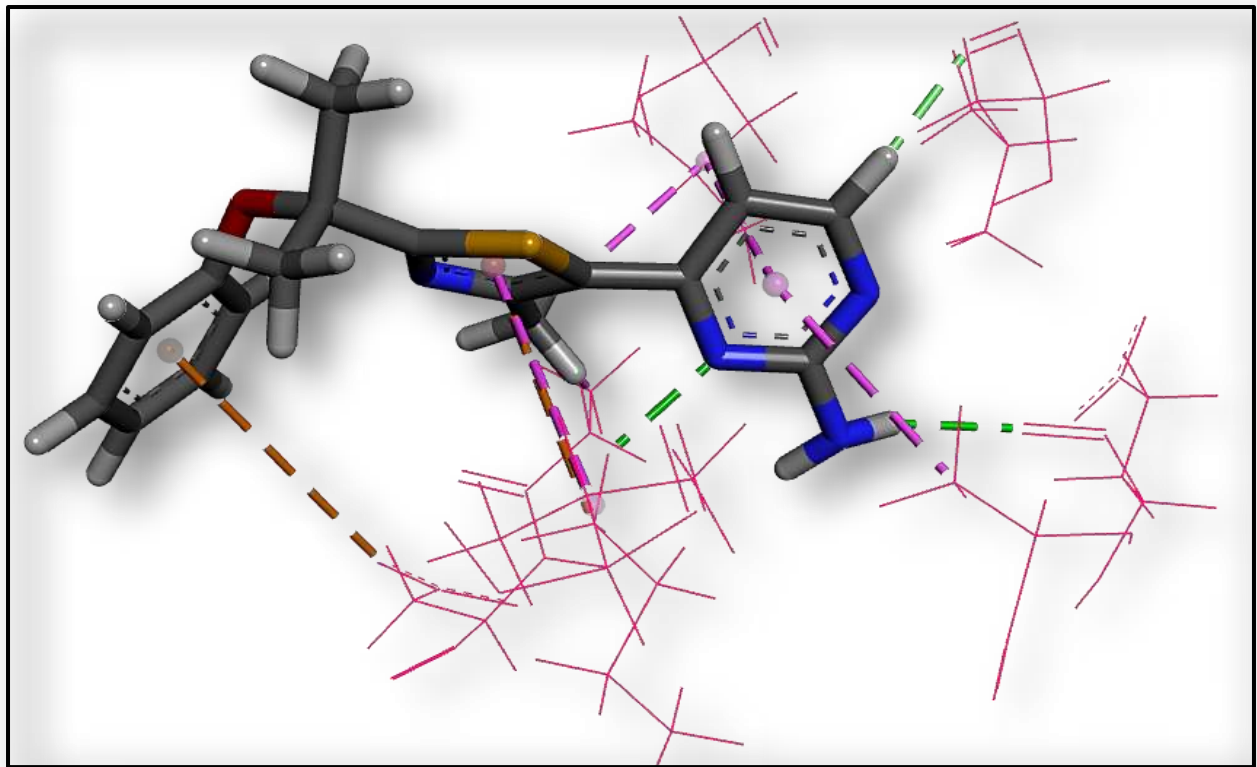


Figure 45 Le mode d'interactions du meilleur ligand bi-substitué avec le site actif du 4fkl.

La présentation des interactions récepteur-ligand en schéma 2D

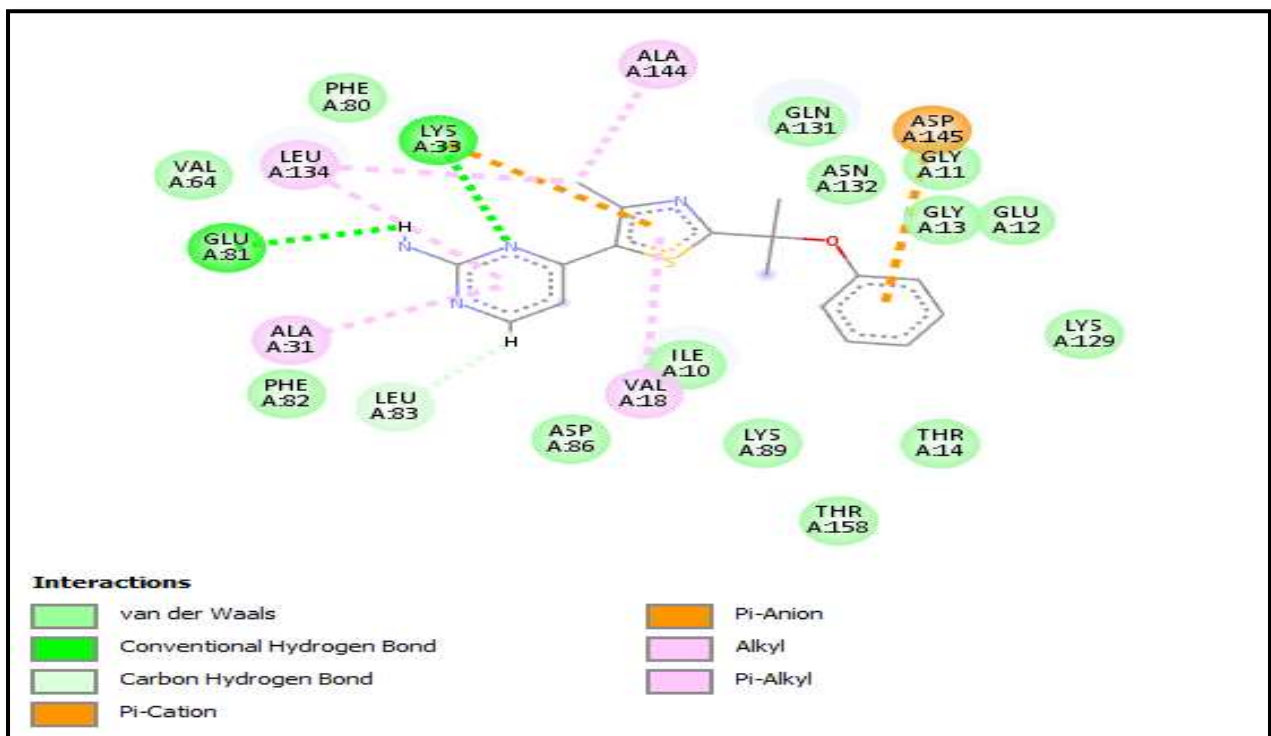


Figure 46 La présentation des interactions récepteur-ligand du meilleur ligand bi-substitué en schéma 2D.

➤ **Discussion des résultats :**

Les liaisons hydrogènes :

Tableau 18 Les liaisons hydrogène établies par le meilleur ligand monosubstitué avec le site actif.

Liaison H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
1	H----- A:GLU81:O(n°1 209)	Conventional Hydrogen Bond	2,160276
<u>2</u>	A:LYS33:HZ3(n° 533)----- ---N	Conventional Hydrogen Bond	2,152046

En plus des liaisons Hydrogène discutées dans le tableau ci-dessus, on trouve aussi :

Les forces attractives de Van Der Waals impliquant les aminoacides suivants :

- PHE :80 et 82 ; VAL :64 ; ASP :86 ; ILE :10 ; GLU :12 ;ASN :132
- LYS :89 et 129 ; THR :158 et 14 ; GLY :11 et 13 ; GLN :131

Des interactions Hydrophobes :

- De types alkyles établies entre le carbone et les radicaux hydrocarbonés de ALA 144 et LEU 134.
- De type Pi-Alkyle établies entre le noyau du cycle benzène et les radicaux hydrocarbonés apolaires de Leu 134 et Ala 31 ainsi qu'entre le noyau cyclopentane et la VAL 18

D'autres interactions électrostatiques s'ajoutent aux précédentes comme : l'interaction Pi-anion et Pi-cation entre le noyau du cycle aromatique et le résidu ASP 145 ainsi l'interaction entre le noyau du cyclohexane et la LYS 33



Conclusion

L'objectif primordial de notre travail est de développer *in silico* par le biais du docking moléculaire de nouvelles structures agissant comme inhibiteurs plus puissants de la cdk2, cible enzymatique récente jouant un rôle curatif contre les tumeurs.

Afin d'affirmer que Surfex est un programme adapté à notre étude, nous avons essayé de tester la capacité de ce programme à prédire l'emplacement correct d'un ligand au niveau de son récepteur. Pour cela, nous avons fait appel au test du RMSD (Root Mean Square Deviation) qui sert à évaluer la déviation de la géométrie du ligand simulée par Surfex par rapport à sa conformation de référence qu'on retrouve dans la PDB. Sur les 200 complexes pris arbitrairement de la PDB, 65,5% ont présenté un RMSD inférieur à 2 Å. L'analyse visuelle confirme ces résultats puisqu'on observe une bonne superposition des 2 conformations, celle du ligand calculée par Surfex et celle du ligand de référence pris initialement de la PDB pour des valeurs de RMSD inférieures à 2 Å. La superposition devient mauvaise pour des valeurs de RMSD supérieures à 2 Å. Le deuxième test utilisé est celui du coefficient de corrélation linéaire qui existe entre les valeurs expérimentales de l'IC50 des molécules étudiées et leurs affinités simulées par le docking moléculaire. Les résultats de la régression linéaire donnent un coefficient de corrélation $r = -0,63$.

Ces tests nous apportent la preuve que le programme Surfex est hautement performant et peut être utilisé en toute fiabilité pour simuler les interactions d'autres inhibiteurs de la cdk2.

Dans la recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques plus efficaces que notre ligand de référence CK2, 236 structures avec un taux de similarité de 92% à notre ligand de référence ont été téléchargés à partir de la chimiothèque « PubChem » afin d'évaluer leur affinité envers la cdk2. Parmi les 236 structures, 22 composés ont présenté des affinités supérieures à celle de notre ligand qui est de $4.63M^{-1}$.

Les résultats du criblage virtuel par le logiciel Surfex nous a permis de sélectionner les 5 meilleurs composés qui peuvent être proposés comme meilleurs inhibiteurs de notre cible thérapeutique cdk2 et pour lesquels nous avons fait une analyse détaillée des diverses interactions qui interviennent : les liaisons Hydrogènes, Van Der Waals, Pi-Anion, Pi-Sulfur, Pi-Pi stacking, Alkyl, Pi-Alkyl et Pi-Cation.

Ces 5 similaires inhibent la cdk2 avec des affinités allant de $7.13 M^{-1}$ à $6.35 M^{-1}$, valeurs bien supérieures à celle du ligand de référence qui est de $4.63 M^{-1}$ et remplissent tous les critères

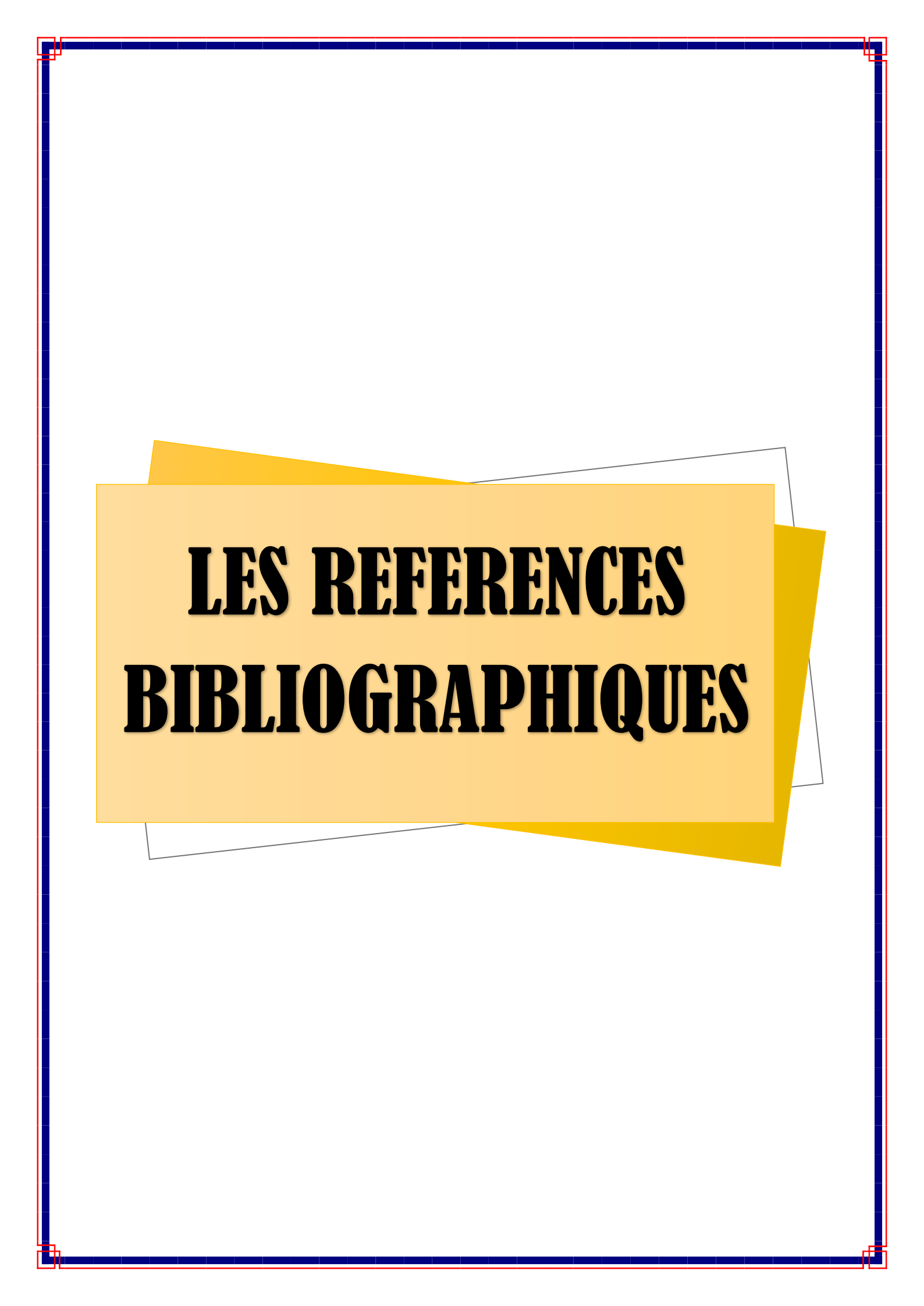
Conclusion

de la règle de cinq de Lipinski y compris le nombre de liaisons rotatives et le coefficient de partage ce qui valide la biodisponibilité orale.

On a complété nos essais de modélisation structurale par 20 mono substitutions et 35 bi substitutions, parmi lesquelles dix-sept (17) composés substitués ont eu des affinités améliorées. Le meilleur composé (n°1) parmi les mono substitués a atteint une affinité de 8.95 M^{-1} et le meilleur composé bi substitué (n°29) une affinité de 9.62 M^{-1} .

Il était très important de compléter cette étude par l'application de la méthode de filtrage ADME afin de nous renseigner sur les propriétés pharmacocinétiques des molécules proposées pour déduire si nos trois composés (meilleur similaire, meilleur composé mono substitué, meilleur composé bi-substitué) peuvent agir comme médicament, en utilisant du logiciel 'DruLiTo' qui évalue la biodisponibilité à travers l'application des filtres suivants : La règle de Lipinski , Filtre de Veber....etc . Le résultat a été positif.

En termes de perspectives d'avenir, ce travail pourra être complété et prolongé par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* afin de valider nos résultats théoriques et vérifier l'efficacité de l'approche *in silico*.

The page features a decorative border consisting of a thick blue line with a thin red line inside it. At each of the four corners, there is a small square graphic element with a red border and a white center. The main title is centered on a light orange rectangular background that has a slight 3D effect, appearing to be layered over a darker orange shape. The text is in a bold, black, serif font.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] - fondation ARC pour la recherche sur le cancer,2020,le cancer : collection comprendre et agir, PDF, https://www.fondation-arc.org/sites/default/files/2017-03/brochure_cancer.pdf, 50 p.

[2] - Centre international de Recherche sur le Cancer (CIRC): le fardeau du cancer atteint 18,1 millions de nouveaux cas et 9,6 millions de décès par cancer en 2018, Genève, Suisse, 12 septembre 2018 , https://www.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/09/pr263_F.pdf , 12 septembre 2018, 3 p.

[3] - Le professeur Kamal Bouzid, chef de service d'oncologie à l'hôpital Mustapha Pacha . 4 février 2020, Santé : Les chiffres glaçants du cancer en Algérie en 2020 font froid dans le dos ,<https://www.dzairdaily.com/sante-chiffres-cancer-algerie-2020/#:~:text=Alg%C3%A9rie%20E2%80%93%20La%20maladie%20du%20si%C3%A8cle,font%20froid%20dans%20le%20dos.,1p>.

[4] - Makhloufi khadidja et Lazreg Ikram : Conception in silico de nouveaux composés anticancéreux, thèse de fin d'étude, Université Mohamed Khider de Biskra,26 Juin 2019 ,84p.

[5] - El Hassen MOKRANI¹, Abderrahmane BENSEGUENI¹, Abdelouahab CHIKHI¹ et al (2012). Mise en évidence par criblage virtuel d'un nouveaux inhibiteur xanthinique de la DPP4 pour le traitement du diabète de type 2, Volume 7, N°27 page 41. Laboratoire de Biologie Appliquée et Santé, Département de Biochimie et Microbiologie, Faculté des sciences de la Nature et de la Vie, Université Mentouri, Constantine, Algérie.

[6] - Vincent LEROUX, thèse de doctorat, Modélisation d'inhibiteurs du domaine SH2 de la protéine Grb2 par dynamique moléculaire, docking et criblage virtuel, Chimie informatique et théorique , Université Henri Poincaré – Nancy I, décembre 2006,130 p.

[7] - Dimitri MOREAU, thèse de doctorat, Étude de nouvelles cibles moléculaires de cancer bronchopulmonaire non à petites cellules pharmacomodulées par des substances originales naturelles et synthétiques, Sciences de la Vie et de la Santé, université de Nante, 2006 ,321 p.

[8] - Organisation mondiale de la Santé (OMS),cancer, <https://www.who.int/topics/cancer/fr/#>

[9] -Mathias Lallement, Larousse Médical: une encyclopédie médicale sur CD-ROM <https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/cancer/11745>, 2006

- [10] - Adjailia Hadil, thèse de master, FACTEURS DE RISQUE NUTRITIONNEL DE CANCER DU SEIN, Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, 2018, 68p.
- [11] -Stéphane PUYO, thèse de doctorat, Recherche d'alternatives thérapeutiques aux taxanes dans les cancers de la prostate de hauts grades : Identification d'une signature prédictive de la réponse à l'oxaliplatine, Biologie cellulaire et physiopathologie, Université Victor Segalen Bordeaux 2, 2011,221p.
- [12]- SCHAHRAZED I, le 4 février 2020, Santé : Les chiffres glaçants du cancer en Algérie en 2020 , <https://www.dzairdaily.com/sante-chiffres-cancer-algerie-2020>, 2p.
- [13] - Fondation arc pour la Recherche sur le Cancer, 1er tirage : juin 2013 - Compédit Beauregard. collection comprendre et agir , www.fondation-arc.org, Conception éditoriale & Création graphique, 50p.
- [14] - Imène AMOKRANE, le 22-09-2018 , Plus de 29000 décès en Algérie en 2018, www.liberte-algerie.com.
- [15] - NOUAR MOHAMED ADIB et KRID MOHAMED LARBI ,thèse de master , Etude rétrospective de l'association entre le polymorphisme C677T méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR) et le risque de développer un cancer broncho-pulmonaire dans l'est algérien, génétique moléculaire, université constantine 1 ,2014, 63p.
- [16] -Docteur Jean-Baptiste Bachet, fédération des pathologies digestives, Hôpital Ambroise Paré, APHP, Boulogne Billancourt & Comité de Rédaction du site web de la Fédération Francophone de Cancérologie Digestive.
- [17] - Chahira Mazouzi, 5 janvier, 2017, dépistage du cancer colorectal en Algérie, <http://www.pressemedicale.com/evenement/depistage-du-cancer-colorectal-en-algerie>.
- [18] - Morgan, David O. (2007). *The Cell Cycle: Principles of Control*. London: New Science Press, 1st ed. 297 p.
- [19] - Cao L, Chen F, Yang X, Xu W, Xie J, Yu L.Analyse phylogénétique des protéines CDK et cycline dans les lignées prémétazoaires. BMC Evol Biol. 2014; 14 : 10. doi: 10.1186 / 1471-2148-14-10.
- [20] - Sherr CJ. Mammalian G1 cyclins. Cell 1993; 73: 1059-65.

- [21] - Lamas E, Zindy F, Sobczack J, Paterlini P, Wang J, Chenivesse X, Henglein B, Bréchet C. Cyclin-A et cancer. *médecine/sciences* 1993; 9: 676-83.
- [22] - Lim S, Kaldis P. Cdks, cyclines et CKI: rôles au-delà de la régulation du cycle cellulaire. *Développement*. 2013; 140 : 3079-3093. doi: 10.1242 / dev.091744.
- [23] - Morgan, David O. (1997) "Cyclin-Dependent Kinase: Engines, Clocks, and Microprocessors." *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 13:261-291.
- [24] - Taylor SS, Radzio-Andzelm E. Three protein kinase structures define a common motif. *Structure* 1994 ; 2 : 345-55.
- [25] - Echalié A, Juge Endicott, Noble ME. Développements récents dans les études biochimiques et structurales de la kinase cycline-dépendante. *Biochim Biophys Acta*. 1804; 2010 : 511-519.
- [26] - Paris J, Le Guellec R, Couturier A, Le Guellec K, Omilli F, Camonis J, Mac Neill S, Philippe M. Cloning by differential screening of a *Xenopus* cDNA coding for a protein homologous to cdc2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 1039-43.
- [27] - Demetrick DJ, Zhang H, Beach DH. Chromosomal mapping of human CDK2, CDK4 and CDK5 cell cycle kinase genes. *Cytogenet Cell Genet* 1994; 66: 72-4.
- [28] - Pines J, Hunter T. Human cyclin A is adenovirus E1A-associated protein p60 and behaves differently from cyclin B. *Nature* 1990; 346: 760-3.
- [29] - Tsai LH, Lees E, Faha B, Harlow E, Riabowol K. The cdk2 kinase is required for the G1-to-S transition in mammalian cells. *Oncogene* 1993; 8: 1593-602.
- [30] - Lees E, Faha B, Dulic V, Reed SI, Harlow E. Cyclin E/cdk2 and cyclin A/cdk2 kinases associate with p107 and E2F in a temporally distinct manner. *Genes Dev* 1992; 6: 1874-85.
- [31] - Xu M, Sheppard KA, Peng CY, Yee AS, Piwnicka-Worms H. Cyclin A/CDK2 binds directly to E2F-1 and inhibits the DNA-binding activity of E2F-1/DP-1 by phosphorylation. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 8420-31.
- [32] - Schulze-Gahmen U, Brandsen J, Jones HD, et al. Multiple modes of ligand recognition: crystal structures of cyclin-dependent protein kinase 2 in complex with ATP and two inhibitors, olomoucine and isopentenyladenine. *Proteins Struct Funct Genet* 1995; 22: 378-91.

- [33] - De Azevedo WF, Leclerc S, Meijer L, Havlicek L, Strnad M, Kim, SH. Inhibition of cyclin-dependent kinases by purine analogues: crystal structure of human cdk2 complexed with roscovitine. *Eur J Biochem* 1997; 243: 518-26.
- [34] - Gray N, Thunnissen AM, Kwon S, et al. Exploiting chemical libraries, structure, and genomics in the search for new kinase inhibitors. *Science* 1998; 281: 533-8.
- [35] - De Azevedo WF, Mueller-Dieckmann HJ, Schultze-Gahmen U, Worland PJ, Sausville E, Kim SH. Structural basis for specificity and potency of a flavonoid inhibitor of human CDK2, a cell cycle kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2735-40.
- [36] - Hoessel R, Leclerc S, Endicott J, et al. Indirubin, the active constituent of the Chinese anti-leukemia traditional medicine recipe Danggui Longhui Wan, inhibits cyclin-dependent kinases. *Nat Cell Biol* 1999; 24: 835-8.
- [37] - Legraverend M, Ludwig O, Bisagni E, Leclerc S, Meijer L. Synthesis of C2 alkynylated purines, a new family of potent inhibitors of cyclin-dependent kinases. *Bioorg Med Chem Lett* 1998; 8: 793-8.
- [38] - Stahl M., Rarey M. 'Detailed analysis of scoring functions for virtual screening'. *J. Med. Chem.* (2001), 44.p 1035.
- [39] - Chang M.W., Ayeni C., Breuer S., Torbett B.E. 'Virtual screening for HIV protease inhibitors: a comparison of AutoDock 4 and Vina'. *PLoS ONE*, (2010),5. p11955.
- [40] - Nocedal J., Wright S.J.. Quasi-Newton Methods. 'In Numerical Optimization. T. V. Mikosch, S. I. Resnick, S. M. Robinson (Ed.) '. (2006).
- [41] - Beutraït A. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel. Thèse de Doctorat : chimie informatique et théorique. Nancy : Université de Nancy. France. 2008. 122p.
- [42] - T. Schulz-Gasch, M. Stahl, « Scoring Functions for Protein-ligand Interactions: A Critical Perspective », *Drug Discovery Today: Technologies*, 2004, 1, 231-239.
- [43] - R. Wang, Y. Lu, X. Fang, S. Wang, « An Extensive Test of 14 Scoring Functions Using the PDBbind Refined Set of 800 Protein-ligand Complexes », *J. Chem. Inf. Comp. Sci.*, 2004, 44, 2114-2125.
- [44] - Thiriôt E. Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques : développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Méthionine Sulfoxyde

Réductases de classe A. thèse de doctorat d'université : Chimie informatique et théorique. Nancy: Université de Nancy. France. (2009). 291p.

[45] - Merzoug.A. Etude in silico de l'inhibition de la peptide déformylase. Thèse de Magistère. Univ Mentouri Constantine 2012.65p.

[46] - Bouchrit,H., Thèse de magister université Mentouri. Algérie. (2012). 70p.

[47] - Bessadok, M.A., Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie. France.(2011). 189p.

[48] - Brut, M., Thèse de doctorat. Université pierre et marie curie France.(2009). 123 p.

[49] - Vieth. M., Hirst.JD., Kolinski. A., Brooks. CL. J. Comput. Chem. (1998)., 19 .1612p.

[50] - Arrault A. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de doctorat d'université : Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. Orleans : Université d'Orleans. France. (2007). 176p.

[51] - Kitchen D. B., Decornez H., Furr J. R., Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. Drug discovery. (2004)., 3 .935p.

[52] - Bissantz C., Folkers G., Rognan D. Protein-Based Virtual Screening of Chemical Databases. 1. Evaluation of Different Docking/Scoring Combinations. J. Med. Chem. (2000)., 43 .4759p.

[53] - Weiner P.K., Kollman P.A., AMBER-assisted model building with energy refinement-a general program for modeling molecules and their interactions., J. Comput. Chem. (1981); 2 287p.

[54] - Weiner S.J., Kollman P.A., Nguyen D.T., D.A. Case, An all-atom force field for simulations of protein and nucleic acids., J. Comput. Chem. (1986); 7 .230p.

[55] - Brooks B.R., Bruccoleri R.E., Olafson B.D., States D.J., Swaminathan S., Karplus M., CHARMM-a programm for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations., J. Comput. Chem.(1983); 4. 187p.

[56] - Nilsson L., Karplus M., Empirical energy functions for energy minimization and dynamics of nucleic acids., J. Comput. Chem. (1986); 7. 591p.

[57] - Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm., *J.Mol. Biol.* (1996); 261 .470p.

[58] - Alban A., Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Other. Universités d'Orléans. France, (2007). 191p.

[59] - Halperin I., Ma B., Wolfson H., Nussinov R., Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions., *Proteins.*(2002); 47.409p.

[60] - Charifson P.S., Corkery J.J., Murcko M.A., Walters W.P, Consensus scoring: A method for obtaining improved hit rates from docking databases of three-dimensional structures into proteins., *J. Med .Chem.* (1999); 42 .5100p.

[61] - Bissantz C., Folkers G., Rognan D., Protein-based virtual screening of chemical databases. 1. Evaluation of different docking/scoring combinations., *J. Med. Chem.* (2000); 43 .4759p.

[62] - Terp G.E., Johansen B.N., Christensen I.T., Jørgensen F.S., A new concept for multidimensional selection of ligand conformations (MultiSelect) and multidimensional scoring (MultiScore) of protein-ligand binding affinities., *J .Med .Chem.* (2001); 44 .2333p.

[63] - Wang R.X., Lai L.H., Wang S.M., Further development and validation of empirical scoring functions for structure-based binding affinity prediction, *J. Comput. Aided. Mol. Des.* (2002); 16 .11p.

[64] - Muegge I., PMF scoring revisited., *J .Med .Chem.*(2006); 49 .5895p.

[65] - Muegge I., Effect of ligand volume correction on PMF scoring, *J. Comput .Chem.* (2001); 22. 418p.

[66] - Eldridge M.D., Murray C.W., Auton T.R., Paolini G.V., Mee R.P., Empirical scoring functions: I. The development of a fast empirical scoring function to estimate the binding affinity of ligands in receptor complexes., *J. Comput. Aided. Mol. Des* (1997) ; 11 .425p.

[67] - Fox, S.; Wang, H.; Sopchak, L.; Khoury, R. High throughput screening: early successes indicate a promising future. *J. Biomol. Screen.*, 2001, 6 (3), 137-140.

[68] - Lahana, R. How many leads from HTS? *Drug Discov. Today* 1999, 447-448.

[69] - Munos, B. Lessons from 60 years of pharmaceutical innovation. *Nat. Rev. Drug Discovery*, 2009, 959-968.

[70] - Hajduk, P. J.; Galloway, W. R.; Spring, D. R. Drug discovery: A question of library design. *Nature*, 2011, 470 (7332), 42-43.

[71] - Bohacek, R.; McMartin, C.; Guida, W. The art and practice of structure-based drug design: a molecular modeling perspective. *Med. Res. Rev.*, 1996, 16 (1), 3-50.

[72] - Borsi, V.; Calderone, V.; Fragai, M.; Luchinat, C.; Sarti, N. Entropic contribution to the linking coefficient in fragment based drug design: A case study. *J. Med. Chem.*, 2010, 53 (10), 4285- 4289.

[73] - Rohrig, C. H.; Loch, C.; Guan, J. Y.; Siegal, G.; Overhand, M. Fragment-based synthesis and SAR of modified FKBP ligands: Influence of different linking on binding affinity. *Chemmedchem*, 2007, 2 (7), 1054-1070.

[74] - Murray, C.; Verdonk, M. The consequences of translational and rotational entropy lost by small molecules on binding to proteins. *J. Comput. Aided Mol. Des.*, 2002, 16 (10), 741-753.

[75] - Verdonk, M.; Rees, D. Group efficiency: a guideline for hits-to-leads chemistry. *ChemMedChem*, 2008, 3 (8), 1179-1180.

[76] - Martin L. Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif : une application sur la protéine kinase FAK. Thèse de doctorat d'université : Bioinformatique. Montpellier : Université Montpellier 2. France. (2006). 149p.

[77] - Shibata, D., Slusarenko, A., Casey, R., Hildebrand, D., Bell, E. Lipoxygenases. *Plant Molecular Biology Reporter*. (1994); 12 .41p.

[78] - Monge A. Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche « in silico » de nouveaux composés bioactifs. Thèse de doctorat d'université : Chimie Informatique et Théorique. Orléans : Université d'Orléans. France. (2006). 154p.

[79] - Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. (2007). 90p.

- [80] - Morris G. M., Goodsell D. S., Halliday R. S., Huey R., Lindstrom W., Hart W. E., et al. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J. Comput. Chem.* (1998); 19 .1639p.
- [81] - Jones G., Willett P., Glen R. C., Leach A. R., Taylor R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J.Mol. Biol.* (1997); 267 .727p.
- [82] - Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm., *J.Mol. Biol.* (1996); 261 .470p.
- [83] - Ewing T. J., Makino S., Skillman A. G., Kuntz I. D. DOCK 4.0: search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* (2001); 15 .411p.
- [84] - Abagyan R., Totrov M. Biased probability Monte Carlo conformational searches and electrostatic calculations for peptides and proteins. *J.Mol. Biol.* (1994); 235. 983p.
- [85] - Sousa S. F. , Fernandes P. A., Ramos M. J. Protein-Ligand Docking : Current Status and Future Challenges. *Proteins.* 2006 ; 65 :15-26.
- [86] - Taylor R. D., Jewsbury P. J., Essex J. W. 2003. FDS: flexible ligand and receptor docking with a continuum model and soft-core energy function. *J. Comput. Chem.* 24(13), 1637-1656.
- [87] - Bessadok M.A. La multiplicité de transport de la P-glycoprotéine : Etudes de modélisation comparative et de docking au sein de la famille des protéines ABC. Thèse de doctorat d'université : Bioinformatique Structurale. Paris : université pierre et marie curie. France.2011. 189 p.
- [88] - CHABBI Amina et NABTI Khaoula : Etude in silico de l'effet inhibiteur potentiel d'un groupe de flavonoïdes contre la chitinase fongique , *Phytopathologie et phytopharmacie*, Université 8 Mai 1945 Guelma , 2017,80 p .
- [89] - DEKKICHE Zakia et BENAICHE Soulef : Modélisation par Docking moléculaire de l'interaction Enzyme-Inhibiteur : Cas de la Tyrosine kinase-JAK2 en tant-que cible thérapeutique impliquée dans les pathologies du sang, *Biochimie Appliquée* , Université des Frères Mentouri Constantine1, 2018 ,93 p.
- [90] - Mme Lalout Wassila née soufi : contribution a la modélisation des interactions dans les biomolécules : cas de la maladie de parkinson , *Chimie Théorique et Modélisation Moléculaire*, université Aboubekr Belkaid de tlemcen,2016, 129 p.

[91] - Amina Merzoug : recherche de nouvelles molécules bioactives par criblage virtuel et applications à l'inhibition de la peptidase déformylase, biochimie, Université des Frères Mentouri Constantine1, 2018, 189 p.

[92] - Teniou S. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses, Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 95 p

[93] - Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions Peptide Deformylase–substances antibactériennes à l'aide de techniques de « docking » (arrimage) moléculaire. Thèse de Doctorat d'État en Microbiologie. 2007, 126 p.

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

[95] - Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., and Kopple K.D., 2002, Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem.* 45, 2615–2623.

[96] - BRAHMI AMINA et BOUGUERN ABIR : CARACTERISATION DE NOUVEAUX INHIBITEURS DE LA RIPK1, ENZYME DE LA NÉCROPTOSE, mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine1, 2019, 136 p.

[97] - Valerio, L.G., Jr. In silico toxicology for the pharmaceutical sciences. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009. 241(3): p. 356-70.

[98] - Mark Thompson: Arguslab 4.01, Planaria software LLC (Consulté le 20/2/2014)
<http://www.arguslab.com/arguslab.com/ArgusLab.html>.

[99] - N M O'Boyle, M Banck, C A James, C Morley, T Vandermeersch, and G R Hutchison. "Open Babel: An open chemical toolbox." *J. Cheminf.* (2011).

[100] - Jay A., Jain N. Surflex-Dock 2.1: Robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *J Comput Aided Mol Des*. 2007, 21:281-306.

[101] - BIOvIA, D. S. (2015). Discovery studio modeling environment. San Diego, Dassault Systemes, Release, 4.

[101] - <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/126534318>. Consulté le: [10 Avril 2020].

The page features a decorative border consisting of a thick blue line with a thin red line inside it. At each of the four corners, there is a small red square with a white diagonal line. The background is white. In the center, there are two overlapping yellow rectangular shapes. The top one is a lighter shade of yellow and contains the word 'Annexes' in a bold, black, serif font. The bottom one is a darker shade of yellow and is partially obscured by the top one.

Annexes

Annexes 1

Tableau 19 Les résultats des calculs des 200 complexes utilisés pour tester la fiabilité de programme Surfex.

N°	Le complexe	Rmsd(Å)	Rmsd(Å) Optimisé	N°	Le complexe	Rmsd(Å)	Rmsd(Å) Optimisé
01	1fvv	1.230		101	2w06	4.172	
02	1pkd	2.306	1.481	102	3eoc	1.076	
03	1pye	2.181	0.145	103	3lfn	1.076	
04	1r78	1.277		104	3lfq	1.003	
05	1aq1	0.798		105	3lfs	0.422	
06	1ke6	0.574		106	3ns9	2.257	1.589
07	1ke7	1.513		107	3ql8	1.920	
08	1vyz	2.338	0.275	108	3qrt	1.560	
09	1w0x	2.998	1.247	109	3qru	0.625	
10	1g5s	1.478		110	3qtq	2.218	0.635
11	1y91	2.290	0.822	111	3qtr	2.768	1.533
12	1ykr	2.747	0.363	112	3qts	1.646	
13	2b52	1.577		113	3qtu	3.948	
14	2bkz	1.803		114	3qtw	3.801	
15	2bpm	2.046		115	3qtx	4.123	
16	1oiy	0.960		116	3qtz	4.026	
17	2bts	1.504		117	3qu0	4.502	
18	2c4g	3.467	1.233	118	3qwj	3.202	1.780
19	2c5n	3.116	1.957	119	3qwk	0.688	
20	2c5o	1.676		120	3qx2	3.058	1.424
21	2vtt	0.899		121	3qx4	4.464	
22	2a0c	1.169		122	3qxo	3.722	
23	2c5y	4.175		123	3qzf	3.085	0.904
24	2c6i	1.875		124	3qzg	0.436	
25	2c6k	5.999		125	3qzi	4.621	
26	2c6l	5.773		126	3r1q	1.161	
27	2c6m	3.024	2.596	127	3r1s	3.864	
28	2c6o	1.192		128	3r1y	2.880	0.503
29	2c6t	1.062		129	3r6x	3.780	
30	2c68	2.812	1.685	130	3r7e	4.674	
31	2c69	2.895	1.813	131	3r7i	5.106	
32	2duv	2.176	1.668	132	3r7u	1.358	
33	2exm	1.186		133	3r7v	3.537	1.750

34	2fvd	0.857		134	3r7y	1.800	
35	2g9x	4.131		135	3r8p	0.990	
36	2i40	3.948		136	3r8u	1.960	
37	2iw6	4.191		137	3r8v	3.494	2.360
38	2iw9	3.111	2.423	138	3r8z	2.542	1.401
39	2j9m	6.344		139	3r9d	0.646	
40	2r64	2.060		140	3r9h	0.647	
41	2uzb	1.902		141	3r9n	0.597	
42	2uzd	4.450		142	3r9o	5.000	
43	2uze	3.491	2.043	143	3r28	4.723	
44	2uzl	4.601		144	3r71	1.943	
45	2uzn	3.847		145	3r73	2.015	
46	2uzo	4.843		146	3r83	0.925	
47	2v0d	2.311	1.138	147	3rah	0.637	
48	2vv9	4.622		148	3rai	1.350	
49	2w05	1.217		149	3rak	0.622	
50	2w17	3.261	2.278	150	3ral	2.812	2.158
51	2wev	4.653		151	3rk5	3.198	2.082
52	2wih	1.032		152	3rk7	1.106	
53	2wxv	0.533		153	3rk9	2.598	1.642
54	2x1n	2.552	1.989	154	3rkb	4.557	
55	3eid	3.181	2.566	155	3rm6	3.187	1.517
56	3ej1	2.279	1.065	156	3rm7	3.473	1.798
57	3dog	1.210		157	3rmf	3.114	2.427
58	3pxy	0.979		158	3rni	4.073	
59	3pxz	1.295		159	3roy	4.427	
60	3py0	0.853		160	3rpo	2.607	1.803
61	3py1	1.750		161	3rpr	0.718	
62	3uli	1.634		162	3rpv	2.523	1.915
63	3qqg	3.491	0.070	163	3rpy	3.698	
64	3qqh	1.534		164	3rzb	3.545	0.867
65	3qqj	3.442	0.076	165	3s0o	3.086	1.366
66	3qqk	1.004		166	3s1h	2.807	2.241
67	3qql	1.814		167	3s2p	2.671	1.920
68	3r8l	5.473		168	3sqq	3.355	2.043
69	3r8m	2.229	1.498	169	3sw4	2.614	1.870
70	3rjc	6.605		170	3sw7	1.733	
71	3s00	4.111		171	3unj	1.799	
72	3ti1	1.414		172	3wbl	1.528	

73	3tiy	2.097		173	4bgh	4.418	
74	3tiz	2.641	1.372	174	4ek4	3.100	0.445
75	3tnw	3.735		175	4ek5	5.301	
76	3unk	4.217		176	4ek6	3.830	
77	4bzd	4.304		177	4ek8	2.065	
78	4d1x	5.519		178	4erw	0.729	
79	4d1z	2.710	0.085	179	4ez3	1.125	
80	4erw	0.729		180	4fkg	4.519	
81	4ez3	1.125		181	4fki	2.422	0.838
82	4rj3	3.669		182	4fkj	2.692	1.236
83	5a14	0.978		183	4fko	2.223	0.065
84	5mhq	3.871		184	4fkp	0.637	
85	5nev	0.730		185	4fkq	0.717	
86	5osj	3.420	1.131	186	4fkr	1.868	
87	6gub	1.352		187	4fks	0.799	
88	6guc	0.532		188	4fkt	0.760	
89	6gue	1.042		189	4fku	0.898	
90	6guf	1.506		190	4fkv	3.205	2.660
91	6guh	4.772		191	4fkw	1.010	
92	6guk	4.797		192	4fx3	4.547	
93	6q4c	2.444	0.058	193	4gcj	0.540	
94	6q4e	3.275	0.758	194	5iev	4.811	
95	6q4f	0.997		195	5jq5	1.870	
96	6q4g	0.677		196	5jq8	3.403	1.924
97	6q4h	2.449	0.989	197	5k4j	3.159	1.262
98	6q4i	0.764		198	5oo0	4.006	
99	6q4j	1.248		199	5oo1	5.045	
100	6q4k	6.068		200	5oo3	2.779	1.500

Annexes 2

Tableau 20 Les résultats du criblage par Surflex des similaires du ligand 4fkl.

N°	Ligands	Affinités	N°	Ligands	Affinités
01	145241382	6.47	119	141258356	1.89
02	145241378	2.23	120	141351159	1.37
03	13582281	2.45	121	141365955	1.58
04	45788107	2.18	122	142210127	1.59
05	45788110	3.29	123	142948185	3.38
06	60113136	3.47	124	143143278	1.96
07	63752111	2.27	125	143143311	1.94
08	63752263	2.83	126	143143319	2.47
09	64295784	2.21	127	143143329	1.45
10	64296534	2.87	128	143760996	3.33
11	82374891	1.32	129	144906581	1.91
12	82402647	1.57	130	145104957	1.14
13	82402665	2.29	131	145241372	1.17
14	83967517	3.04	132	145241378	1.81
15	85770828	1.83	133	145241382	1.66
16	86147318	1.15	134	83967517	4.88
17	96033377	2.75	135	82402665	4.75
18	96617213	1.89	136	63752263	4.67
19	96624152	1.24	137	447956	6.71
20	96862082	2.17	138	447957	3.42
21	103278296	2.62	139	6539280	3.64
22	103278372	0.65	140	6539284	5.04
23	103278381	3.03	141	6539285	4.79
24	103278408	1.06	142	6539286	3.65
25	103278518	2.33	143	6539300	4.19
26	103278549	1.17	144	9547884	2.69
27	103278653	1.95	145	13582275	4.18
28	103278755	2.75	146	46830767	4.23
29	103278849	1.90	147	6539278	4.63
30	103278889	1.85	148	143760996	4.50
31	103278948	3.14	149	71682965	4.51
32	103278999	1.76	150	60113109	2.42
33	103279094	1.83	151	91283487	3.88
34	103279154	1.65	152	91340739	4.22
35	103279166	1.10	153	118330357	4.56
36	103279192	3.98	154	118334147	4.23
37	103279296	2.40	155	122534113	4.92

38	103279419	1.94	156	126534318	7.13
39	103279475	2.12	157	126535116	4.49
40	103279494	2.32	158	87314366	3.67
41	103279520	1.37	159	87314427	4.34
42	103279530	3.45	160	88118019	4.82
43	103279631	1.85	161	88923955	1.93
44	104609459	1.75	162	89878744	3.52
45	106783875	1.57	163	90083440	3.52
46	106784318	1.96	164	90106367	4.88
47	106784385	2.26	165	144906581	3.22
48	106784399	1.94	166	90885992	5.71
49	106784430	1.91	167	145241378	4.38
50	112487703	3.21	168	68290316	1.16
51	113797717	2.79	169	5060757	2.90
52	113797764	2.23	170	68290316	1.16
53	113876852	3.20	171	141172162	4.03
54	113876856	1.21	172	87307124	4.82
55	116202547	1.73	173	87307375	4.09
56	116202548	5.68	174	87309521	4.56
57	116202549	1.67	175	87314338	4.75
58	116202550	2.34	176	87314356	4.97
59	116202553	2.26	177	87314357	4.72
60	116811736	2.18	178	59177704	4.85
61	116811804	2.31	179	59293707	5.45
62	116811833	1.70	180	59293733	5.03
63	116811955	1.58	181	59293738	3.53
64	116811985	1.69	182	46830767	4.23
65	116812105	2.19	183	60057179	4.51
66	116812132	1.49	184	60113112	3.95
67	116812273	2.38	185	60113136	4.86
68	117273147	1.04	186	60131551	3.14
69	117273149	1.22	187	67201172	3.15
70	121206344	2.12	188	57506658	5.24
71	122238924	1.50	189	57507176	6.13
72	126971203	2.58	190	58095727	3.50
73	127010052	1.20	191	58095737	3.47
74	129373235	2.05	192	58688553	3.65
75	129373236	3.10	193	58742216	4.13
76	129373237	2.34	194	58742226	2.48
77	129373238	3.08	195	58742258	4.56
78	129984365	0.77	196	58742262	4.49
79	130757781	0.82	197	58974799	4.49

80	130771994	2.19	198	11680689	3.28
81	130775549	3.39	199	17989749	2.77
82	130835532	1.69	200	22744131	4.61
83	130845591	1.81	201	57417081	3.15
84	130876692	1.20	202	57424346	3.99
85	130906588	1.58	203	57424347	4.51
86	130949065	1.92	204	57424348	3.33
87	131006968	2.70	205	57506654	3.68
88	131008738	1.13	206	57506656	3.47
89	131008742	2.32	207	57506657	4.73
90	131023992	1.77	208	10313797	4.84
91	131073278	2.92	209	10336016	4.03
92	131184814	2.05	210	10364073	4.75
93	131206460	2.50	211	10403579	3.93
94	131253922	3.75	212	11219169	4.75
95	131253926	3.31	213	11425177	4.77
96	131253992	2.62	214	11500349	4.12
97	131254002	3.12	215	11637250	6.54
98	131299953	2.37	216	11644356	4.27
99	131322447	2.39	217	11651467	6.27
100	131470174	1.21	218	6400892	2.69
101	131487622	6.05	219	6539279	3.10
102	131510163	5.09	220	9900438	4.93
103	131520729	3.45	221	9931269	5.11
104	131531568	2.76	222	9974456	3.39
105	131543596	3.56	223	123471230	2.01
106	131558795	5.77	224	123816632	2.45
107	131570643	1.79	225	124028633	2.71
108	131570644	1.81	226	129839731	5.16
109	140054372	2.59	227	2744836	5.30
110	141041019	1.99	228	5060757	2.90
111	141088891	1.68	229	9965249	4.23
112	141105138	3.09	230	10220758	6.35
113	141105144	1.42	231	13582275	4.18
114	141131243	1.94	232	13582277	5.31
115	141147839	1.49	233	87314137	3.97
116	141172162	1.17	234	91381591	3.99
117	141253361	2.76	235	95857710	2.86
118	141258355	1.65	236	116811747	5.21

Thème : Application du Docking moléculaire par SURFLEX Pour la mise en évidence des nouveaux inhibiteurs de la Kinase dépendante de la cycline 2 (CDK2).

Résumé:

La **kinase dépendante de la cycline 2** représente une cible importante pour les traitements anticancéreux. Dans le but de concevoir de nouveaux composés à meilleur effet inhibiteur que le composé «**CK2**» qui agit sur la cible **cdk2**, enzyme impliquée dans les tumeurs. Le programme de docking moléculaire **Surflex** a été développé pour aider à la mise au point des molécules à activité thérapeutique. Avec un taux de valeurs de **RMSD** inférieures ou égales à **2 Å** de **65,5 %** et un **coefficient de corrélation** de **-0,63**, les performances du programme **Surflex** sont avérées. Ce test a été suivi d'une analyse visuelle de la superposition des ligands de référence et ceux obtenus par docking moléculaire.

Un criblage virtuel a été effectué sur une collection de **236 structures** avec un taux de similarité de **92%** à notre ligand de référence ont été téléchargés à partir de la chimiothèque « **PubChem** » afin d'évaluer leur affinité envers la **cdk2**. Parmi les **236** structures, **22** composés ont présenté des affinités supérieures à celle de notre ligand qui est de **4.63M⁻¹**.

Les résultats du criblage virtuel par le logiciel **Surflex** nous a permis de sélectionner les **5** meilleurs composés qui peuvent être proposés comme meilleurs inhibiteurs de notre cible thérapeutique **cdk2** et pour lesquels nous avons fait une analyse détaillée des diverses interactions.

Nous avons complété nos essais de modélisation structurale par **20 mono substitutions** et **35 bi substitutions**, dans le but d'améliorer son action inhibitrice. Parmi lesquelles **dix-sept (17)** composés substitués ont eu des affinités améliorées :

La mono substitution concerne **20** composés et a permis une amélioration de l'affinité pour **8** composés ; la meilleure (**8.95 M⁻¹**) étant celle du composé **n°1**.

De la bi substitution résulte **35** composés parmi lesquels **neuf (9)** ont des affinités améliorées supérieures à **8.95 M⁻¹** ; la meilleure étant celle du composé **n°29** qui égale à **9.62 M⁻¹**.

Enfin, l'application de **la règle de Lipinski** nous informe de manière positive sur les propriétés physicochimiques de ces nouvelles molécules ainsi que sur leur biodisponibilité par voie orale comme médicament qui ne posera aucun problème.

Il est nécessaire de vérifier et valider nos résultats théoriques par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo*.

Mots clés : Docking moléculaire, Criblage virtuel, Surflex, RMSD, cdk2, Cancer, Inhibition, Lipinski.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biologie appliquée et Santé.

Président du jury : Mr BENSEGUENI . A

Pr. Université des Frères Mentouri Constantine1

Rapporteur : Mr CHIKHI. A

Pr. Université des Frères Mentouri Constantine1

Examinatrice : Mme TENIOU. S

M.A.A Université des Frères Mentouri Constantine1