

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم كلية علوم الطبيعة والحياة

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*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Développement *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la CSF1R par docking moléculaire pour le traitement de la maladie de L'épilepsie.

Présenté par : TAKOUCHE Ines
YAKHLEF Asma

Le 23/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mr CHIKHI .A (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine1).

Examineur 1: Mr BENSEGUENI. A (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Mr MOKRANI E .H (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire 2021 – 2022



Remerciements :

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir guidés à chaque fois que nous nous sommes sentis perdus et de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide de l'encadrement de Mr.CHIKHI

Abdelouahab, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire

Nos remerciements s'adresse a Mr.MOKRANI et Mr.BENSEGUENI pour leur aide pratique et leur encouragement.

Nos remerciements s'adresse également a tous nos professeurs pour toutes leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles





Dédicaces :

A cette mère courageuse et forte qui m'a toujours protéger de tout son cœur, qui avait toujours un mot pour reconforter les personnes qui traversaient les dures épreuves de la vie, ton départ au pays des anges n'effacera jamais le souvenir des jours heureux, repose en paix, en ma vie tu restes le plus beau thème.

A mon père je voudrais te remercier pour ton amour, ta confiance en moi, ton encouragement, ta fierté en moi et ta compréhension, ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployé pour mon éducation et ma formation.

A ma sœur merci de me suivre et de m'encourager, tu me fais toujours sentir que tu es derrière moi, merci de me prouver a quel point tu tiens a moi, sache que je te promets de toujours être la pour toi en retour.

A mon frère en gage de ma profonde estime pour l'aide que tu m'as apporté, tu m'as soutenu, reconforter et encourager.

A ma nièce ANAÏSSE avoir une nièce est le plus beau cadeau qu'une sœur puisse vous faire, tes petites mains, ton enthousiasme, tes yeux brillants. Tu as apporté beaucoup de bonheur a notre famille.

A mes amis et A mon binôme Yakhlef asma qu'on a tous partager ensemble a toute ma famille avec tous mes sentiments de respect, d'amour et de reconnaissance toute personne m'ayant soutenu.

Enfin, je prie Allah d'accepter cet effort et de le rendre réellement bénéfique à tous ceux qui le lisent



Inès.



Dédicaces :

Avant toutes choses je remercie **ALLAH le tout puissant** qui m'a donné la santé et le courage d'entamer et de terminer mes études **Alhamdulillah**

A ma **chère maman** qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études à cette femme forte, à cette princesse guerrière qui a beaucoup sacrifié pour me voir réussir, Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect merci pour ton amour

A mon **chère papa**, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, je vous remercie infiniment d'avoir toujours avec moi, sans votre encouragement et votre soutien je ne serais jamais arrivé là où je suis, que dieu te garde toujours en bonne santé.

A mes deux **frères** qui étaient toujours à mes côtés pour me soutenir et d'essayer de me remonter le moral que dieu vous comble de bonheur, de santé, de succès .

A mon binôme **Takouche Inès** la personne qui J'ai vécu avec elle les bons et les difficiles moments pendant toute la période universitaire.

à toute personne qui m'aime, **à la famille et mes amies** qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail

Finalement et surtout je dédie ce travail à moi-même pour tout effort que j'avais fait.



Asma.

Table des matières

Partie bibliographique

Chapitre 1 : L'épilepsie

1	Historique :	3
2	Introduction:	3
3	Définitions :	3
4	Les symptômes de l'épilepsie :	3
5	Les causes de l'épilepsie :	4
5.1	Une Cause génétique :	4
5.2	Des Causes infectieuses :.....	4
5.3	Des Epilepsies d'origine structurelle :.....	4
5.4	Des Causes métaboliques :	4
6	Types et classification de cette maladie :	5
6.1	Les crises d'épilepsie généralisées :.....	5
6.1.1	Généralisé non motrice :	5
6.1.2	Généralisé motrice :	5
7	Le diagnostique d'épilepsie :	7
8	Ce qui se passe-t-il dans le cerveau lors d'une crise d'épilepsie :	7

Chapitre 2 :La CSF1R

1	Généralités :	8
2	La structure de CSF1R :	8
3	Le Gene de CSF1R :	9

4	l'activation de csf1R.....	10
5	la fonction moléculaire du gene CSF1R:	10
5.1	Les inhibiteurs :	11
5.2	Les usages.....	11
Chapitre 3 : Docking Moléculaire		
1	Généralités :	13
2	Les étapes de docking.....	13
2.1	Le Docking:	13
2.2	LeScoring:	13
3	Types de docking:	14
3.1	Rigide :	14
3.2	Semi-flexible:	15
3.3	Flexible:	15
4	Outils de docking:	15
4.1	Récepteur:	15
4.2	Ligand:	15
4.3	Programmes de docking:	16
5	Les interactions protéines-ligands :.....	17
5.1	Une liaison hydrogène:	17
5.2	Interaction ionique:.....	17
5.3	Les interactions hydrophobes :	18
5.4	Interaction van der Waals:	18
6	Choix de méthode de recherche	18
6.1	Algorithme de recherche systématique.....	18
6.2	Algorithme de recherche stochastique.....	19

6.3	Algorithme de recherche simulation.....	19
-----	---	----

Partie pratique

Chapitre 4 : Matériels et méthodes

1	Microordinateur:	20
2	Programmes:	20
3	Banques de Données :.....	20
3.1	« PDB » (Protein Data Bank) :	20
3.2	« Pubchem »	21
3.3	SwissADME:	21
4	Méthodes :.....	21
4.1	Docking moléculaire :	21
4.1.1	Tests d'évaluation de la fiabilité du programme dedocking« Surfex »	21
4.1.2	Le RMSD :	22
4.1.3	Préparation de la cible :	22
4.1.4	Préparation du ligand :	23
5	Les étapes du docking :.....	23
5.1	Protocole de docking par Surfex	23
6	Proposition de nouveaux inhibiteurs théoriques de 5CN	23
7	Analyse visuelle des interactions :.....	24
7.1	Filtrage ADME:	24
7.1.1	Propriétés physico-chimiques :	24
7.1.2	Propriétés pharmacocinétiques.....	25

Chapitre 5 :Résultats et discussion

1	Le test RMSD.....	27
----------	--------------------------	-----------

2	Analyse visuelle	27
3	Proposition des nouveaux inhibiteurs	29
4	Etude des interactions:	33
4.1	Le ligand de référence:	33
4.2	Le similaire S7.....	35
4.3	Le similaire S90.....	36
4.4	Le similaire S38.....	37
4.5	Le meilleur similaire S107:	39
5	L'évaluation des propriétés ADME.....	40
5.1	Les propriétés physico-chimiques	40
5.2	Les propriétés pharmacocinétiques	42
5.3	Conclusion et perspectives	44

Liste des figures :

Figure 1 : la structure de la CSF1R -----	9
Figure 2: la Localisation du gène de la CSF1R -----	10
Figure 3 : modèle de docking de type clé-serrure -----	14
Figure 4 : Digramme des programmes de docking les plus cités -----	16
Figure 5 : Les interactions en rouge les potentiels zones d'accepteurs de liaison hydrogène et en bleu les potentiels donneurs de liaison hydrogène -----	17
Figure 6 : La liaison ionique -----	18
Figure 7 : Résultat en pourcentage du test RMSD. -----	27
Figure 8 : Superposition du ligand de référence et du final-0 calculé par Surfex du complexe 2ABI	28
Figure 9 : Superposition du ligand référence et du final-0 calculé par Surfex du complexe 2EW5---	29
Figure 10 : La présentation des interactions du ligand de référence avec le site actif de la CSF1R en schéma 2D. -----	33
Figure 11 : Analyse visuelle 3Dpar BioviaDiscoveryVisualizer du mode d'interaction du ligand de référence avec le site actif de CSF1R -----	34
Figure 12 : La présentation des interactions du composé S7 avec le site actif de la CSF1R en schéma 2D. -----	35
Figure 13 : Analyse visuelle par BioviaDiscoveryVisualizer du mode d'interaction du composé S7 avec le site actif de la CSF1R. -----	35
Figure 14 : La présentation des interactions du composé S90 avec le site actif de la CSF1R en schéma 2D. -----	36
Figure 15 : Analyse visuelle par BioviaDiscoveryVisualizer du mode d'interaction du composé S90 avec le site actif de la CSF1R. -----	37
Figure 16 : La présentation des interactions du composé S38 avec le site actif de la CSF1R en schéma 2D. -----	38
Figure 17 : Analyse visuelle par BioviaDiscoveryVisualizer du mode d'interaction du composé S38 avec le site actif de la CSF1R . -----	38
Figure 18 : La présentation des interactions du S107 de référence avec le site actif de la CSF1R en schéma 2D. -----	39
Figure 19 : Analyse visuelle par BioviaDiscoveryVisualizer du mode d'interaction du S107 de référence avec le site actif de CSF1R -----	40

Liste des tableaux

Tableau 1: Les caractéristique de l'enzyme CSF1R	22
Tableau 2: Valeurs de RMSD des complexes étudiés.	28
Tableau 3 : résultats des affinité des similaires	29
Tableau 4 : prtés pharmacocinétiqueoprié	41
Tableau 5 : les resultats de la simulation des critere pharmacocinétique	43
Tableau 6 : RMSD de 100 complexes Protéine – ligand	43
Tableau 7 : Les 135 similaires issu de la PubChem.....	43

Liste des abréviations

Å : Ångström.

ADME : Absorption , Distribution , Métabolisme , Elimination.

ADN : Acid désoxyribonucléique.

AVC : accident vasculaire cérébral.

BBB : Blood –brain barrier (barriere hémato-encéphalique).

CSF1R : colony stimulating factor 1 receptor.

CYP : Cytochrome P450.

Ig : immunoglobuline.

IL-34 : l'intereukine-34.

IRM : Imagerie par résonance magnétique.

Kcal/mol: Kilocalories/mole.

Log p : coefficient de partage.

MCSFR : *macrophage colony-stimulating factor receptor*.

PDB : Protein data bank.

PM : poids moléculaire.

RMSD : Root-mean-square deviation.

RTKIII : un récepteur tyrosine kinase de classe III.

SDF: Standard Data File.

TGCT : Tenosynovial giant cell tumor.

2D : deux dimensions.

3D : Trois dimensions.

Partie Théorique

Introduction

Introduction

Générale

Générale

L'épilepsie, maladie neurologique grave, existe depuis l'aube de l'humanité. C'était l'une des maladies chroniques les plus courantes dans le passé comme aujourd'hui.

Ainsi, l'épilepsie a le sens d'une crise, ou mieux d'un trouble consistant en une série de crises, il existe plusieurs types d'épilepsie, il vaut mieux dire épilepsies plutôt qu'épilepsie unique.

Le terme épilepsie dérive du grec « epilêpsia » qui veut dire prendre par surprise. Il faut faire la distinction entre : épilepsie et crise épileptique.

L'épilepsie : Maladie neurologique chronique caractérisée par la répétition plus ou moins fréquente de crises épileptiques, avec une incidence maximale avant 10 ans et après 60ans.

La crise épileptique : Symptôme d'un dysfonctionnement cérébral transitoire lié à l'activation anormale, subite, intense (décharges neuronales paroxysmales) et hyper synchrone d'une population plus ou moins étendue de neurones [1].

Les antiépileptiques ont une action symptomatique pour diminuer l'hyperexcitabilité neuronale. Les antiépileptiques ne sont pas tous efficaces dans toutes les formes d'épilepsie ni dans toutes les formes étiologiques, elles peuvent même en aggraver certains types de crises.

Les médicaments antiépileptiques sont considérés comme efficaces dans environ 70% des patients traité Cette absence de réponse peut causer des anomalies des circuits neuronaux, des anomalies de la distribution cérébrale des antiépileptiques[2]. L'objectif de notre travail est de développer de nouveaux inhibiteurs de la **CSF1R (colony stimulating factor 1 receptor)**, nous avons opté pour l'application d'une approche consistant à simuler et prédire l'affinité de petites molécules (ligands) qui interagissent avec une cible thérapeutique, cette méthode permet de rechercher « in-silico » le mode d'interaction le plus favorable des ligands avec notre cible « CSF1R».Le présent travail vise d'une part à répertorier les ligands bioactifs à l'égard de la CSF1Renzyme cible pour le traitement de l'épilepsie. Dans ce but, une recherche bibliographique approfondie a été menée, au préalable, en vue de collecter le maximum possible d'inhibiteurs de CSF1R issus de la littérature. Dans un deuxième temps, la structure 3D de chaque composé a été obtenue à l'aide du la chimiothèque et puchem.

- Ce mémoire est organisé comme suit :

Une partie bibliographique, composée de trois chapitres :

- Le chapitre 01 est consacré à la maladie d'épilepsie.
- Le chapitre 02 chapitre donne un aperçu sur notre cible « CSF1R » et ses inhibiteurs.
- Le chapitre 03 décrit le docking, ses algorithmes et ses logiciels.
- Une partie pratique, composée de deux chapitres
- Le chapitre 04 matériels et méthodes .
- Le chapitre 05 présente l'essentiel des résultats obtenus avec leurs interprétations et une discussion suivis d'une conclusion et des perspectives.

Chapitre I

1 Historique :

L'épilepsie a toujours été source de tensions entre conception magique et conception scientifique, entre croyances superstitieuses et explications rationnelles. Dans la seconde moitié du 19^e siècle, l'épilepsie passera définitivement, au niveau scientifique, du champ de la psychiatrie à celui de la neurologie. L'histoire est riche d'épileptiques célèbres, parmi lesquels : Jules César, Dostoïevski, Van Gogh, Flaubert, Nobel ou encore Napoléon. Socrate, Alexandre le Grand, Albert Einstein, Agatha Christie. [3]

2 Introduction:

Le mot épilépsien vient du mot grec «epilambanein», qui signifie attaque ou «crise violente». On peut trouver des traces d'épilepsie dans un passé lointain, Il existe de nombreuses indications que l'épilepsie existe depuis l'aube de l'humanité c'était l'une des maladies chroniques les plus courantes dans le passé comme aujourd'hui. Ainsi, l'épilepsie le sens d'une crise, ou mieux d'un trouble consistant en une série de crises, il existe plusieurs types d'épilepsie, il vaut mieux dire épilépsies plutôt qu'épilepsie unique. [3]

3 Définitions :

Le terme épilépsie dérive du grec « epilêpsia » qui veut dire prendre par surprise. Il faut faire la distinction entre : épilépsie et crise épileptique

L'épilepsie : Maladie neurologique chronique caractérisée par la répétition plus ou moins fréquente de crises épileptiques, avec une incidence maximale avant 10 ans et après 60ans.

La crise épileptique : Symptôme d'un dysfonctionnement cérébral transitoire lié à l'activation anormale, subite, intense (décharges neuronales paroxysmales) et hyper synchrone d'une population plus ou moins étendue de neurones. [4]

4 Les symptômes de l'épilepsie :

Il existe de variables symptômes pour cette maladie parmi eux il existe également : Une perte de connaissance, Une chute, Des convulsions ainsi une apparition de salive au bord des lèvres et parfois des vomissements et Un bref arrêt de la respiration. Mais il existe aussi des

formes d'épilepsie moins impressionnantes dans lesquelles le patient reste conscient : comme les Hallucinations ; les Contractions musculaires Et aussi des Regards fixes et des Gestes répétitifs sans raison apparente. [5]

5 Les causes de l'épilepsie :

il existe pleins des choses qui causent la maladie d'épilepsie parmi ces causes on note également :

5.1 Une Cause génétique :

Certaines épilepsies sont directement causés par une mutation génétique. Nous devons savoir que « l'origine génétique » ne veut pas forcément dire « héréditaire ». Hérité touche un petit groupe d'épilepsies au sein de certaines familles. Dans les formes graves ou bénignes, les mutations génétiques identifiées sont le plus souvent nouvelles et non héréditaires par exemple Le syndrome de Dravet (80 % des enfants atteints présentent une néo-mutation du gène SCN1A)

5.2 Des Causes infectieuses :

Les infections et les blessures sont les causes les plus fréquentes d'épilepsie dans le monde. Par exemple des méningites et encéphalites bactériennes et virales, les maladies répandues comme le paludisme, le sida ou la cysticerose cérébrale (ténia du porc) provoquent des atteintes cérébrales.

5.3 Des Epilepsies d'origine structurelle :

On désigne par là les épilepsies causées par un dommage dans le cerveau « lésions » acquises, mais peuvent aussi être d'origine génétique ou d'un trouble du développement du cerveau. Dans l'enfance, les anomalies congénitales , les tumeurs malformatives , les lésions lors de la naissance . A l'âge adulte, d'AVC, d'hémorragies cérébral .Si les crises ne peuvent pas être supprimées par des médicaments, il y a une possibilité d'un opération.

5.4 Des Causes métaboliques :

Les maladies métaboliques sont une cause rare, Elles touchent d'autres organes en plus du cerveau, il est important d'identifier Un diagnostic pour mettre en place le traitement approprié.

6 Types et classification de cette maladie :

6.1 Les crises d'épilepsie généralisées :

6.1.1 Généralisé non motrice :

Les absences généralisées :

Les absences, Ou « petit mal », touchent beaucoup plus les enfants de 5 a 12 ans. Il s'agit d'une absence De convulsion ou la personne perd le contact avec son entourage en quelques temps ; un regard vide ou fixe qui pourrait être interprété à tort comme un bref épisode de rêverie : « être dans la lune pouvant inclure des mouvements oculaires. Ce phénomène peut se répéter plusieurs fois par jour ou, parfois par heure.

6.1.2 Généralisé motrice :

6.1.2.1 Les crises Tónico-cloniques :

Les crises tonico-cloniques ou « grand mal », sont le type le plus courant de crises d'épilepsie généralisée, elles aboutie a une perte de connaissance une chute, des convulsions, l'apparition de bave au bord des lèvres et, parfois, des vomissements, une perte d'urine ou de selles, et arrêt de la respiration. Elle comporte deux phases :

- **(Phase tonique) :** c'est la période de convulsions
- **(Phase clonique) :** personne reprend conscience, elle est fatiguée et besoin de dormir.

6.1.2.2 Les crises myocloniques :

Les crises dites « myocloniques sont des mouvements extrêmement brefs et ressemblant à des secousses qui ressemblent à un sursaut. Par exemple, une personne pourrait

avoir une secousse soudaine de son bras ou de ses épaules ; la personne s'en rend compte et peut lâcher des objets ou tomber.

6.1.2.3 Les crises atoniques :

Les crises atoniques provoquent une perte de tonus musculaire, ce qui signifie que la personne devient soudainement molle. Si une personne est debout, la perte soudaine de tonus musculaire la fera tomber. Puis il se relève et peut recommencer à marcher.

6.1.2.4 Les crises toniques :

Ces crises durent 20 secondes, mais elles peuvent parfois durer environ 60 secondes. Provoquent une raideur des muscles. Si une personne est debout, une augmentation soudaine du tonus musculaire peut provoquer sa chute « attaque par chute ». [6]

6.2 Les crises d'épilepsie partielle :

Ces crises durent généralement quelque minute, l'individu demeure conscient les symptômes dépendent de la zone du cerveau atteinte la personne peut ressentir des fourmillements, des hallucinations ou manifester une émotion inexplicable

6.2.1 Crises partielles simples (autrefois appelées « crises focales ») :

Ces crises durent généralement quelques minutes, L'individu demeure conscient et Les symptômes dépendent de la zone du cerveau atteinte. La personne peut ressentir des fourmillements, des hallucinations ou manifester une émotion inexplicable.

6.2.2 Crises partielles complexes (autrefois appelées «crises psychomotrices ») :

Les crises partielles sont dites « complexes » lorsqu'elles ne répondent pas aux stimulations et son regard est fixe, Il peut avoir des automatismes, ainsi qu'une Une fois la crise terminée, il ne se souviendra pas du tout ou très peu de ce qui s'est passé. [6]

7 Le diagnostic d'épilepsie :

Ca peut parfois prendre du temps, car il dépend grandement des symptômes et de leur bonne interprétation. Ainsi, en premier lieu, le médecin peut avancer le diagnostic après une enquête approfondie de la première crise et selon la présentation clinique. Ensuite, des examens pour confirmer le diagnostic, tel que l'électroencéphalogramme (EEG). Il permet d'observer l'activité électrique cérébrale En complément à l'imagerie par résonance magnétique (IRM) ou au scanner et des analyses biologiques sanguins. [7]

8 Ce qui se passe dans le cerveau lors d'une crise d'épilepsie :

Le cerveau est constitué de cellules nerveuses, appelées **neurones**, qui communiquent entre elles par des signaux chimiques et électriques ce que l'on sait, c'est que, dans le **cerveau**, un groupe de neurones hyperexcitables augmente son activité électrique de manière excessive et synchronisée cette activité électrique va se propager aux zones du cerveau avoisinantes, voire à l'ensemble du cerveau. Un phénomène qui dure de quelques secondes à deux minutes, et qui s'arrête automatiquement . [6]

Chapitre II

1 Généralités :

Le récepteur du facteur 1 de stimulation des colonies hématopoïétiques (CSF-1R) ou MCSFR (*macrophage colony-stimulating factor receptor*) sont des MRIN C a été découverte par Sherr et alen (1985), un récepteur tyrosine kinase de classe III (RTKIII), qui est exprimé à la surface des cellules de la microglie et des macrophages il est directement impliqué dans le contrôle du développement, de la survie et du maintien de la microglie et ces effets sont associés à la neuro-inflammation il est essentiel à la prolifération et à la différenciation des cellules phagocytaires mononucléaires telles que les monocytes, les macrophages tissulaires, les macrophages musculaires, la microglie, les ostéoclastes, les cellules de Paneth et les cellules dendritiques myéloïdes

Le CSF-1R est activé par deux cytokines distinctes, le facteur 1 de stimulation des colonies (CSF-1) et l'interleukine-34 (IL-34) . [8][9]

2 La structure de CSF1R :

Ils sont présents dans le noyau sous une forme entière (holo-récepteur) ou sous la forme de molécule tronquée. [9]

LA LOGEUR 545 / MASSE 60179 DA [10]

CSF1R est une protéine de surface cellulaire avec un domaine extracellulaire glycosylé comprenant 5 domaines de type immunoglobuline (Ig), un domaine transmembranaire et un domaine kinase cytoplasmique. La partie intracellulaire du récepteur est composée de 8 sites de phosphorylation de tyrosine situés sur la partie juxta-membranaire, l'insert kinase, le domaine kinase majeur et le domaine kinase distal . A l'état inactif, CSF1R présente une conformation auto-inhibitrice. [11] [12]

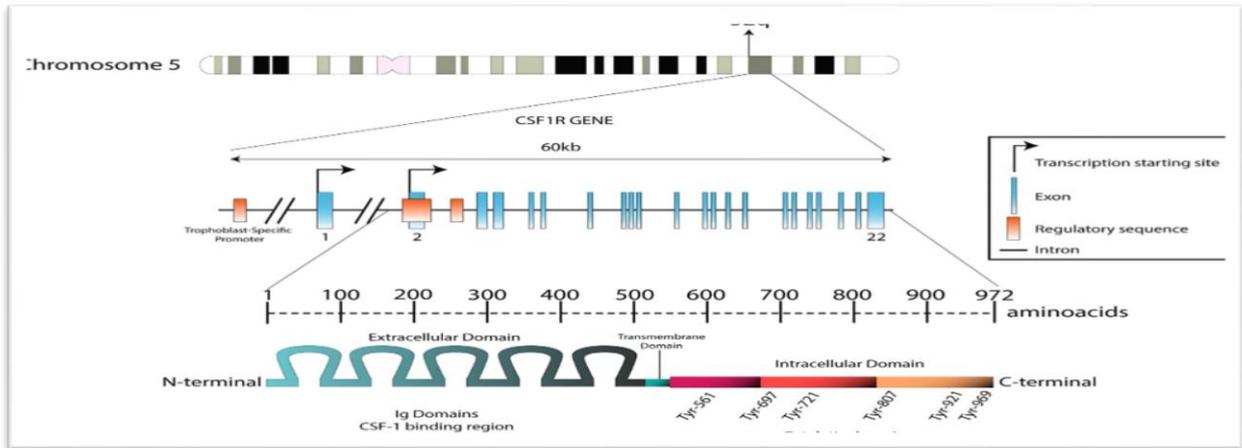


Figure 2: la Localisation du gène de la CSF1R [13]

4 l'activation de csf1R :

Le CSF-1R est activé par deux cytokines distinctes, le facteur 1 de stimulation des colonies (CSF-1) et l'interleukine-34 (IL-34). Bien que le CSF-1 et l'IL-34 partagent des activités biologiques similaires, ils diffèrent dans leurs modes de signalisation par le CSF-1R et en termes de niveaux d'expression spatio-temporels .

La liaison du CSF1 ou de l'IL34 au CSF1R induit une dimérisation non covalente des chaînes du récepteur et une transphosphorylation des résidus tyrosine [15]

. La première tyrosine à être phosphorylée est la Tyr561 qui est nécessaire pour l'activation complète du récepteur [15] . Les résidus phosphorylés fonctionnent comme des sites d'accueil pour plusieurs protéines différentes qui activent ensuite les molécules de signalisation. Suivant les différentes voies de transduction du signal en aval, les mécanismes d'expression génique qui en résultent favorisent la prolifération, la différenciation et la survie de la cellule [16]. Des études ont montré que la différenciation des macrophages est Médée par la voie PLC- γ 2 activée par la phosphorylation de Tyr-721 et Tyr-807 dans CSF1R. [17]

5 la fonction moléculaire du gène CSF1R:

Le gène CSF1R fournit des instructions pour la fabrication d'une protéine appelée récepteur du facteur de stimulation des colonies 1 (récepteur CSF-1). Lorsqu'une protéine spécifique appelée facteur 1 de stimulation des colonies s'y attache, le récepteur active une série de protéines à l'intérieur de la cellule qui font partie de plusieurs voies de signalisation.

Les voies de signalisation stimulées par le récepteur du CSF-1 contrôlent de nombreux processus cellulaires importants, tels que la croissance et la division des cellules (prolifération) et la maturation des cellules pour qu'elles assument des fonctions spécifiques (différenciation). [18]

Dans le cerveau, le récepteur du CSF-1 est abondant dans la membrane des cellules gliales. Ces cellules protègent et entretiennent les cellules nerveuses (neurones). le récepteur du CSF-1 est impliqué dans la prolifération et la différenciation des cellules gliales mais son rôle exact dans le cerveau n'est pas clair. [18]

5.1 Les inhibiteurs :

Les inhibiteurs du CSF1R, ou bien les inhibiteurs de kinase, sont une classe de médicaments qui empêchent la signalisation des cellules spécialisées du corps qui devient hyperactif .cet effet immunosuppresseur empêche les tumeurs de se développer et de se propager. Alors que certains de ces médicaments ont commencé à être utilisés en thérapie, un certain nombre d'autres de cette classe sont encore en phase d'essais cliniques.

Généralement pris par voie orale et conçus pour fonctionner seuls ou avec d'autres médicaments, il existe de nombreux types d'inhibiteurs du CSF1R. Par exemple, l'un de ces médicaments, Turalio (pexidartinib, également connu sous le nom de CSF1R PLX3397), est approuvé pour une utilisation dans le traitement de la tumeur à cellules géantes ténosynoviales symptomatique (TGCT), dans laquelle des tumeurs bénignes se développent dans les membranes et les structures associées aux articulations.

D'autres médicaments de cette classe, tels que Gleevec (imatinib), Sprycel (dasatinib) et Bosulif (bosutinib), peuvent également être utilisés pour plusieurs formes de leucémie (un cancer des globules blancs) ainsi que d'autres types de cancer. Il existe plusieurs inhibiteurs du CSF1R dont l'utilisation est approuvée, tandis que d'autres font actuellement l'objet d'essais cliniques. [19]

5.2 Les usages

Les inhibiteurs du CSF1R ciblent et modulent la fonction de l'enzyme tyrosine kinase, qui fonctionne comme une sorte d'interrupteur «marche / arrêt» pour les cellules, ce qui empêche le type d'activité qui peut conduire à la croissance tumorale.

Il existe plusieurs inhibiteurs du CSF1R actuellement utilisés en thérapeutique, notamment:

- Bosulif (bosutinib)
- Gleevec (imatinib)
- Iressa (géfitinib ou CSF1R ZD1839)
- Jakafi (ruxolitinib)
- Sprycel (dasatinib)
- Sutent (sunitinib)
- Tarceva (erlotinib)
- Turalio (pexidartinib)
- Tykerb (lapatinib)
- Votrient (pazopanib) [19]

Chapitre III

1 Généralités :

La découverte d'un médicament est une tâche longue et exigeante, sans mentionner la pression financière qu'elle implique [20]

. Le développement d'un médicament, de l'idée initiale à son entrée sur le marché, peut prendre environ 12 à 15 ans [21]. Pour un coût de 1,7 milliard de dollars [22]

C'est dans ce contexte que les techniques de docking in silico ont été développées. Il s'agit des approches théoriques permettant de prédire l'affinité d'un ligand au sein de son récepteur, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que les méthodes expérimentales in vitro [23] . Le docking s'est développé pour devenir de nos jours un outil incontournable dans la recherche de nouvelles molécules bioactives [24] [25]

2 Les étapes de docking

Le docking, en français, signifie ancrage, ou arrimage moléculaire, son but est de prévoir la capacité ou non d'une molécule à se lier au site actif d'une protéine. Cela en se basant sur la prédiction de la conformation et de l'orientation de la molécule lors de sa liaison au récepteur, afin d'accélérer la recherche et la découverte de nouvelles molécules bioactives in silico [26] [27]

- Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes :

2.1 Le Docking:

Qui consiste à placer le ligand dans le site actif de la protéine et évaluer les conformations, les positions et les orientations (poses) possibles, pour garder les interactions les plus favorables. Cette étape est exécutée de manière automatisée in-silico à l'aide d'algorithmes de docking, qui améliorent la vitesse et la précision des simulations [27] .

2.2 LeScoring:

Il est utilisé pour estimer mathématiquement l'affinité de liaison entre un récepteur et chacune des poses générées pendant le docking[28].

Cette tâche est réalisée par des outils informatiques appelée fonctions de score. Celles-ci estiment d'abord les différentes contributions énergétiques pour la stabilisation du complexe protéine-ligand puis commandent et ordonnent ces complexes pour identifier les interactions les plus favorables [29] [30].

3 Types de docking:

Il existe différents types de procédures de docking moléculaire impliquant un ligand/cible flexible ou rigide en fonction des objectifs des simulations de docking [30]. On peut définir trois modèles :

3.1 Rigide :

Pendant longtemps, le mécanisme de liaison d'un ligand à son récepteur a été envisagé comme un processus statique dans lequel le ligand constituait une clé de forme complémentaire à celle de la serrure qu'il était capable « d'ouvrir » [31].

La figure 2 montre la première proposition du "modèle de la serrure et de la clé", qui fait référence au docking rigide des récepteurs et des ligands. Ce modèle souligne l'importance de la complémentarité géométrique [32].

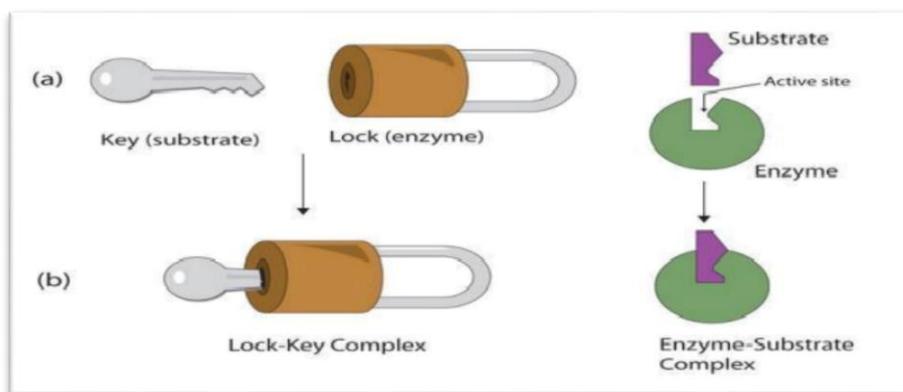


Figure 3 : modèle de docking de type clé-serrure [33].

3.2 Semi-flexible:

Le docking semi-flexible a permis d'obtenir des résultats plus précis. Le récepteur est considéré comme corps rigide mais tient compte de la flexibilité du ligand [34].

3.3 Flexible:

Les récepteurs et les ligands doivent modifier leur conformation pour s'adapter les uns aux autres [32]. La puissance de calcul des ordinateurs permet, pour certains logiciels de docking, de traiter la flexibilité du ligand et de façon partielle le récepteur [34].

4 Outils de docking:

4.1 Récepteur:

Un récepteur désigne une classe de macromolécules protéiques capables de lier une molécule plus petite, appelée ligand, à un site de reconnaissance particulier [35].

La majorité des structures sont extraites de la banque de données des protéines (PDB) qui est l'unique archive mondiale des structures tridimensionnelles des macromolécules biologiques (protéines, ADN, ARN) déterminées expérimentalement [36].

Elle a été créée en 1971 en tant que première ressource de données numériques en libre accès dans le domaine des sciences biologiques, avec sept structures de protéines. En 2020, l'archive pdb a explosé et compte plus de 155,000 structures de protéines, d'ADN et d'ARN [37].

Ces structures sont déterminées expérimentalement par cristallographie aux rayons X (90%), par RMN (9%) ou par microscopie électronique (1%). Les archives PDB sont gérées conjointement par le partenariat Worldwide Protein Data Bank (wwPDB ; wwpdb.org), composé de la RCSB Protein Data Bank, de la Protein Data Bank Japan (PDBj), de la Protein Data Bank in Europe (PDBe) et de la BioMagResBank (BMRB) [38][39].

4.2 Ligand:

Les ligands sont des composés organiques divers pouvant jouer le rôle d'inhibiteur de l'enzyme [39]. A présent, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un

ligand donné : Le premier moyen, souvent d'aspect commercial, consiste à utiliser des bases de données de structures chimiques appelés chimiothèque ou espaces chimique telles que Pubchem, Zinc, la chimiothèque Nationale Française etc. Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2...etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que chemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl[34].

4.3 Programmes de docking:

Le docking moléculaire est l'une des approches informatiques les plus populaires dans la conception moderne de médicaments basée sur la structure. Il peut être utilisé non seulement pour identifier la conformation correcte d'un ligand dans la cavité de liaison de la cible, mais aussi pour estimer la force de l'interaction entre la cible et le ligand.

Actuellement, de nombreux programmes de docking moléculaire sont disponibles dont AutoDock, AutoDock Vina, LeDock19, rDock, UCSF DOCK, LigandFit, Glide, GOLD, MOE Dock, Surflex-Dock, DOCK3, AutoDock4, GOLD5, FlexX6, Glide7, ICM8 et Surflex9 [40] [41].

La figure 4 illustre le nombre de citations des programmes de docking les plus courants (durant la période de 2001-2011), avec AutoDock, GOLD, DOCK, FlexX, Glide étant

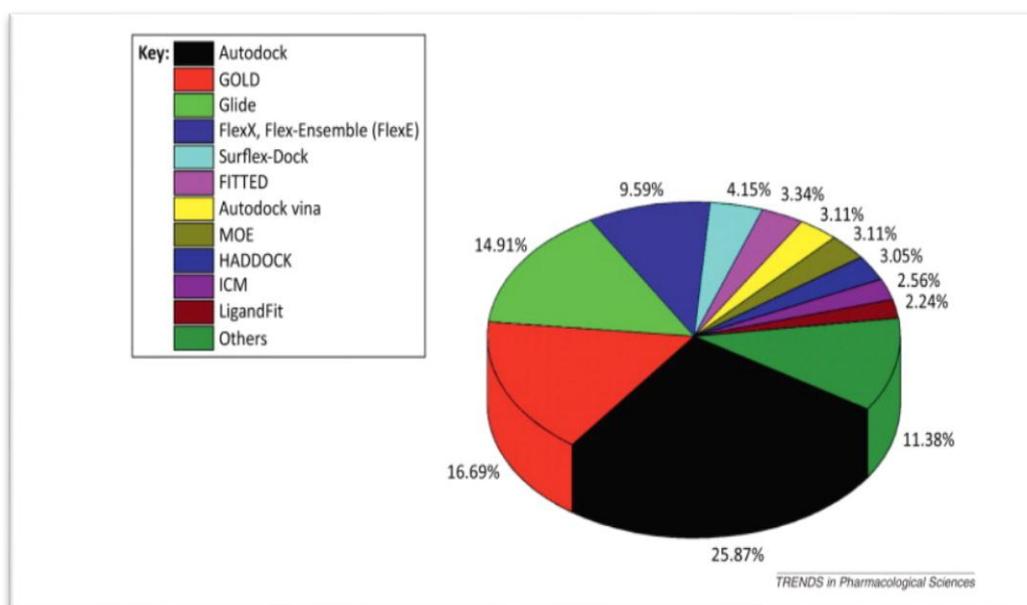


Figure 4 : Diagramme des programmes de docking les plus cités [41].

5 Les interactions protéines-ligands :

Au niveau du site actif, les interactions entre la protéine et le ligand engendrent la formation de liaisons faibles [42].

5.1 Une liaison hydrogène:

est une interaction électrostatique entre un atome électronégatif dit " accepteur " (A a une charge partielle négative) et un atome d'hydrogène polaire (H a une charge partielle positive) qui est lié à un atome électronégatif dit " donneur " (D a une charge partielle négative) de manière covalente (**Figure 6**) [43].

La distance entre le donneur H et l'accepteur H est entre 3 et 4 Å, alors que l'angle tend plus facilement vers 90° que 180°. Ces interactions sont cependant énergétiquement de 2 à 5 kcal/mol [44].

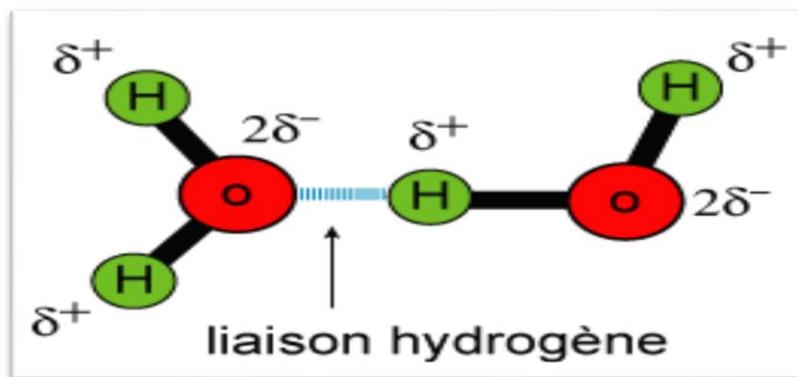


Figure 5 : Les interactions en rouge les potentiels zones d'accepteurs de liaison hydrogène et en bleu les potentiels donneurs de liaison hydrogène [44].

5.2 Interaction ionique:

Elle résulte d'une force d'attraction électrostatique entre deux atomes de charges opposées. La distance entre les centres chargés doit être inférieure à 4,0-4,5 Å. Les liaisons ioniques ont une force variant entre 5 et 10 kcal/mol dans un environnement aqueux (**Figure 6**) [45].

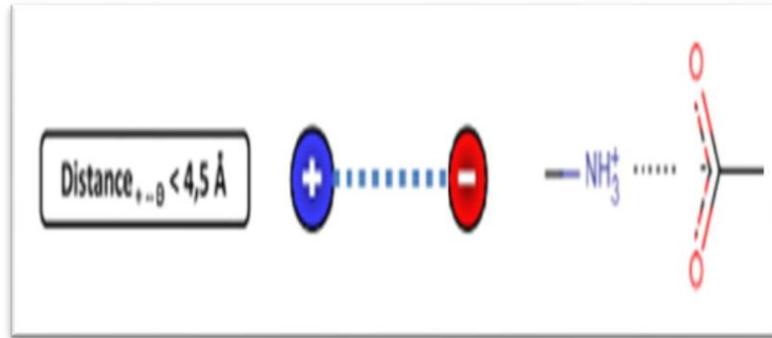


Figure 6 : La liaison ionique [45].

5.3 Les interactions hydrophobes :

Les molécules ou groupes d'atomes apolaires sont incapables de former des liaisons hydrogènes et ne peuvent donc pas s'hydrater, pour cela, on les nomme substances hydrophobes. L'effet hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence de façon à minimiser les contacts avec l'eau. La liaison possède une énergie de l'ordre de 7 kcal/mol. [46][47]

5.4 Interaction van der Waals:

Lorsque deux atomes se rapprochent l'un de l'autre, ils créent une force d'attraction faible et non spécifique qui produit une interaction de Van der Waals. Cela est causé par des attractions temporaires entre les régions riches en électrons d'une molécule et les régions pauvres en électrons d'une autre. Ces attractions sont très courantes mais sont beaucoup plus faibles que les liaisons chimiques[48].

6 Choix de méthode de recherche

Il existe plusieurs types d'algorithmes pour le traitement de la flexibilité du ligand mais il existe trois catégories majeures :

- Les méthodes systématiques
- Les méthodes aléatoires ou stochastiques
- Les méthodes simulation[49].

6.1 Algorithme de recherche systématique

Le principe général d'algorithme systématique est de couper les ligands sous certains critères en fragments rigides et flexibles. Ces algorithmes sont dits aussi de fragmentation / reconstruction. 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 [50].

Des programmes comme FlexX, Surflex et Dock utilisent cette approche qui permet notamment un criblage rapide de vastes chimiothèques de molécules[51].

6.2 Algorithme de recherche stochastique

Dans les algorithmes stochastiques, Les mouvements de rotation et les conformations de liaison des ligands dans son entier explore le site actif étudié se font de manière répétitive et au hasard. Le changement aléatoire sera accepté ou rejeté selon un critère probabiliste. Monte Carlo (MC) et les algorithmes génétiques sont deux algorithmes typiques qui appartiennent à la classe des méthodes stochastiques [52], AutoDock fait partie de cette catégorie [53].

6.3 Algorithme de recherche 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[

Chapitre IV

L'objectif essentiel de notre travail de master est une initiation aux approches de modélisation par docking moléculaire afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de la CSF1R. Pour cela, nous avons utilisé le matériel suivant :

1 Microordinateur:

Le travail a été effectué sur deux ordinateurs avec les caractéristiques suivantes

- Un ordinateur portable ayant une mémoire vive de 4 Go. Tous les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 10
- un ordinateur portable avec ayant une mémoire vive de 8 Go. Tous les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 7

2 Programmes:

Dans notre étude, plusieurs programmes ont été utilisés pour réaliser la partie pratique :

- « **Surflex** » version 1.3, afin de réaliser un docking moléculaire rapide capable d'arrimer les ligands dans un environnement constitué d'acides aminés avec une bonne précision
- « **OpenBabel** » version 2.0.2, pour effectuer la conversion des fichiers en divers formats (pdb, mol2, mol, sdf, smi....etc.) [55].
- **BioviaDiscovery 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.

3 Banques de Données :

Le réseau internet a été très utile dans notre étude pour l'obtention des complexes protéiques (protéine-ligand) et pour la simulation des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques de nos meilleurs inhibiteurs.

3.1 « PDB » (Protein Data Bank) :

Est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (3D) des macromolécules biologiques : protéines essentiellement, acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN [56]

3.2 « Pubchem »

C'est une banque de données américaine des molécules chimiques gérée par NCBI (le National Center for Biotechnology Information). Elle contient actuellement plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques sont gratuitement accessibles. Cette banque a été utilisée pour faire ressortir des similaires structuraux de notre ligand . [57]

3.3 SwissADME:

Ce serveur permet de calculer des descripteurs physicochimiques ainsi que des propriétés pharmacocinétiques des composés. On peut consulter ce serveur via le lien: <http://www.swissadme.ch/>. [58]

4 Méthodes :

4.1 Docking moléculaire :

Le docking est une approche numérique qui prédit le meilleur positionnement du ligand (médicament) au sein d'une molécule protéique (cible thérapeutique). Cette méthode est basée sur deux approches :

- La première: la complémentarité des surfaces
- La deuxième: le calcul du score (l'affinité) qui permet d'attribuer le meilleur score au complexe

4.1.1 Tests d'évaluation de la fiabilité du programme de docking « Surflex »

Il est nécessaire d'étudier la fiabilité du logiciel d'ancrage moléculaire pour confirmer sa performance. Pour cela, nous avons réalisé le test du RMSD (Root-Mean-Square

Déviations) et ensuite observé la superposition des 2 conformations, celle du ligand généré par le logiciel et celle du ligand de référence afin de vérifier si le logiciel fonctionne correctement ou pas. [59]

4.1.2 Le RMSD :

Compare deux modèles aux structures 3D obtenues selon la distance euclidienne calculée entre deux fragments d'atomes superposés. Pour savoir si ces deux fragments possèdent une même géométrie. Le RMSD entre la conformation optimale suggérée par les logiciels d'arrimage et la conformation expérimentale ne doit pas dépasser 2Å (Gabb. J et al., 1997) [61]

Ce premier test a été réalisé sur 100 complexes protéine-ligand cristallisés tirés de la PDB.

4.1.3 Préparation de la cible :

♣ L'enzyme cible pour laquelle nous avons opté est la CSF1R « Colony Stimulating Factor 1 Receptor » en complexe avec l'inhibiteur disponible dans la PDB, que nous avons téléchargé sous format .pdb .

♣ Parmi les 7 complexes proposés par cette banque, nous avons choisi le code 2I1M. Le choix de ce code est dicté par sa faible valeur de résolution 1.8 Å. Le complexe a été téléchargé sous format pdb.

Tableau 1: Les caractéristiques de l'enzyme CSF1R

Enzyme	Code PDB	Résolution (Å)	Nombre de chaînes	Nombre d'AA
CSF1R	2I1M	1.8 Å	1	333

Avant son utilisation par surflex, le complexe 2I1M a subi quelques modifications nécessaires. En premier lieu on a séparé notre seule chaîne de son inhibiteur portant le code 5CN afin de garder uniquement l'enzyme avec un site actif libre tout en éliminant les molécules d'eau, les ions et les métaux.

Les modifications apportées à la protéine sont sauvegardées sous format .pdb

La conversion de la protéine au format mol2 et l'addition des atomes d'hydrogène par le programme OpenBabel est indispensable pour le docking par Surflex.

4.1.4 Préparation du ligand :

- ♣ On a séparé le ligand 5CN par la suppression de tous les composants du complexe (protéine, molécules d'eau, métaux...) à l'exception de notre ligand.
- ♣ On a enregistré les modifications apportées au ligand 5CN au format .pdb.
- ♣ On a converti le ligand au format .mol2 pour l'adapter au docking par Surflex.

5 Les étapes du docking :

5.1 Protocole de docking par Surflex

→ 1 ère étape : génération du protomol :

Conception d'une pseudo-molécule « protomol » : c'est un site de liaison idéalisé servant de matrice sur laquelle les ligands ou les fragments de ligand sont alignés de façon similaire. [62]

→ 2 ème étape : le docking moléculaire:

Il est réalisé après avoir préparé les fichiers suivants au format .mol2 : protomol, protéine, ligand. Le logiciel Surflex propose les dix meilleures conformations du ligand à l'intérieur du site actif de l'enzyme et attribue à chacune un score après calcul de l'affinité. Les scores sont classés par ordre décroissant d'affinité de final-0 à final-9, le meilleur étant final-0 au format .mol2. [62]

→ 3 ème étape : calcul du RMSD :

Le RMSD considéré est celui des atomes lourds. [62]

6 Proposition de nouveaux inhibiteurs théoriques de 5CN

Les affinités de ces similaires envers notre cible ont été calculées après la préparation indispensable suivante :

- Après avoir copié le format smile de notre inhibiteur à partir de la PDB on l'a collé au niveau de la pubchem
- Après avoir fixé un pourcentage de similarité de 87% le site nous propose 307 similaires à notre ligand de référence
- Nous avons téléchargé 135 similaires au format sdf

Pour réaliser le docking la protéine ainsi que le protomol sont fournis au format .mol2 et notre similaire au format .sdf.

7 Analyse visuelle des interactions :

L'analyse visuelle est une étape qui suit le test par RMSD. Elle nous permet de vérifier la superposition du modèle de chaque ligand simulé par rapport à sa pose de référence et donc elle est complémentaire pour vérifier la fiabilité des simulations.

Dans le présent travail nous avons fait appel au logiciel biovia discovery studio.

7.1 Filtrage ADME:

Plusieurs molécules bioactives n'atteignent pas les phases cliniques à cause de leurs propriétés pharmacologiques défavorables. Dans le présent travail, nous avons fait appel au serveur SwissADME afin de simuler les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques régissant les paramètres ADME des meilleurs inhibiteurs obtenus.

7.1.1 Propriétés physico-chimiques :

7.1.1.1 La règle de Lipinski

La règle de Lipinski, aussi connu sous le nom Règle de 5, permet de vérifier la biodisponibilité orale d'un composé à partir de sa structure 2D» et déterminer si un composé chimique possède des caractéristiques médicamenteuses précises. D'après cette règle, les composés qui ne valident pas au moins trois des cinq critères suivants sont susceptibles de poser des problèmes d'administration par voie orale :

- Poids moléculaire (PM) \leq 500 Da.
- Coefficients de partage octanol-eau (log P) \leq 5.

- Le nombre d'accepteur d'hydrogène (n.ON) ≤ 10 .
- Le nombre de donneur d'hydrogène (n.OHNH) $H \leq 5$.
- Le nombre de liaisons flexibles (n.LF) [63]

7.1.1.2 La règle de veber:

Des compléments ont été apportés, notamment par Veber et al (2002), suggérant que les composés qui répondent uniquement aux deux critères suivants, favoriseraient une bonne biodisponibilité orale. [64]

1. 10 liaisons rotatives ou moins.
2. Une surface polaire égale ou inférieure à 140 Å².

La vérification de la solubilité dans l'eau et l'accessibilité à la synthèse chimique, ont également été évaluées.

7.1.1.3 Solubilité dans l'eau

La solubilité dans l'eau est une mesure de la quantité de substance chimique pouvant se dissoudre dans l'eau à une température donnée. L'unité de solubilité est généralement exprimée en mg / L (milligrammes par litre) ou en ppm (parties par million) [65].

7.1.2 Propriétés pharmacocinétiques

7.1.2.1 L'absorption gastro-intestinale :

L'administration de médicaments doit surmonter de nombreux obstacles, notamment l'environnement gastrique acide et la sécrétion continue de mucus qui protège le tractus gastro-intestinal. Un bon candidat médicament doit pouvoir traverser le tractus gastro-intestinal (GI) pour atteindre sa cible [66].

7.1.2.2 LA BBB perméabilité:

Le système nerveux central est bien protégé par la barrière hémato-encéphalique (BloodBrainBarrier) (BBB) qui maintient son homéostasie. En raison de cette barrière, de nombreux médicaments potentiels pour le traitement de maladies du système nerveux central ne peuvent atteindre le cerveau à des concentrations suffisantes [85] .

7.1.2.3 Accessibilité à la synthèse:

Des modifications structurales doivent être menées sur les composés actifs lors de leur optimisation. De ce fait, les composés dont la synthèse chimique est difficile à réaliser sont généralement éliminés. Dans notre travail, l'accessibilité à la synthèse chimique a été évaluée en valeurs allant de 1 (très facile à synthétiser) jusqu'à 10 (très difficile à synthétiser).

Chapitre V

La première étape de notre étude consiste à évaluer la performance du programme de docking moléculaire « Surfex » utilisé dans le but de la découverte de nouveaux inhibiteurs de la CSF1R. Deux tests de fiabilité du programme de docking « Surfex » ont été réalisés :

- Le RMSD (rootmean square deviation).
- L'analyse visuelle.

1 Le test RMSD

Ce test a été réalisé sur 100 complexes protéine-ligand téléchargés à partir de la PDB. Les résultats sont représentés dans l'annexe N°1. Les valeurs obtenues sont : 61% des valeurs de RMSD sont inférieures ou égales à 2 Å et 39% dépassent cette valeur norme. Donc le programme Surfex simule correctement les interactions Protéine-Ligand.

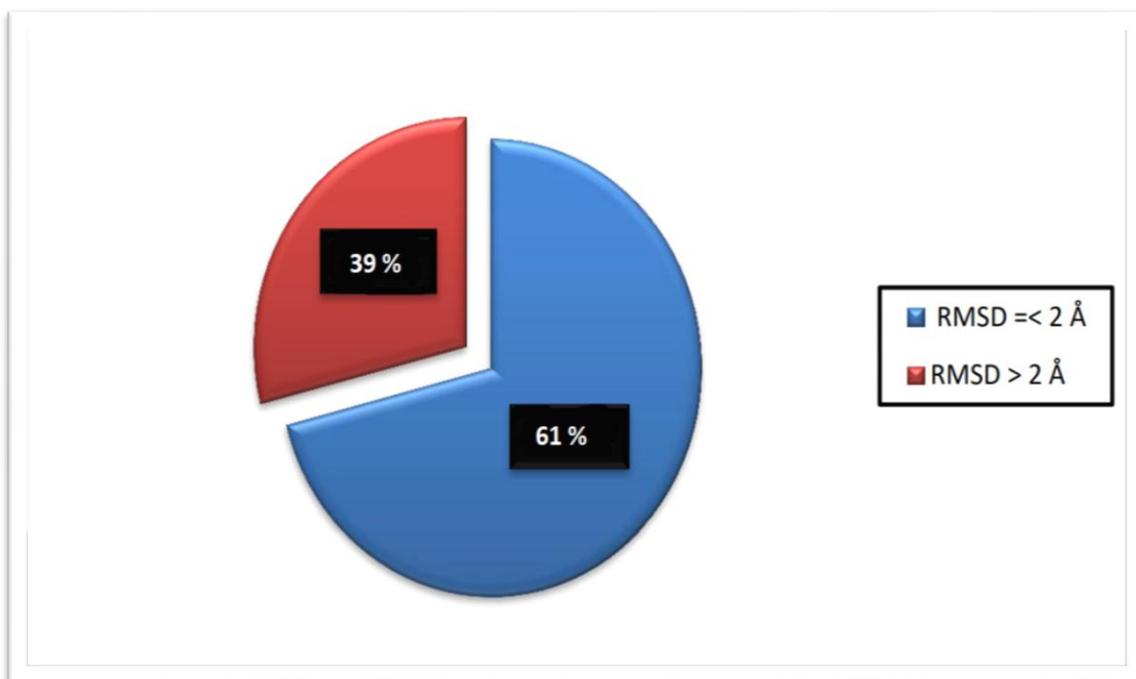


Figure 7 : Résultat en pourcentage du test RMSD.

2 Analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape essentielle pour confirmer les résultats du RMSD. Elle permet de déterminer si un ligand simulé se superpose avec le ligand co-cristallisé. Dans ce contexte, nous avons visualisé spécifiquement 2 complexes disponibles dans la PDB pour lesquels nous avons calculé le RMSD :

- Un complexe(2ABI) ayant un bon RMSD et
- Un complexe(2EW5) ayant un mauvais RMSD

Tableau 2: Valeurs de RMSD des complexes étudiés.

Complexe	RMSD(Å)	Le ligand
2ABI	1.172	Coloré en rouge
2EW5	7.278	Coloré en rouge

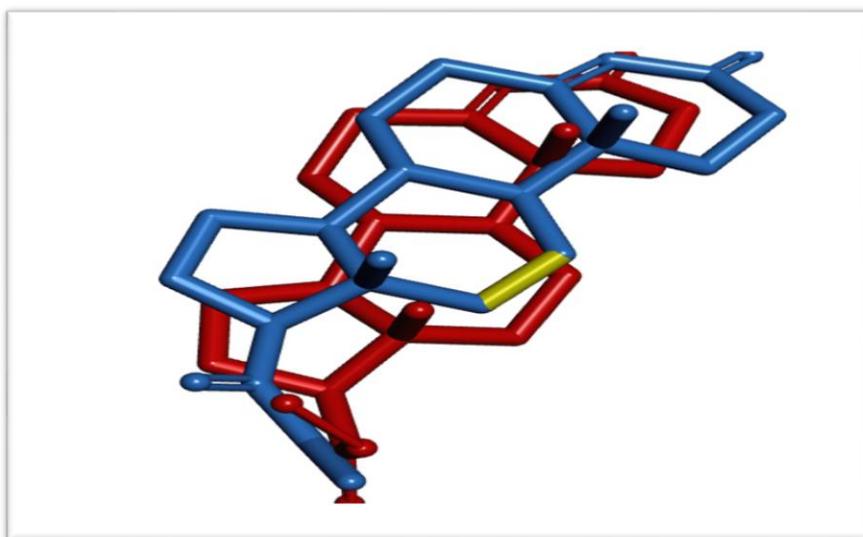


Figure 8 : Superposition du ligand de référence et du final-0 calculé par Surfex du complexe 2ABI

(RMSD=1.172Å).

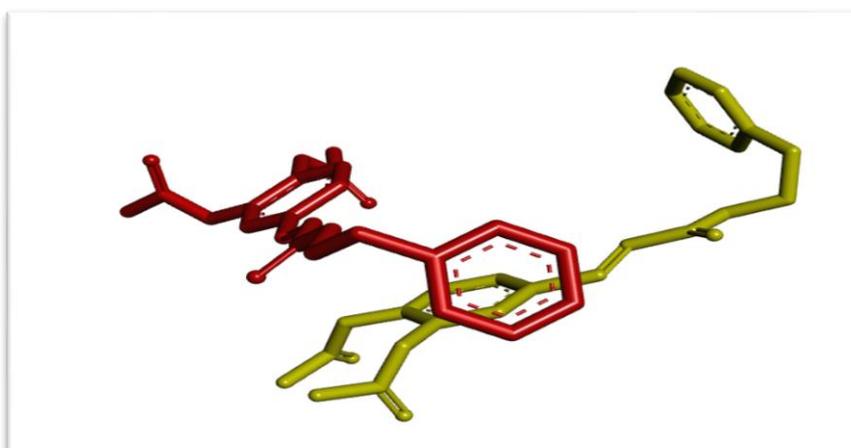


Figure 9 : Superposition du ligand référence et du final-0 calculé par Surflex du complexe 2EW5

(RMSD=7.278Å).

Dans le cas du complexe 2ABI avec un RMSD égal à 1.172Å, la visualisation montre que le modèle simulé par Surflex se superpose bien au modèle de référence, alors que dans le cas du deuxième complexe 2EW5 (RMSD =7.278Å), elle montre qu'il n'y a pas de superposition entre les deux ligands.

On peut conclure à partir des résultats obtenus par les deux tests de fiabilité, le RMSD et l'analyse visuelle, que le programme Surflex est suffisamment fiable et qu'on peut l'utiliser dans nos travaux de docking moléculaire, afin de générer d'autres inhibiteurs de notre cible CSF1R.

3 Proposition des nouveaux inhibiteurs

À 87% d'homologie structurale au ligand de référence (5CN) la Pubchem nous propose 304 similaires. 135 ont été convertis du format .sdf au format .mol2 avec le programme OpenBabel. Un criblage de ces similaires a été réalisé dans le site actif de notre cible enzymatique afin de prédire leur affinité envers elle. Le **tableau n°4** suivant regroupe les résultats des affinités de ces similaires :

Tableau 3 : résultats des d'affinité des similaires

Nombre	PUBCHEM ID	Affinité M ⁻¹	Nombre	PUBCHEM ID	Affinité M ⁻¹
S1	9884318	4.04	S13	44444591	4.54
S2	11575682	2.02	S14	44444592	2.95
S3	11621465	3.21	S15	44444594	2.84
S4	11669846	3.18	S16	44447259	1.50
S5	11209405	3.00	S17	44449419	1.78
S6	11186408	3.51	S18	44449421	2.29
S7	11280046	4.78	S19	44449453	3.47

S8	11327103	3.12	S20	44449456	2.26
S9	11395681	3.29	S21	1511103	2.13
S10	11661133	3.76	S22	6463885	2.08
S11	24875178	2.41	S23	44444593	2.90
S12	4799939	2.16	S24	71916685	2.99
S25	6456942	2.03	S48	71156982	2.84
S26	11174712	2.99	S49	71159940	3.41
S27	11175692	4.00	S50	71224414	4.04
S28	11245632	4.07	S51	71224789	3.62
S29	11315498	2.96	S52	71234110	4.46
S30	11348521	2.43	S53	90979058	3.05
S31	11370773	3.53	S54	91299166	3.12
S32	11393621	3.90	S55	91406475	3.36
S33	11394070	3.84	S56	118601013	3.33
S34	11461027	2.26	S57	123811852	2.29
S35	11669845	3.18	S58	126498813	4.58
S36	11702297	2.70	S59	130372661	3.37
S37	16367133	2.27	S60	130372841	3.07
S38	20755541	4.60	S61	130372941	3.54
S39	24874631	3.23	S62	130372980	3.26
S40	50969815	1.87	S63	130373002	2.87
S41	50979492	2.13	S64	138505403	3.79

S42	58994379	3.10	S65	138505423	3.30
S43	59737436	3.06	S66	138505430	3.88
S44	59796778	3.47	S67	138505440	2.41
S45	59796782	2.77	S68	138505450	2.98
S46	59796783	3.63	S69	138505451	3.96
S47	68680827	3.19	S70	138505452	2.98
S71	138505470	2.82	S94	7328884	2.17
S72	138505471	3.37	S95	7328885	2.12
S73	138505483	2.94	S96	7328943	3.63
S74	138505506	3.02	S97	7328944	3.26
S75	138505516	2.87	S98	24874674	3.55
S76	138505336	3.40	S99	25239480	3.26
S77	138505345	3.56	S100	46385175	2.77
S78	138505366	3.66	S101	147985393	2.67
S79	138505380	3.09	S102	142962033	3.11
S80	138506307	4.30	S103	136559576	2.89
S81	138517861	3.16	S104	136559569	2.37
S82	138517909	2.69	S105	112349227	3.56
S83	140109647	3.36	S106	112356628	3.08
S84	141191661	3.66	S107	120225554	5.00
S85	141412933	4.04	S108	121550034	1.55
S86	142550207	2.40	S109	124608657	3.02

S87	142550209	1.79	S110	124608658	1.55
S88	142962032	3.11	S111	133438170	3.84
S89	143377413	2.79	S112	133916552	4.41
S90	147856906	4.91	S113	133993528	4.47
S91	152340139	4.22	S114	136541164	3.15
S92	155082445	3.38	S115	112055138	2.25
S93	7227577	2.87	S116	112283186	3.35
S117	112304176	2.39	S127	110922997	3.64
S118	112304213	4.15	S128	110931877	2.97
S119	112304216	3.36	S129	111485570	2.71
S120	112304242	3.63	S130	111778213	3.19
S121	112333317	4.49	S131	111779570	3.97
S122	112334291	2.01	S132	111791752	4.12
S123	112335665	2.60	S133	111837674	2.98
S124	112335669	2.60	S134	112042505	3.56
S125	110921214	3.46	S135	109892539	4.02
S126	110921231	3.49			

Sachant que l'affinité du ligand de départ est égale à 4.94 M^{-1} ces résultats montrent que seul le similaire **S107** présente une affinité de **5** donc supérieure à celle de notre ligand de référence. Cependant, nous avons également pris en considération 3 autres similaires ayant des affinités très proches de celle du ligand de référence : $4,78\text{M}^{-1}$ pour le S7; $4,60\text{M}^{-1}$ pour le S38 et $4,91\text{M}^{-1}$ pour le S90.

4 Etude des interactions:

4.1 Le ligand de référence:

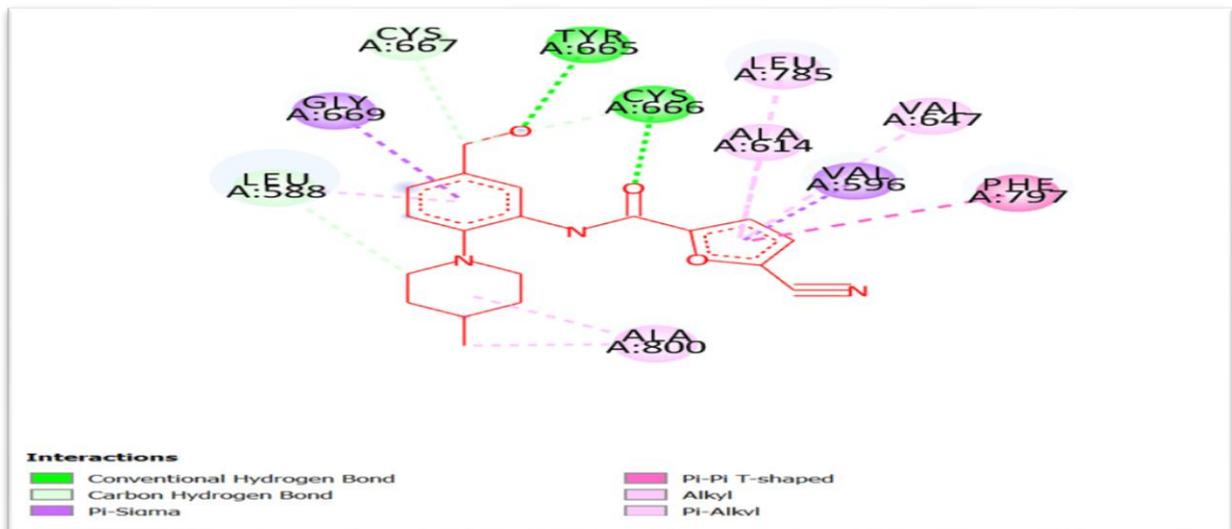


Figure 10 : La présentation des interactions du ligand de référence avec le site actif de la CSF1R en schéma 2D.

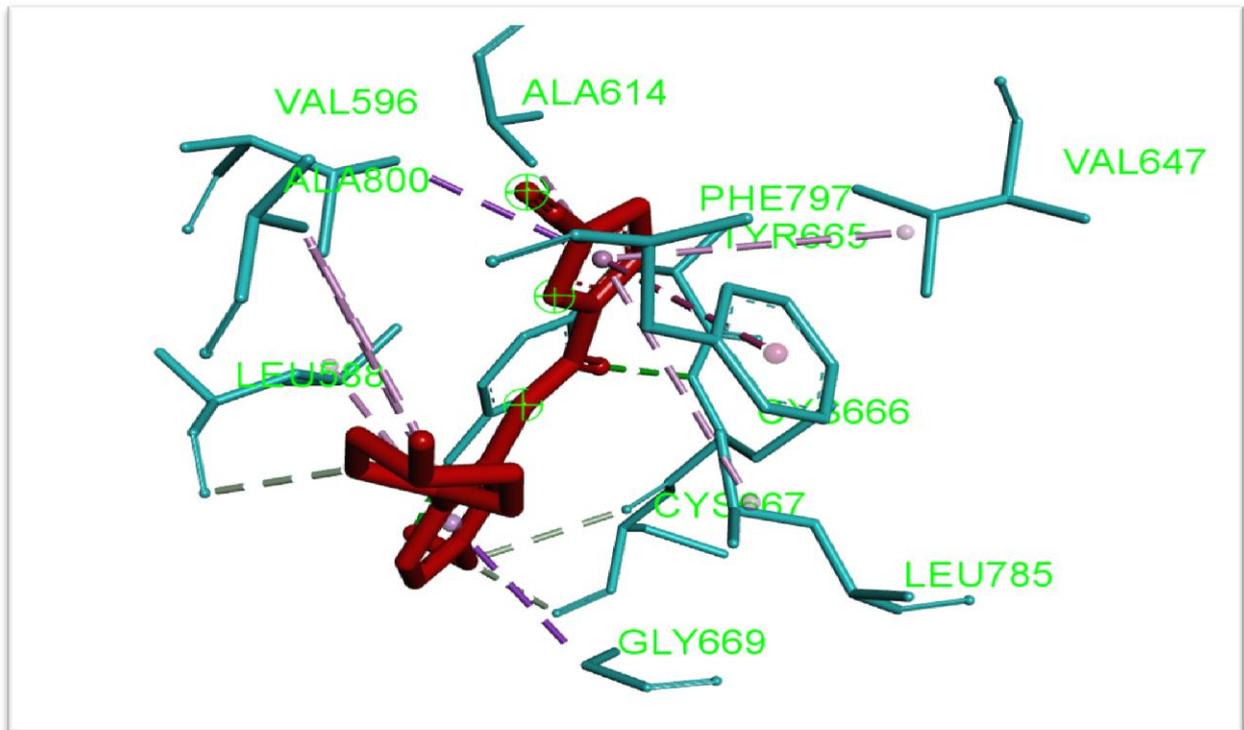


Figure 11 : Analyse visuelle 3Dpar Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand de référence avec le site actif de CSF1R

Les figures 10 et 11 montrent que le ligand de référence établit **douze** liaisons comme un nombre total , deux liaisons de type Conventional Hydrogen Bond et deux autres liaisons de type Carbon Hydrogen Bond et des liaisons hydrophobiques :

- Une interaction de type Pi-sigma qui s'établit entre le benzène et l'amine de l'acide aminé GLY669
- Une autre interaction de type Pi-sigma qui s'établit entre le benzène et l'amine de l'acide aminé VAL596 .
- Une interaction de type Pi-PI T-shaped qui s'établit entre le benzène et l'amine de l'acide aminé PHE797 .
- Quatre interactions de type Pi-Alkyl qui établit entre le benzene et l'amine de l'acide aminé ALA800,LEU785 ,ALA614 et VAL647 .
- Une interactions de type Alkyl qui etablit entre le benzene et l'amine de l'acide aminé ALA800 .

4.2 Le similaire S7

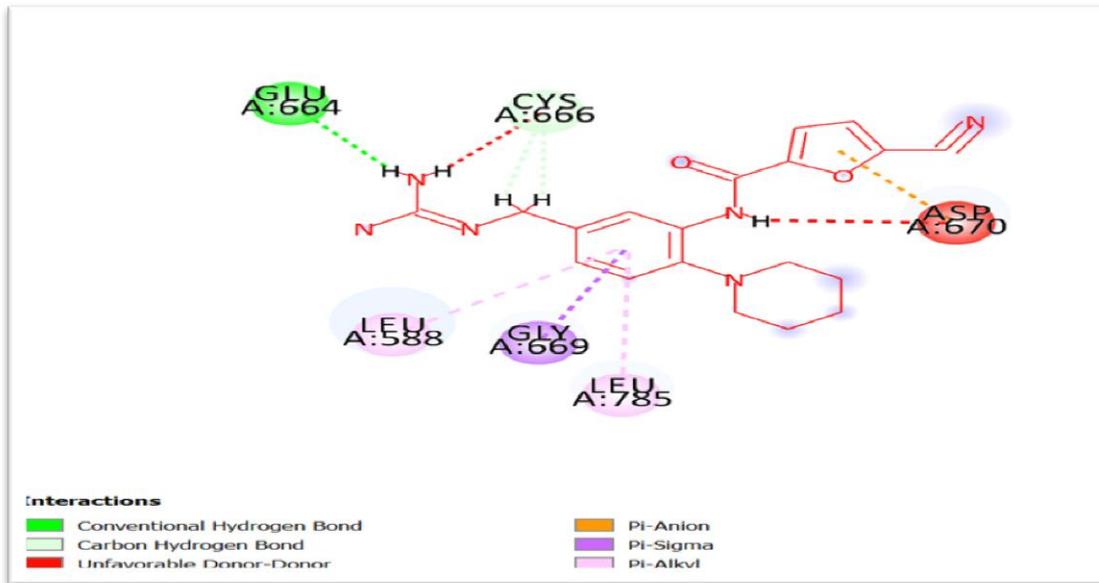


Figure 12 : La présentation des interactions du composé S7 avec le site actif de la CSF1R en schéma 2D.

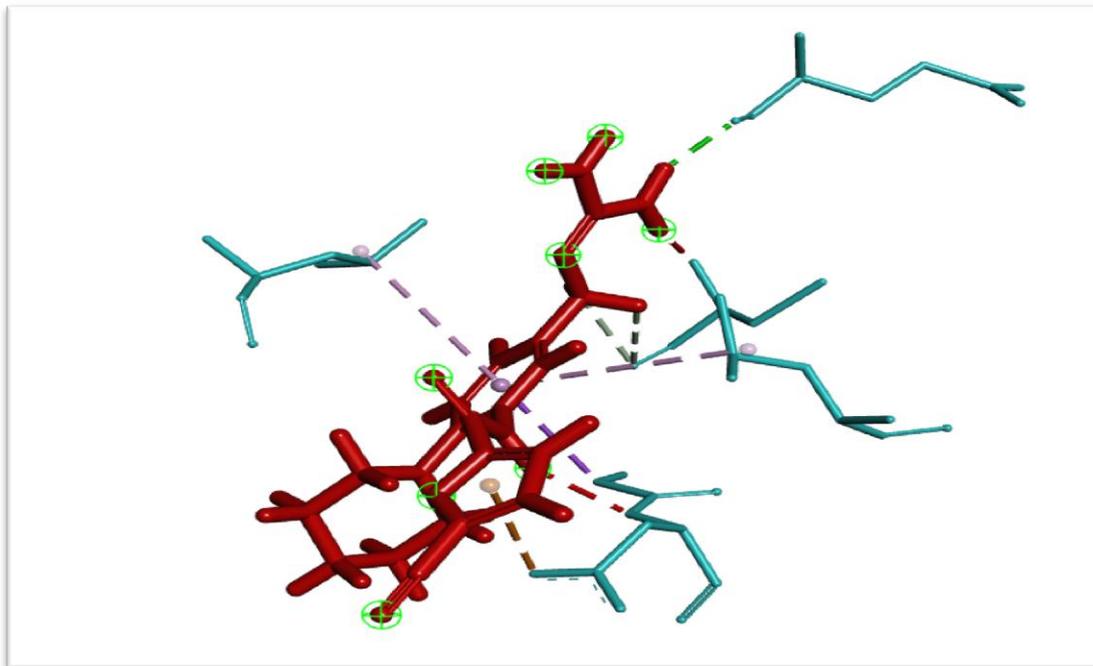


Figure 13 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé S7 avec le site actif de la CSF1R.

La figure 12 ET 13 montre que le S7 établit **cinq** liaisons comme un nombre total une liaison de type Conventional Hydrogen Bond avec une autre liaison de type Carbon Hydrogen Bond et des liaisons hydrophobiques :

- Une interaction de type Pi-sigma qui s'établit entre le benzène et l'amine de l'acide aminé GLY669
- Deux interactions de type Pi-Alkyl qui s'établit entre le benzène et l'amine de l'acide aminé LEU785 et LEU588.

4.3 Le similaire S90

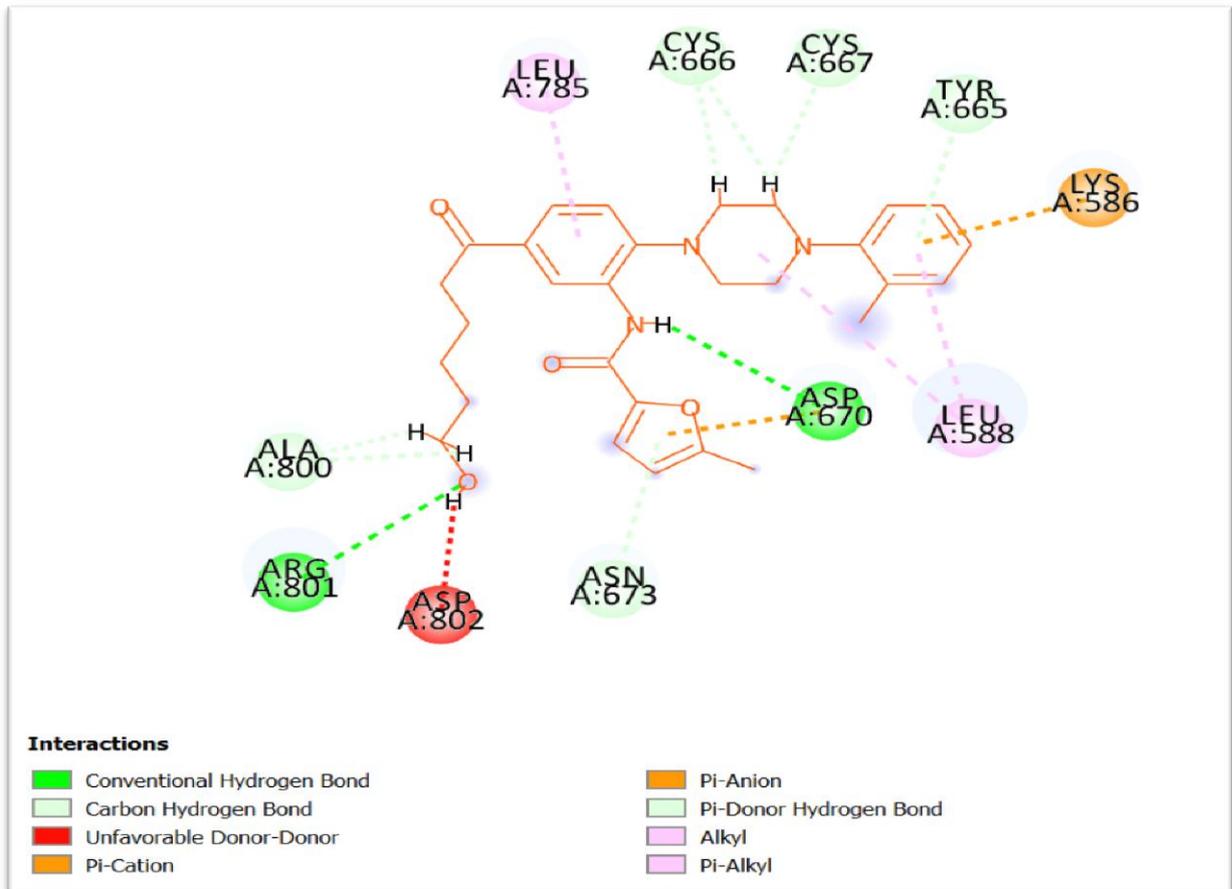


Figure 14 : La présentation des interactions du composé S90 avec le site actif de la CSF1R en schéma 2D.

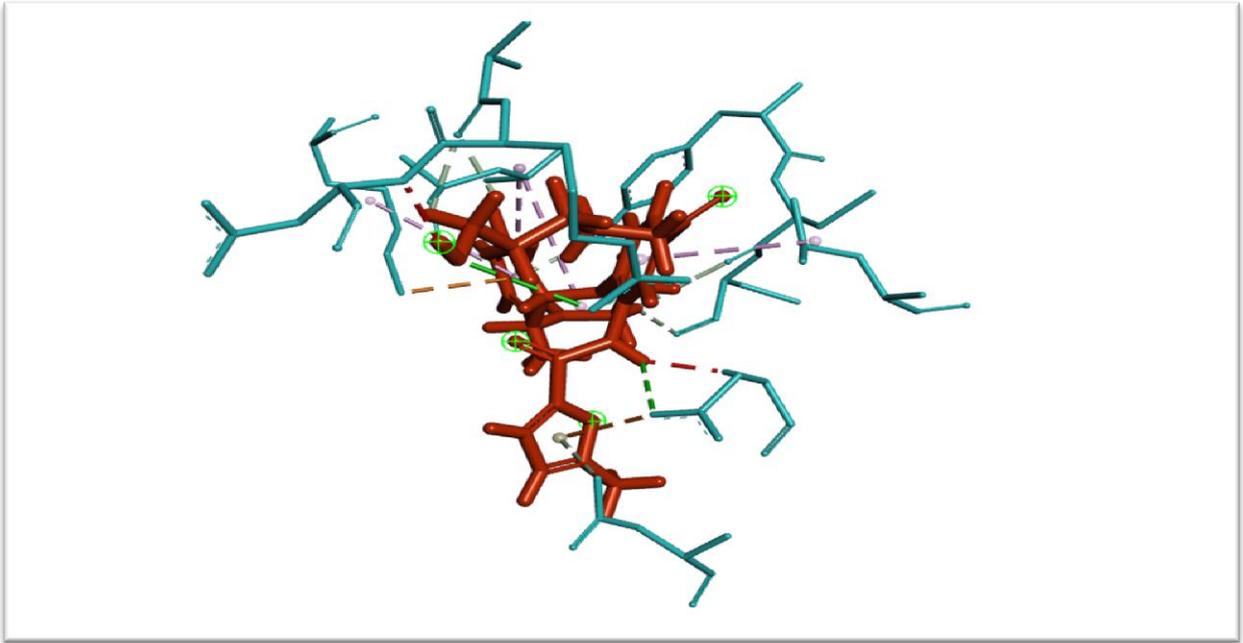


Figure 15 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé S90 avec le site actif de la CSF1R.

La FIGURE 15 ET 14 montre que le S90 établit **dix** liaisons comme un nombre total, deux liaison de type Conventional Hydrogen Bond avec cinq autre liaison de type Carbon Hydrogen Bond et des liaisons hydrophobiques :

- Une interaction de type Pi-cation qui s'établit entre le benzène et l'amine de l'acide aminé ASP 586
- deux interactions de type Pi-Alkyl qui s'établit entre le benzène et l'amine de l'acide aminé LEU588 .

4.4 Le similaire S38

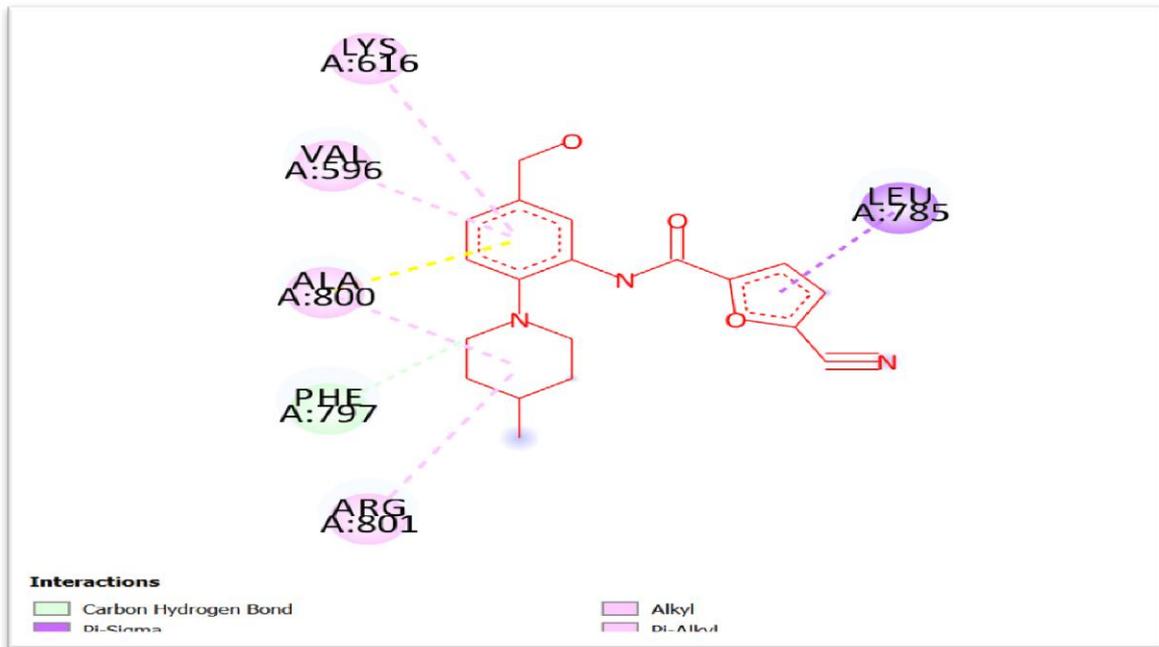


Figure 16 : La présentation des interactions du composé S38 avec le site actif de la CSF1R en schéma 2D.

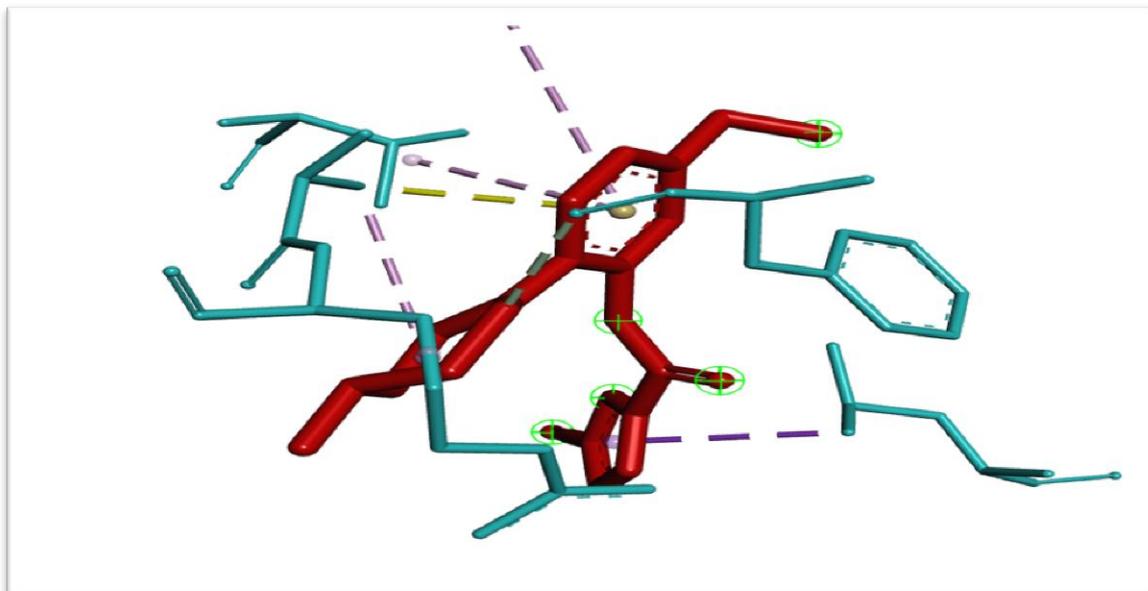


Figure 17 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé S38 avec le site actif de la CSF1R .

La figure 16 ET 17 montre que le S38 établit **six** liaisons comme un nombre total , une liaison de type Carbon Hydrogen Bond et des liaisons hydrophobiques :

- Une interaction de type Pi-sigma qui s'établit entre le benzène et l'amine de l'acide aminé LEU 785

- quatre interactions de type Pi-Alkyl qui s'établissent entre le benzène et l'amine de l'acide aminé ARG801,ALA800 ,VAL596 et LYS616 .

4.5 Le meilleur similaire S107:

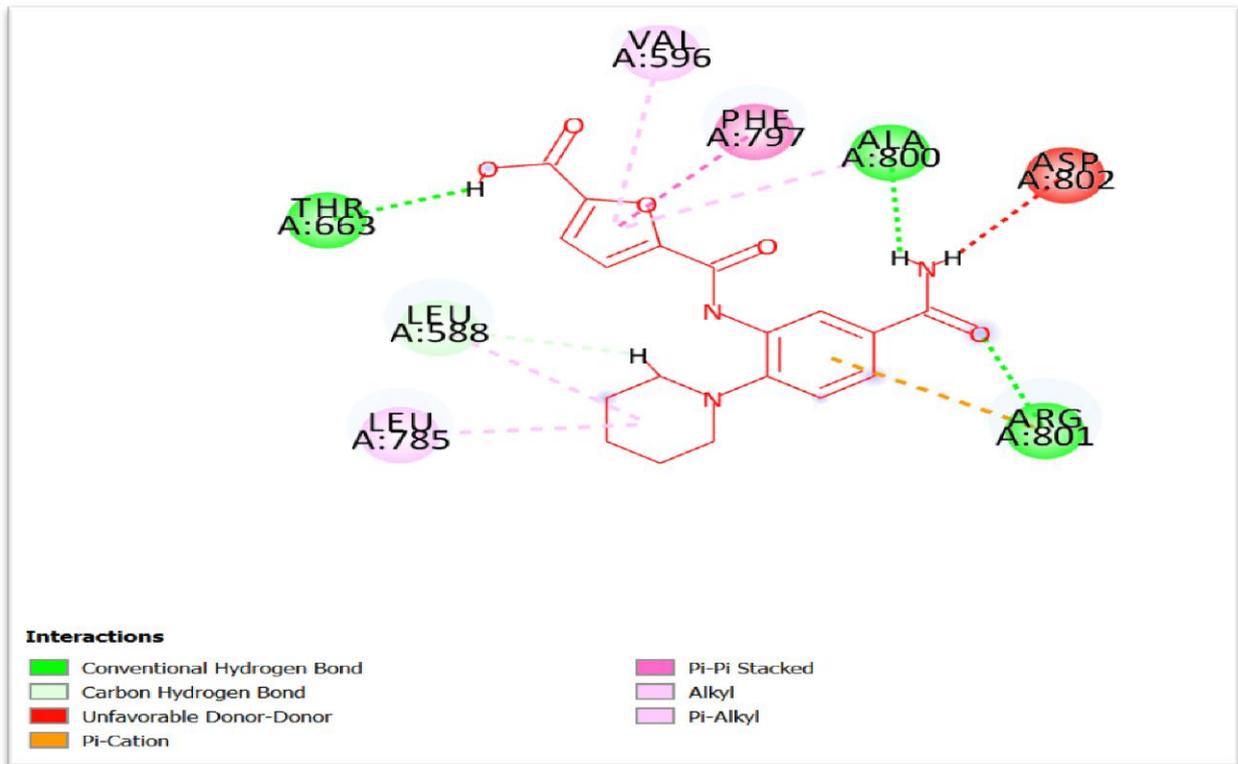


Figure 18 : La présentation des interactions du S107 de référence avec le site actif de la CSF1R en schéma 2D.

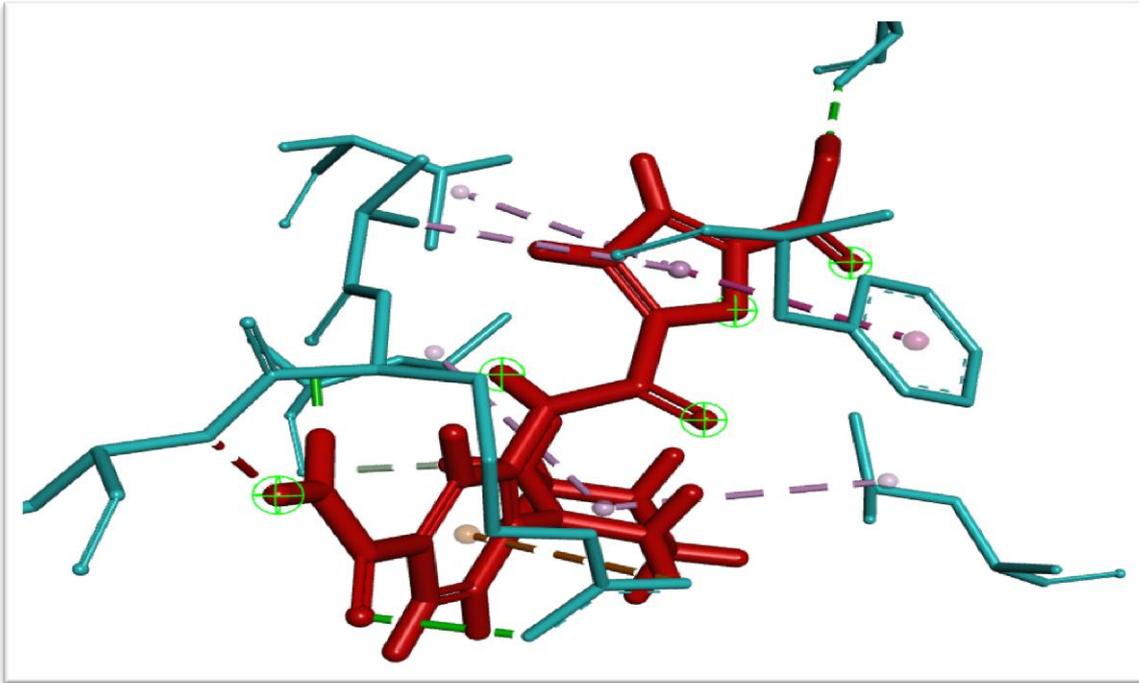


Figure 19 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du S107 de référence avec le site actif de CSF1R

Les résultats montrent que le ligand de référence établit **sept** liaisons comme un nombre total , trois liaisons de type Conventional Hydrogen Bond avec une autres liaison de type Carbon Hydrogen Bond et des liaisons hydrophobiques :

- Une interaction de type Pi-Pistacked qui s'établit entre le benzène et l'amine de l'acide aminé PHE797 .
- deux interactions de type Pi-Alkyl qui s'établit entre le benzène et l'amine de l'acide aminé VAL596 et LEU588 .

5 L'évaluation des propriétés ADME

5.1 Les propriétés physico-chimiques

Chaque médicament doit se conformer à plusieurs critères de base tels que les propriétés physicochimiques comme: le coefficient de partage logP, TPSA, le nombre d'atomes, le poids moléculaire...etc. Pour évaluer les propriétés médicamenteuses d'un composé nous avons utilisé le serveur swiss ADME afin de déterminer si les composés

substitués peuvent être proposés comme un « médicament » et s'ils répondent aux règles suivantes :

Règle de Lipinski.

Règle de Veber.

Tableau 4 : propriétés physicochimique

Propriétés	Standard	5CN	S38	S7	S90	S107
Formule	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃	C ₁₉ H ₂₁ N ₃ O ₃	C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₄	C ₁₉ H ₂₂ N ₆ O ₂	C ₂₉ H ₃₅ N ₃ O ₄	C ₁₈ H ₁₉ N ₃ O ₅
PM (g/mol) Poids moléculaire	232.24 g/mol	339.39 g/mol	329.35 g/mol	366.42 g/mol	489.61 g/mol	357.36 g/mol
nLF nombre de liaisons flexibles	2	5	6	6	11	6
nON nombre d'accepteur d'hydrogène	3	4	5	4	4	5
nOHNH nombre de donneurs d'hydrogène	2	2	3	3	2	3

Log P	1.06	2.84	2.05	1.91	3,88	1.84
TPSA Å²	75.27 Å ²	89.50 Å ²	94.81 Å ²	133.67 Å ²	86.02 Å ²	125.87 Å ²
Règle de Lipinski	Yes; 0 violation	Yes; 0 violation	Yes; 0 violation	Yes; 0 violation	Yes; 0 violation	Yes; 0 violation
Règle de Veber	Yes	Yes	Yes	Yes	No; 1 violation: Rotors>10	Yes
Solubilité dans l'eau	Moyenne	Moyenne	MOYENNE	Moyenne	FAIBLE	Moyenne
Accessibilité à la synthèse	1.74	3.51	3.04	3.35	3.89	3.00

D'après les résultats de **tableau N°4**:

Le ligand de référence et les autres composés répondent parfaitement aux critères de la règle de Lipinski et veber, ce qui indique qu'ils peuvent être administrés par voie orale sans poser de problèmes.

5.2 Les propriétés pharmacocinétiques

Nous avons complété notre travail par une analyse des propriétés pharmacocinétiques afin de pouvoir affirmer si nos composés peuvent être proposés comme un candidat médicament. Ces propriétés sont appelées ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme et Elimination).

L'absorption est le processus par lequel le médicament passe de son site d'administration à la circulation générale.

La distribution correspond à la diffusion de médicament dans les tissus de l'organisme.

Le métabolisme c'est la transformation, par une réaction enzymatique d'un médicament en un ou plusieurs autres composés actifs ou inactifs.

L'élimination correspond à la capacité métabolique de différents organes, en premier lieu le foie, à l'excrétion du médicament sous toutes ses formes, en particulier rénale (urine) mais aussi hépatique (bile).

Les résultats de la simulation des critères pharmacocinétiques à l'aide du serveur swiss ADME sont montrés dans ce tableau :

Tableau 5 : propriétés pharmacocinétiques :

propriétés	Standard	5CN	S38	S7	S90	S107
GI absorption	élevée	élevée	élevée	élevée	élevée	Elevée
BBB perméabilité	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative
CYP1A2 inhibition	Négative	élevée	Négative	Négative	Négative	Négative
CYP2C19 inhibition	Négative	élevée	Négative	Négative	Positive	Négative
CYP2C9 inhibition	Négative	élevée	Négative	Négative	Négative	Négative
CYP2D6 inhibition	Négative	élevée	Négative	Négative	Positive	Négative
CYP3A4 inhibition	Négative	élevée	Négative	Négative	Positive	Négative

□ Absorption

Le ligand de référence et les quatre similaires ont une GIA élevée (catégorie 1), ce qui indique que ces composés traversent facilement le tractus gastro-intestinal pour atteindre la circulation sanguine.

□ Distribution

Comme le ligand de référence, les quatre similaires ne peuvent pas franchir la barrière hémato-encéphalique, ce qui protège le cerveau des effets néfastes de ces composés.

□ Métabolisme

Nous constatons que notre ligand de référence (5CN) présente un effet inhibiteur pour les 5 cytochromes : CYP 3A4, CYP 2C9, CYP 2C19, CYP1A2 et CYP2D6.

Alors que le S7 et S38 est S107 n'ont aucun effet inhibiteur pour les 5 cytochromes et S90 un effet inhibiteur pour les CYP 3A4, CYP 2C19, CYP2D6 et n'a aucun effet inhibiteur pour les CYP1A2 et CYP 2C9.

5.3 Conclusion et perspectives

Le but de ce travail est de simuler les interactions entre une cible protéique et des ligands afin de développer de nouveaux inhibiteurs théoriques. Pour étudier ces interactions, nous avons choisi le programme de docking moléculaire « Surflex » qui utilise une méthode incrémentielle. Ce programme a été développé pour aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique. Il s'agit de calculs d'affinités entre des composés de faible poids moléculaire (inhibiteurs) et des récepteurs protéiques de types enzymatiques.

Dans ce contexte, nous avons utilisé ce programme pour étudier les interactions intervenant dans l'inhibition de la CSF1R par divers inhibiteurs. Cette dernière est une cible thérapeutique potentielle lors d'une atteinte par l'épilepsie.

Dans la première partie de notre travail nous avons testé la fiabilité du programme Surflex par le calcul du RMSD qui évalue la différence de positionnement des ligands simulés vis à vis de ceux de référence et qui ne doit pas dépasser 2Å. Ensuite nous avons visualisé deux complexes afin de vérifier la relation entre les valeurs du RMSD et la superposition entre la structure prédite et la structure cristalline. Le programme de docking moléculaire Surflex peut

être considéré suffisamment performant pour simuler les interactions puisqu'il reproduit assez bien les résultats expérimentaux avec 61% des valeurs de RMSD inférieures à 2 Å. Ce test nous apportent la preuve que le programme Surflex est hautement performant et peut être utilisé en toute fiabilité pour simuler les interactions d'autres inhibiteurs de la CSF1R.

Dans la recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques plus efficaces que notre ligand de référence 5CN, 135 structures avec un taux de similarité de 87% à notre ligand de référence ont été téléchargés à partir de la chimiothèque « PubChem » afin d'évaluer leur affinité envers la 5CN. Parmi les 135 structures, 4 composés ont présenté des meilleures affinité à celle de notre ligand qui est de 4.91M⁻¹.

Les résultats du criblage virtuel nous a permis de sélectionner le meilleurs composés qui peuvent être proposés comme meilleurs inhibiteurs de notre cible thérapeutique CSF1R et pour lesquels nous avons fait une analyse détaillée des diverses interactions qui interviennent : les liaisons Hydrogènes, Van Der Waals, Pi-Anion, Pi-Pi stacking, Alkyl, Pi-Alkyl et Pi-Cation.

Ces 4 similaires inhibent la CSF1R avec des affinités allant de 4.6 M⁻¹ à 5 M⁻¹, Une valeur Légèrement supérieures à celle du ligand de référence qui est de 4.94 M⁻¹ et les trois autres similaires avoir des propriétés remplissent tous les critères de la règle de cinq de Lipinski y compris le nombre de liaisons rotatives ce qui valide la biodisponibilité orale.

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 4 composés peuvent agir comme médicament, en utilisant SwissADME 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*.

Conclusion générale

L'objectif de notre travail est de développer *in silico* par le biais du docking moléculaire de nouvelles structures agissant comme inhibiteurs plus puissants de la CSF1R, cible enzymatique récente jouant un rôle curatif contre l'épilepsie. Afin d'affirmer que Surfex est un programme adapté à notre étude, nous avons testé 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 100 complexes pris aléatoirement de la PDB, 61% ont présenté un RMSD inférieur à 2Å. L'analyse visuelle confirme ces résultats puisqu'on observe une bonne superposition des 2 conformations, pour des valeurs de RMSD inférieures à 2Å. La superposition devient mauvaise pour des valeurs de RMSD supérieures à 2Å. Ce qui nous confirme que le programme Surfex est assez performant et peut être utilisé en toute fiabilité pour simuler les interactions d'autres inhibiteurs de la CSF1R. Dans la recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques plus efficaces que notre ligand de référence 5CN, 135 structures avec un taux de similarité de 87% ont été téléchargées à partir de la chimiothèque « PubChem » afin d'évaluer leur affinité envers la CSF1R. Parmi ces structures.

Nous avons fait, une analyse détaillée des diverses interactions réalisées par les 4 similaires avec notre cible faisant intervenir les liaisons suivantes : les liaisons Hydrogène, les liaisons Pi-sigma, Pi-Anion, Pi-Cation, Pi-Pi-stacked, Alkyl, Pi-Alkyl ... Sachant que l'affinité du ligand de départ est égale à $4,94 \text{ M}^{-1}$ ces résultats montrent que seul le similaire **S107** présente une affinité de **5** donc supérieure à celle de notre ligand de référence et remplissent tous les critères 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. Cependant, nous avons également pris en considération 3 autres similaires ayant des affinités très proches de celle du ligand de référence : $4,78 \text{ M}^{-1}$ pour le S7; $4,60 \text{ M}^{-1}$ pour le S38 et $4,91 \text{ M}^{-1}$ pour le S90.

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 composés peuvent agir comme médicament, en utilisant le site web Swiss Adme nous a donné leurs propriétés: La règle de Lipinski, Filtre de Veberetc.

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*.

Références
Références

Bibliographiques
Bibliographiques

- [1] « Principaux Repères Sur L'épilepsie ». Consulté Le 9 Mai 2022. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>.
- [2] « Les Médicaments Contre L'épilepsie - VIDAL ». Consulté Le 9 Mai 2022. <https://www.vidal.fr/maladies/systeme-nerveux/epilepsie/medicaments.html>.
- [3] Jallon P. 2002, Introduction. Presses Universitaires De France»; P. 3–6.
- [4] « Définitions De L'épilepsie - Centre Hospitalier Universitaire (CHU) De Toulouse N.D». Consulté Le 9 Mai 2022 <https://www.chu-toulouse.fr/-definitions-de-l-epilepsie>
- [5] Epilepsie - «Symptômes, Causes, Traitements Et Prévention. VIDAL N.D». Consulté Le 9 Mai <https://www.vidal.fr/maladies/systeme-nerveux/epilepsie.html>
- [6] « Les Différentes Formes D'épilepsie Chez L'adulte ». VIDAL N.D. Consulté Le 9 Mai <https://www.vidal.fr/maladies/systeme-nerveux/epilepsie/symptomes.html>.
- [7] « Épilepsie : Symptômes Et Diagnostic N.D». Consulté Le 9 Mai <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/epilepsie/symptomes-diagnostic> .
- [8] M.A. Lemmon, J. Schlessinger.2010 « Cell Signaling By Receptor Tyrosine Kinases», Pp. 1117-1134
- [9] Zwaenepoel O, Tzenaki N, Vergetaki A, *Et Al.* 2012. «Functional CSF-1 Receptors Are Located At The Nuclear Envelope And Activated Via The P110 δ Isoform Of PI 3-Kinase ».
- [10]« Contact Us Via Livechat! » Consulté Le 20 Mai 2022. <https://secure.livechatinc.com/>.
- [11] Hubbard SR, Till JH.2000.” Protein Tyrosine Kinase Structure And Function”. *Annu Rev Biochem* .
- [12] Walter M, Lucet IS, Patel O, Broughton SE, Bamert R, Williams NK, *Et Al.* The 2.7 Å Crystal Structure Of The Autoinhibited Human C-Fms Kinase Domain. *J Mol Biol* (2007).
- [13] Sletta KY, Castells O, Gjertsen BT. Colony Stimulating Factor 1 Receptor In Acute Myeloid Leukemia. *Frontiers In Oncology*.
- [14] Katherine A. Fitzgerald, ... Robin E.2001. “Callard, In The Cytokine Factsbook And Webfacts (Second Edition)”.
- [15] Yu W, Chen J, Xiong Y, Pixley FJ, Yeung YG, Stanley ER.2012. “Macrophage Proliferation Is Regulated Through CSF-1 Receptor Tyrosines”.

- [16] Stanley ER, Chitu V. 2014. "CSF-1 Receptor Signaling In Myeloid Cells. *Cold Spring Harb Perspect Biol*".
- [17] Wei S, Nandi S, Chitu V, Yeung YG, Yu W, Huang M, Et Al. 2010. "Functional Overlap But Differential Expression Of CSF-1 And IL-34 In Their CSF-1 Receptor-Mediated Regulation Of Myeloid Cells. *J Leukoc Biol*".
- [18] « CSF1R Gene: Medlineplus Genetics ». Consulté Le 20 Mai 2022. <https://medlineplus.gov/genetics/gene/csf1r/>.
- [19] « Inhibiteurs CSF1R: Utilisations, Effets Secondaires, Dosages, Précautions - Santé – » 2022. Miamiplus1 N.D. Consulté Le 20 Mai 2022. <https://fr1.miamiplus1.com/csf2bar-inhibitors-6dc0a8ee2b4cb0ad4c-2ba4cb6dc4cb>.
- [20] N. Ivanova, V. Gugleva, M. Dobрева, I. Pehlivanov, S. Stefanov, And V. Andonova, , 2016 "We Are Intechopen , The World ' S Leading Publisher Of Open Access Books Built By Scientists , For Scientists TOP 1 %," , P. 13.
- [21] E. F. Schmid And D. A. Smith, 2005, "Keynote Review: Is Declining Innovation In The Pharmaceutical Industry A Myth?," *Drug Discov. Today*,. 15, Pp. 1031–1039.
- [22] P. Muntha, 2016, "Drug Discovery & Development - A Review," 2016, [Online]. Available: <http://www.roij.com/open-access/drugdiscovery--development--a-review-.php?aid=78654>.
- [23] Boucherit H., Chikhi A., Bensegueni A., Merzoug A., Hioual K. S., Mokrani EL. H. 2013 .L'amarrage Moléculaire : Une Nouvelle Approche Pour Lutter Contre Le Développement De La Tuberculose. *Microbiologie Industrielle Santé Et Environnement*.
- [24] Mokrani E. H, 2012, "Contribution A L ' Amélioration De L ' Activité Biologique Des Inhibiteurs De La Dipeptidyl-Peptidase 4 Dans Le Diabète De Type 2 Par Simulation Informatique., " Thèse De Magister D'Université: Technologie Des Explorations Biochimiques. Université Mentouri Constantine, Algérie.
- [25] Chikhi A. . 2007, *Calculs Et Modélisations Des Interactions Peptide Déformylase – Substances Antibactériennes A L'aide De Techniques De "Docking" (Arrimage) Moléculaire*. Thèse De Doctorat D'université : Biochimie Appliquée. Constantine : Université Des Frères Mentouri Constantine. Algérie. 90p.
- [26] D. B. Kitchen, H. Decornez, J. R. Furr, And J. Bajorath, 2010, "Docking And Scoring In Virtual Screening For Drug Discovery: Methods And Applications,". 11, Pp.
- [27] E. B. De Oliveira, 2018. "Simulations Moléculaires Appliquées A L ' Acétylation De

Flavonoïdes Catalysée Par Des Lipases : Influence Des Structures De La Lipase Et Du Flavonoïde Et Sur La Régiosélectivité De La Bioconversion .

[28] K. Gutberlet And R. Rudolph, 2008. “Angiosis Carcinomatosa Bei Mammatumoren Der Hündin - Häufigkeit Und Verbindung Mit Prognostisch Wichtigen Faktoren,” 7, Pp.

[29] R. Quiroga And M. A. Villarreal, 2016. “Vinardo: A Scoring Function Based On Autodock Vina Improves Scoring, Docking, And Virtual Screening,” Pp. 1–18.

[30] E. Weidenhammer And G. J. Tsongalis, “An Overview Of Molecular Genetics,”.

[31] N. Lagarde, 2015 “Méthodes De Criblage Virtuel In Silico : Importance De L'évaluation Et Application A La Recherche De Nouveaux Inhibiteurs De L'interleukine 6,” P. 316.

[32] J. Fan, A. Fu, And L. Zhang, 2019; “Progress In Molecular Docking,” No. 2, Pp. 83–89.

[33] “Enzymologie. Dr Kassoul. A 1 Ere Annee Medecine Dentaire Plan I/ Generalites Et Definitions Ii/ Caracteristiques Des Enzymes - Pdf Free Download.” <https://docplayer.fr/50841004-Enzymologie-Dr-Kassoul-A-1-Ere-Annee-Medecinedentaire-Plan-I-Generalites-Et-Definitions-Ii-Characteristiques-Des-Enzymes.html> (Consulté 25 Mai 2022).

[34] E. H. Mokrani, 2012 “Contribution A L' Amélioration De L' Activité Biologique Des Inhibiteurs De La Dipeptidyl-Peptidase 4 Dans Le Diabète De Type 2 Par Simulation Informatique Thèse Magister Université Frères Mentouri Constantine.,” Pp. 2011–2012.

[35] R. Algérienne, D. Et, R. Scientifique, U. Des, S. Et, And D. E. L. A. Technologie 2008.

[36] P. W. Rose Et Al. 2017, “The RCSB Protein Data Bank: Integrative View Of Protein, Gene And 3D Structural Information” Pp. D271–D281.

[37] D. S. Goodsell Et Al. 2020, “RCSB Protein Data Bank: Enabling Biomedical Research And Drug Discover,” Pp. 52–65.

[38] C. Burley, S. K., Berman, H. M., Christie, C., Duarte, J. M., Feng, Z., Westbrook, J. Zardecki, 2017 “Tools For Protein Science Protein Science.

[39] Thèse De Doctora Université Frères Mentouri Constantine A. CHIKHI, , 2007 “Calculs Et Modelisations Des Interactions Peptide Deformylase – Substances Antibacteriennes A L'aide De Techniques De Docking” (Arrimage) Moléculaire,” Pp. 1–126.

- [40] K. Onodera, K. Satou, And H. Hirota, 2007 “Evaluations Of Molecular Docking Programs For Virtual Screening,”. Pp. 1609–1618.
- [41] X.-Y. Meng, H.-X. Zhang, M. Mezei, And M. Cui, 2012. “Molecular Docking: A Powerful Approach For Structure-Based Drug Discovery,” Pp. 146– 157.
- [42] Merzoug A. 2012. Etude In Silico De L’ inhibition De La Peptide Deformalyse. Mémoire De Magister En Biochimie : Université Mentouri .Constantine.Algérie.64p
- [43] Y. Zhou, T. Parisini, And M. M. Polycarpou, 2002 “Detection Of Drift Sensor Faults In A Class Of Nonlinear Uncertain Systems,”. 54rd IEEE, Pp. 3169–3174.
- [44] D. To And H. A. L. Id, 2013. “E Structurale De Compl Protéine / Lig Ligand Et Ses Applicatio Tions En Ch Chémogénomique,”.
- [45] L. Hoffer, “Université De Strasbourg,” 2013.
- [46] Renvez G. 2010. « Application Des Modes Statistiques A L’ étude De La Flexibilité Des Protéines Vers Un Processus De Docking . Thèse De Doctorat En Nanophysique » .Université De Toulouse.
- [47] [Http://Webphysique.Fr/Molecule-Polaire](http://Webphysique.Fr/Molecule-Polaire)
consulté le 20 mai 2022
- [48] S. Kawai Et Al., 2016. “Van Der Waals Interactions And The Limits Of Isolated Atom Models At Interfaces” .Pp. 1–7.
- [49] K. Schleinkofer, T. Wang, And R. C. Wade, 2006. “Molecular Docking,”, Pp. 1149–1153.
- [50] C. Hazan, 2008. “Recherche D’ inhibiteurs De Haute Affinité De L’ adn Polymérase Bêta Par Criblage Virtuel Et RMN,”.
- [51] A. Bessadok, 2011 “La Multiplicité De Transport De La P-Glycoprotéine : Etudes De Modélisation Comparative Et De Docking Au Sein De La Famille Des Protéines ABC,”.
- [52] S. Y. Huang And X. Zou, 2010 “Advances And Challenges In Protein-Ligand Docking,”. Pp. 3016–3034.
- [53] A. Fortun, “Techniques De Mod ´ A L ´ Etude Et ` A L ´ Optimisation De Mol ´ Ecules Immunog ` Et De Modulateurs De La Chimior ´ To Cite This Version : Techniques De Modélisation Moléculaire Appliquées A L ´ Etude Et A L ´ Optimisation De Molécules Immunogènes Et De M,” P. 169, 2008.

- [54] L. U. N. D. E. B. Ordeaux, "P Réésentée A," 2011.
- [55] Open Babel 2.0.2. [En Ligne] [Http://Openbabel.Org/](http://Openbabel.Org/). Consulté Le : [03-05-2018].
- [56] Protein Data Bank (PDB). Biological Macromolecular Resource. [En Ligne] [Http://Www.Pdb.Org/Pdb/Home](http://Www.Pdb.Org/Pdb/Home). Consulté Le [25-04-2018].
- [57] Centre National De La Recherche Scientifique. Pubchem. [En Ligne]. [Https://Pubchem.Ncbi.Nlm.Nih.Gov/](https://Pubchem.Ncbi.Nlm.Nih.Gov/). Consulté Le [02-05-2018].
- [58] Swissadme [En Ligne] [Http://Www.Swissadme.Ch/](http://Www.Swissadme.Ch/).
- [59] Karim Mezhoud. 2011.Docking Principes Et Méthodes. National Center Of Nuclear Sciences And Technologies (CNSTN)[En Ligne] « [Https://Wiki.Ubuntu.Com/Kmezhoud/Bioinformatics?Action=Attachfile&Do=Get&Target=Doc King.Pdf](https://Wiki.Ubuntu.Com/Kmezhoud/Bioinformatics?Action=Attachfile&Do=Get&Target=DocKing.Pdf) » Consulté Le : [08/05/2019].
- [61] Gabb J., Jackson R.M., Sternberg M.J.E. 1997. Modelling Protein Docking Using Shape Complementarity, Electrostatics And Biochemical Information.
- [62] Sperandio O Et Al. Structure-Based Virtual Screening. In : Maria A. Miteva. In Silico Lead Discovery. Bentham Science Publishers. Maria A. Miteva, University Paris Diderot, France2011.
- [63] Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ.2001. Experimental And Computational Approaches To Estimate Solubility And Permeability In Drug Discovery And Development Setting. [Https://Doi.Org/10.1016/S0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409x(00)00129-0).
- [64] Veber DF, Johnson SR, Cheng H-Y, Smith BR, Ward KW, Kopple KD.2002. Molecular Properties That Influence The Oral Bioavailability Of Drug Candidates.
- [65] Water Solubility N.D. [Https://Www.Chemsafetypro.Com/Topics/CRA/Water_Solubility.Html](https://Www.Chemsafetypro.Com/Topics/CRA/Water_Solubility.Html) (Consulté 01 Juin 2022)
- [66] Ensign LM, Cone R, Hanes J. Oral Drug Delivery With Polymeric Nanoparticles:2011 The Gastrointestinal Mucus Barriers.

Annexes

nnexe 1 : Tableau RMSD de 100 complexes Protéine – ligand

Composé nombre	CODE PDB DU COMPLEX	CODE PDB DU LIGAND	VALEUR RMSD (A°)
01	1AIM	ZYA	2.955
02	1BNQ	AL4	2.006
03	1BQN	HBV	1.810
04	1C1B	GCA	2.865
05	1C1C	612	1.188
06	1EP4	S11	1.304
07	1FK9	EFZ	3.329
08	1FKO	EFZ	4.176
09	1H39	R03	2.938
10	1HNV	TBO	2.687
11	1IL4	9DG	1.373
12	1IL9	MOG	1.466
13	1N7I	SAH	2.432
14	1O79	R23	4.514
15	1PMN	984	3.280
16	1RTI	984	2.732
17	1S17	GNR	12.302
18	1UOU	CMU	3.069
19	1XOE	ABX	2.779
20	1Z3N	3NA	3.078
21	1Z89	62P	2.026
22	1ZHM	GSH	4.187
23	1ZOM	339	3.746
24	1ZPC	716	3.179
25	1ZS0	EIN	3.461
26	2ABI	1CA	1.172
27	2ADU	R20	2.932
28	2AI7	SB7	4.481
29	2AJ8	SC3	20.175
30	2BIB	PC	3.723
31	2BU5	TF1	5.489
32	2BUC	008	2.836
33	2EW6	Y13	1.738
34	2EW5	Y12	7.278
35	2F6V	SK2	3.699

36	2FDU	D1G	1.28
37	2FDV	D2G	0.707
38	2FZD	TOL	0.690
39	2IKH	NAP	0.550
40	2PEV	ALDT	1.001
41	2QCD	U5P	1.758
42	2QCF	5FU	1.780
43	2QCG	5FU	0.125
44	2QCH	5IU	0.125
45	2QCM	JW5	0.852
46	2QCN	U5P	0.125
47	2ZE2	T27	0.590
48	3C6T	M14	1.113
49	3C43	315	3.164
50	3C56	PH4	0.626
51	3CCC	7AC	0.546
52	3D01	PG5	1.137
53	3DRP	R8E	1.619
54	3G5E	NDP	1.643
55	3K6L	2BB	1.315
56	3K37	BCZ	2.988
57	3OAP	9CR	2.551
58	3PKC	Y08	1.429
59	3PN4	BB2	1.391
60	3QWJ	X6A	1.910
61	3V35	NTI	1.995
62	4D09	788	1.776
63	4DR9	BB2	1.852
64	4E00	0F1	0.046
65	4E01	0F1	0.037
66	4E73	0NR	0.536
67	4EBV	007	1.132
68	4EQC	XR1	0.763
69	4EY7	E20	0.315
70	4FLL	YZ6	1.809
71	4IKR	PVP	0.703
72	4IKS	BTFD	1.723
73	4IU6	FZ1	0.504
74	4JE7	BB2	0.853
75	4NCM	704	2.751
76	4NGM	J96	1.425
77	4O09	2R6	1.406
78	4O09	2U8	1.406
79	4PES	2PJ	1.256
80	4PNC	7NP	0.047

81	4U69	Q07	0.686
82	4WK7	3PQ	1.188
83	4WKE	3PU	1.588
84	4WY1	3VO	0.087
85	5AUV	AGI	1.255
86	5CVK	56E	2.639
87	5DC5	B3N	3.363
88	5EDH	5MF	0.791
89	5F94	3UO	0.778
90	5JF1	BB2	1.768
91	5JL9	ASD	0.139
92	5QCN	BVM	2.798
93	6AAH	9T6	1.028
94	6MDB	JE4	2.696
95	6MDD	JE7	2.832
96	6SUK	FT8	0.602
97	6OHS	MJY	1.984
98	7JRN	TTT	1.204
99	7K40	U5G	1.251
100	7TLN	INC	4.38

Tableau 2 : Tableau des 135 similaires issu de la PubChem.

Numéro	Numéro d'accension	SCORE F0 M ⁻¹
S1	9884318	4.04
S2	11575682	2.02
S3	11621465	3.21
S4	11669846	3.18
S5	11209405	3.00
S6	11186408	3.51
S7	11280046	4.78
S8	11327103	3.12
S9	11395681	3.29
S10	11661133	3.76
S11	24875178	2.41
S12	4799939	2.16
S13	44444591	4.54
S14	44444592	2.95
S15	44444594	2.84
S16	44447259	1.50
S17	44449419	1.78
S18	44449421	2.29
S19	44449453	3.47
S20	44449456	2.26
S21	1511103	2.13
S22	6463885	2.08
S23	44444593	2.90
S24	71916685	2.99
S25	6456942	2.03
S26	11174712	2.99
S27	11175692	4.00
S28	11245632	4.07
S29	11315498	2.96
S30	11348521	2.43
S31	11370773	3.53
S32	11393621	3.90
S33	11394070	3.84
S34	11461027	2.26
S35	11669845	3.18
S36	11702297	2.70
S37	16367133	2.27
S38	20755541	4.60
S39	24874631	3.23
S40	50969815	1.87
S41	50979492	2.13
S42	58994379	3.10
S43	59737436	3.06
S44	59796778	3.47

S45	59796782	2.77
S46	59796783	3.63
S47	68680827	3.19
S48	71156982	2.84
S49	71159940	3.41
S50	71224414	4.04
S51	71224789	3.62
S52	71234110	4.46
S53	90979058	3.05
S54	91299166	3.12
S55	91406475	3.36
S56	118601013	3.33
S57	123811852	2.29
S58	126498813	4.58
S59	130372661	3.37
S60	130372841	3.07
S61	130372941	3.54
S62	130372980	3.26
S63	130373002	2.87
S64	138505403	3.79
S65	138505423	3.30
S66	138505430	3.88
S67	138505440	2.41
S68	138505450	2.98
S69	138505451	3.96
S70	138505452	2.98
S71	138505470	2.82
S72	138505471	3.37
S73	138505483	2.94
S74	138505506	3.02
S75	138505516	2.87
S76	138505336	3.40
S77	138505345	3.56
S78	138505366	3.66
S79	138505380	3.09
S80	138506307	4.30
S81	138517861	3.16
S82	138517909	2.69
S83	140109647	3.36
S84	141191661	3.66
S85	141412933	4.04
S86	142550207	2.40
S87	142550209	1.79
S88	142962032	3.11
S89	143377413	2.79
S90	147856906	4.91
S91	152340139	4.22
S92	155082445	3.38
S93	7227577	2.87

S94	7328884	2.17
S95	7328885	2.12
S96	7328943	3.63
S97	7328944	3.26
S98	24874674	3.55
S99	25239480	3.26
S100	46385175	2.77
S101	147985393	2.67
S102	142962033	3.11
S103	136559576	2.89
S104	136559569	2.37
S105	112349227	3.56
S106	112356628	3.08
S107	120225554	5.00
S108	121550034	1.55
S109	124608657	3.02
S110	124608658	1.55
S111	133438170	3.84
S112	133916552	4.41
S113	133993528	4.47
S114	136541164	3.15
S115	112055138	2.25
S116	112283186	3.35
S117	112304176	2.39
S118	112304213	4.15
S119	112304216	3.36
S120	112304242	3.63
S121	112333317	4.49
S122	112334291	2.01
S123	112335665	2.60
S124	112335669	2.60
S125	110921214	3.46
S126	110921231	3.49
S127	110922997	3.64
S128	110931877	2.97
S129	111485570	2.71
S130	111778213	3.19
S131	111779570	3.97
S132	111791752	4.12
S133	111837674	2.98
S134	112042505	3.56
S135	109892539	4.02

Résumés

Résumé

L'épilepsie est une maladie neurologique chronique progressive bien connue, et la CSF1R est une cible thérapeutique intéressante pour le développement de nouveaux médicaments antiépileptique. Dans cette étude, nous avons tenté de développer de nouveaux inhibiteurs *in silico* potentiellement plus affins et sélectifs envers la CSF1R, Pour cela nous avons fait recours à l'approche par docking moléculaire à l'aide du programme Surflex. Un criblage virtuel a été réalisé sur une collection de 135 structures téléchargées à partir de la Pubchem avec un taux de similarité de 87%. Ce criblage nous a permis de proposer un composé comme inhibiteur de CSF1R plus puissant que le ligand de référence. Une évaluation positive des propriétés pharmacologiques par le serveur SwissADME nous permet de présager de bonnes perspectives en tant que nouvel inhibiteur potentiel de la CSF1R.

Mots clés : CSF1R, Surflex, Docking moléculaire, épilepsie, *in silico*.

Abstract

Epilepsy disease is a well-known chronic progressive neurological disorder, and CSF1R is an interesting therapeutic target for the development of new anti-epileptic drugs. In this study, we attempted to develop new *in silico* inhibitors potentially more affine and selective towards the CSF1R, for this we used the molecular docking approach using the Surflex program. A virtual screening was performed on a collection of 135 structures downloaded from Pubchem with a similarity rate of 87%. This screening allowed us to propose one compound as CSF1R more potent inhibitor than the reference ligand. A positive evaluation of the pharmacological properties by the SwissADME server allows us to predict good prospects as a new potential CSF1R inhibitor.

Keywords : CSF1R, Surflex, Molecular docking, Epilepsy, *in silico*.

ملخص

يعد مرض الصرع مرضاً مزمنًا عصبيًا تدريجيًا مشهور في حين يُعد CSF1R هدفًا عاليًا مثيرًا للاهتمام لتطوير أدوية جديدة مضادة لهذا المرض. في العمل الحالي، حاولنا تطوير مثبطات جديدة *in silico* يمكن أن تكون أكثر انتماءً وانتقائية تجاه CSF1R لذلك لجأنا إلى نهج الإرساء الجزيئي باستخدام برنامج SURFLEX تم إجراء فحص افتراضي على 135 جزيئة والتي قمنا بتنزيلها من مكتبة المواد الكيميائية PUBCHEM بمعدل تشابه بنسبة 87%. سمح لنا هذا الفحص باقتراح مركب واحد كمثبطا CSF1R أكثر قوة من المركبة المرجعية.

يعطينا التقييم الإيجابي للخصائص الدوائية من قبل متصفح SWISS ADME منظورا جيدًا لمستقبل مركبا كمثبطا CSF1R جديد

الكلمات الدالة: CSF1R, Surfex, Docking moléculaire, épilepsie, *in silico*.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : TAKOUCHE Ines
YAKHLEF Asma

Thème : Développement *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la CSF1R par docking moléculaire pour le traitement de la maladie de L'épilepsie .

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en biochimie appliqué

Résumé

L'épilepsie est une maladie neurologique chronique progressive bien connue, et la CSF1R est une cible thérapeutique intéressante pour le développement de nouveaux médicaments antiépileptique. Dans cette étude, nous avons tenté de développer de nouveaux inhibiteurs *in silico* potentiellement plus affins et sélectifs envers la CSF1R, Pour cela nous avons eu recours à l'approche par docking moléculaire à l'aide du programme Surflex. Un criblage virtuel a été réalisé sur une collection de 135 structures téléchargées à partir de la Pubchem avec un taux de similarité de 87%. Ce criblage nous a permis de proposer un composé comme inhibiteur de CSF1R plus puissant que le ligand de référence. Une évaluation positive des propriétés pharmacologiques par le serveur SwissADME nous permet de présager de bonnes perspectives en tant que nouvel inhibiteur potentiel de la CSF1R.

Mots-clefs : CSF1R , surflex , docking moléculaire , épilepsie , in silico

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de biochimie appliqué (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : Mr abdelouahab chikhi (professeur- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Mr BENSEGUENI Abderrahmane (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Mr MOKRANI El Hassen (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).