

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

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا
الخلوية و الجزيئية

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 :

Exploration de la base de données NPASS pour la découverte des inhibiteurs potentiels de la bêta- lactamase par docking moléculaire

Présenté par : BERKNI Israa

Le 20/06/2023

GHETTOUT Loubna

Jury d'évaluation :

Président de jury : MOKRANI E.H. (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine)

Encadreur : CHERIET M. (MRB-Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine CRBt.)

Examineur : BOUHDJAR Kh. (MRA-Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine CRBt.)

Année universitaire :

2022 - 2023

« *Remerciements* »

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout-puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail. Nous tenons à remercier

notre rapporteur, *Mme CHERIET. M*, pour nous avoir encadrés durant toute la période de préparation du mémoire, pour tout le temps qu'elle nous a consacré, les conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi de ce travail.

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à *Mr MOKRANI. E.H*, de l'Université Frères Mentouri Constantine-1, pour avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Nos vifs remerciements vont également à *Mr BOUHDJAR. Kh*, du Centre de Recherche de Biotechnologie, pour avoir fait l'honneur de participer au jury de ce mémoire.

Nous souhaitons également exprimer notre profonde gratitude à *Mme LACHI* de l'Université de Guelma pour son aide précieuse et son suivi attentif tout au long de notre parcours.

Nous n'oserions oublier de remercier l'ensemble du corps professoral de l'Université Frères Mentouri Constantine-1, pour le travail énorme qu'il effectue afin de créer les conditions les plus favorables pour le déroulement de nos études.

Enfin, nous remercions toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

« *Dédicace* »

Je dédie ce mémoire à l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral,
source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir :
mon père.

À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et
mon bonheur : ma mère.

À la personne qui m'a énormément aidée et pour son soutien moral et ses sacrifices
tout au long de ma formation : mon cher frère.

À mon cher binôme, Loubna, pour son entente et sa sympathie.

À notre encadrice, Madame Cheriet, merci pour tous les conseils dont j'ai pu
bénéficier au cours de notre travail.

À l'ensemble de mes proches, ainsi qu'à tous ceux qui, de près ou de loin, ont
contribué à la réalisation de ce travail.

Israa

« *Dédicace* »

Au nom de dieu le tout miséricordieux, le très miséricordieux, et multiplication des prières et de paix soient sur son messager « le prophète Mohammed ».

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon très cher père que dieu prolonge votre vie.

Une spéciale dédicace à la lumière de mes jours, la source de mon amour, la flamme de mon cœur et mon bonheur : Mon adorable mère, Merci d'être ma mère, Je prie Allah de te protéger, te garder et te procurer santé et bonheur.

A mes chères sœurs " Bouchra" la tolérante, ma source de soutien d'espoir et de motivation, "Rima" la bonne, "Radia" la tendre.

A mes chers frères "Hocine", "Adel", "Ahmed", je vous aime énormément.

Aux petits bijoux de ma famille, A ma princesses "Djommana", et mes adorables "Yazen", "Oussama", "Siraj Eldin", "Yahia Assil", "Houd AbdElsamad", ma source de joie et de bonheur.

A mon binôme ; Israa, pour son soutien moral, sa patience et compréhension toute au long de mes études et des moments difficiles, un grand MERCI à vous.

A tous les amis de la promotion Biochimie appliquée Année 2023.

A tous ceux qui m'aimaient et que j'aimais vous êtes toujours dans mon cœur.

Loubna

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

Revue bibliographique

Chapitre I : Criblage virtuel

1- Introduction..... 5

2- Docking moléculaire..... 5

3- Types de docking moléculaire 6

4- Etapes de docking moléculaire..... 6

5- Fonctions de scores 7

6-Algorithmes de recherches 9

7- Les outils du docking moléculaire. 10

8-criblage virtuel12

8-1-Type de criblage.....13

8-1-1- Criblage virtuel « ligand-based »13

8-1-2 -Criblage virtuel « structure-based » 13

9- Les interactions protéine-ligand.....14

Références bibliographiques

Chapitre II : Les bêta-lactamase

1- Introduction.....19

2- Les bêta-lactamines.....19

2-1 Définition.....19

2-2 Les différentes types de bêta-lactamines.....19

2-3 Mode d'action..... 24

3- Les bêta-lactamases.....24

3-1 Les différents types de bêta-lactamases..... 25

4- Résistance aux bêta-lactamines.....26

4-1- Les différentes formes de résistances26

4-2- Mécanismes de résistance aux β -lactamine..... 27

4-2-1-Mécanismes de résistance aux β -lactamines non enzymatique 27

4-2-2-Mécanismes de résistance aux β -lactamines enzymatique.....	28
5-Base de données NPASS	29

Références bibliographiques

Chapitre III : Matériel et méthodes

1-Introduction	34
-----------------------------	----

2-Matériel

2-1-Logiciels et Serveurs	34
---------------------------------	----

2-2-Banques de données.....	35
-----------------------------	----

3-Méthodes

3-1-Test de fiabilité du "AutoDock Vina"	36
--	----

3-1-1-Test RMSD	36
-----------------------	----

3-1-2-Analyse visuelle	37
------------------------------	----

3-2-Criblage virtuel	37
----------------------------	----

3-2-1-Préparation de la structure protéique cible.....	37
--	----

3-2-2-Préparation de la base de donnée NPASS.....	38
---	----

3-2-3-Protocole du criblage virtuel.....	38
--	----

Références bibliographiques

Chapitre IV : Résultats et discussion

1-Evaluation de fiabilité du "AutoDock Vina".....	41
---	----

1-1-RMSD	41
----------------	----

1-2-Analyse visuelle	41
----------------------------	----

2-Résultats du criblage virtuel	42
---------------------------------------	----

2-1Analyse visuelle	44
---------------------------	----

3-Propriétés physico-chimiques.....	50
-------------------------------------	----

3-1-La règle de Lipinski	50
--------------------------------	----

3-2-Les règles de Veber	50
-------------------------------	----

Références bibliographiques

Conclusion	54
-------------------------	----

Annexes

Annexe 1

Annexe 2

Résumés

Liste Des Abréviations

2D : Deux dimensions

3D : Trois dimensions

Å : Angström

AA : Acides amine

AD4 : Autodock Tools

ADMET : Absorption Distribution Métabolisme Elimination – Toxicité

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ADV : AutoDock Vina

Ala : Alanine

AmpC : Céphalosporinase codée par le gène ampC

Arg : Arginine

Asp : Acide Aspartique

BL : Bêta-lactamines

Bla : gène de bêta -lactamase

BLSE : Bêta-Lactamase à spectre étendu

CMI : concentration minimale inhibitrice

Cys : Cystéine

GA : Algorithmes Génétiques

GES : Extended Spectrum β -Lactamase (Groupe d'enzymes de Sensibilité étendue)

Glu : Acide Glutamique

Gly : Glycine

IMP : Imipeneme Métallo-protéine Plasmidique = Imipenemase

KDa : Kilo Dalton

KPC : Klebsiella pneumoniae Carbapénémase

Log P : Coefficients de partage

Lys : Lysine

MBL : Métallo-Bêta-Lactamase

MC : Méthode Monte Carlo

MDR : Multi-Drug-Resistance

Met : Méthionine

NCBI : National Center for Biotechnology Information

NDM : New Delhi Metallo-Beta-Lactamase

n.LF : Nombre de Liaison Flexible

n.OH_{NH} : Nombre de donneur d'Hydrogène

n.ON : Nombre d'Accepteur d'Hydrogène

NPASS : Natural Product Activity and Species Source

OXA : Oxacillinases

PDB : Protein Data Bank

PLP : les protéines liant la pénicilline

PM : Poids Moléculaire

RMN : la résonance magnétique nucléaire

RMSD : Root Mean Square Deviation

Ser : Sérine

SHV : Sulfhydryl Variant Beta-Lactamase

TEM : Encoded Transposable Element Beta-Lactamase

Thr : Thréonine

TPSA : Surface polaire topologique

Trp : Tryptophane

Tyr : Tyrosine

UCSF : Université de Californie à San Francisco

Val : Valine

VDW : Van Der Waals

VIM : Verona-Integron-Encoded Metallo-Beta-Lactamase

ZN : Zinc

Liste des Figures

Chapitre 1

Figure 1 : Formation du complexe ligand-protéine	6
Figure 2 : Exemples d'une liaison hydrogène.....	14
Figure 3 : Exemple d'une liaison hydrophobe	15

Chapitre 2

Figure 1 : Noyau β -lactame (2-Azétidinone)	19
Figure 2 : Structure des pénicilline.....	20
Figure 3 : Structure des céphalosporines.....	21
Figure 4 : Structure des monobactames.....	22
Figure 5 : Structure des carbapénèm.....	23
Figure 6 : Structure des inhibiteurs de bêta-lactamases.....	23
Figure 7 : Mécanismes de résistance aux bêta-lactamines.....	24
Figure 8 : Inactivation de la transpeptidation.....	29
Figure 9 : Inactivation de la bêta- lactame par une bêta-lactamine	29

Chapitre 3

Figure 1 : Représentation 3D de la protéine 4QU3 générée par la PDB.....	36
---	----

Chapitre 4

Figure 1 : Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles.....	41
Figure 2 : Superposition de la géométrie de ligands des complexes 1JJT, 2FJP, 3ANT par cristallographie aux rayons X et celle obtenue par Autodock Vina	42
Figure 3 : Les structures 2D des huit meilleurs ligands.....	44
Figure 4 : La présentation des interactions Protéine- Ertapénem en schéma 2D.....	46
Figure 5 : La présentation des interactions Protéine- NPC474328 en schéma 2D.....	47
Figure 6 : La présentation des interactions Protéine- NPC57998 en schéma 2D.....	47
Figure 7 : La présentation des interactions Protéine- NPC55443 en schéma 2D.....	48
Figure 8 : La présentation des interactions Protéine-NPC57690 en schéma 2D.....	48
Figure 9 : La présentation des interactions Protéine-NPC475417 en schéma 2D.....	49

Liste des tableaux

Chapitre 4

Tableau 1 : Affinité des 8 meilleurs ligands obtenus par PyRx.....	43
Tableau 2 : Types de liaisons formées entre la protéine « 4QU3 » et les ligands (top8).....	45
Tableau 3 : Valeur des différentes propriétés physico-chimiques définissant la règle Lipinski et Veber.....	50

Introduction

Générale

Introduction générale

Le criblage virtuel est une technique permettant d'extraire, d'une chimiothèque donnée, des produits actifs ou affins pour une cible ou un profil pharmacologique donné.

Le processus de criblage virtuel n'est généralement pas un enchaînement d'algorithmes défini par avance. Le choix d'un projet (type de cible, famille d'inhibiteurs ou agonistes) va conditionner une suite logique de programme dans lequel l'utilisateur va naviguer et en explorer les performances [1].

Notre étude se concentre sur le criblage virtuel pour identifier des composés actifs contre la bêta-lactamase, une enzyme impliquée dans la résistance aux antibiotiques. Les bêta-lactamases sont des enzymes produites par certaines bactéries qui rendent les antibiotiques inefficaces en les dégradant ou en les modifiant. Depuis leur découverte dans les années 1940, ces enzymes ont évolué et se sont diversifiées, rendant le traitement des infections bactériennes plus difficile [2].

Pour mener notre criblage virtuel, nous utilisons la chimiothèque NPASS, qui contient une vaste collection de composés chimiques provenant de sources naturelles telles que les plantes et les organismes marins [3]. L'avantage de cette approche est la grande diversité de structures chimiques disponibles, offrant de nombreuses possibilités pour trouver des composés bioactifs capables d'inhiber la bêta-lactamase.

En combinant le criblage virtuel avec la richesse de NPASS, nous espérons découvrir de nouveaux inhibiteurs de la bêta-lactamase à partir de composés naturels. Nous évaluons ces composés en termes d'affinité et de propriétés physicochimiques. Notre objectif est de trouver des candidats prometteurs pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques contre la résistance aux antibiotiques.

Nous structurerons ce travail en deux parties ; une partie théorique composée de deux chapitres, où le premier se consacre à la description du docking moléculaire et du criblage virtuel, ainsi qu'aux différents concepts théoriques sur lesquels ils se basent. Dans le deuxième chapitre présente une vue d'ensemble de la famille des bêta-lactamines, en mettant en évidence les différentes classes et les mécanismes de résistance utilisés par certaines bactéries vis-à-vis de ces bêta-lactamines. Il aborde également les bêta-lactamases et leurs classes, ainsi que leurs inhibiteurs. Concernant la partie pratique, les différents matériels et méthodes utilisés dans notre étude seront détaillés dans un quatrième chapitre. Dans le dernier chapitre, nous exposerons

l'essentiel de nos résultats avec une discussion, ainsi que les perspectives offertes par la poursuite de ce travail qui n'a pas pu être achevé.

Références bibliographiques

- [1] Alban, 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]. 2007.
- [2] Author & Editor Jean-Marie Frère. «Beta-Lactamases. Molecular Anatomy and Physiology of Proteins Series,». Nova Science Pub Incorporated. 2012.
- [3] Zeng, X., Zhang ,P., He, W., Qin, C., Chen, S., Tao, L., Wang, Y., Tan, Y., Gao, D., Wang, B., Chen, Z., Chen, W., Jiang, Y., & Chen ,YZ. «NPASS : base de données sur les activités des produits naturels et les sources d'espèces pour la recherche, la découverte et le développement d'outils sur les produits naturels,». *Acides nucléiques Research*, vol. 46, n°11, p. 1217-1222, 2018.

Chapitre I

1. Introduction

La prolifération des cibles potentielles nécessite le développement de nouvelles méthodes capables de concevoir plus efficacement de nouvelles molécules actives, y compris des recherches pharmaco et toxicogénomiques plus approfondies, la médecine expérimentale et, bien sûr, la chimie computationnelle. On trouve le criblage virtuel, la conception de molécules actives, évaluation de la ressemblance à un principe actif, et la détermination des interactions moléculaires (docking) entre le principe actif et sa cible biologique, le plus souvent une protéine [1].

Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir de molécules isolées, ce qui est nettement plus abordable à mettre en œuvre, moins coûteux et plus rapide. Les logiciels de docking sont utiles en biologie sous prétexte que la majorité des principes actifs sont de petites molécules (ligands) qui interagissent avec une cible thérapeutique, généralement une protéine (récepteur), pour modifier le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée. Le criblage virtuel basé sur la structure 3D de la protéine consiste à arrimer et à prédire l'affinité d'un grand nombre de molécules, collectées en chimiothèques, pour le site actif de la cible thérapeutique étudiée. Les molécules les plus prometteuses sont sélectionnées, achetées ou synthétisées puis testées expérimentalement [2].

2. Docking moléculaire

L'amarrage est le nom donné aux stimulations moléculaires qui combinent différentes approches pour étudier comment deux molécules interagissent pharmacologiquement, un récepteur macromoléculaire (protéine cible) et une petite molécule ligand. L'objectif principal de docking moléculaire est la prédiction de la conformation, qui se détermine par la position la plus favorable et l'orientation relative du ligand sur son récepteur dans le site actif. Le processus d'interaction se produit par la liaison complémentaire du ligand à l'architecture des protéines [3] (Figure1).

Le docking permet de prédire l'effet biologique d'un grand nombre de molécules dans un temps raisonnable et de proposer par la suite une série de molécules moins large à synthétiser ou à tester sur une cible donnée. Son rôle principal est d'étudier et de prédire les interactions probables entre le ligand et les acides aminés constituant la structure de la cible. Il permet également de prédire la conformation la plus favorable du ligand au

sein de son récepteur [4] (**Figure1**).

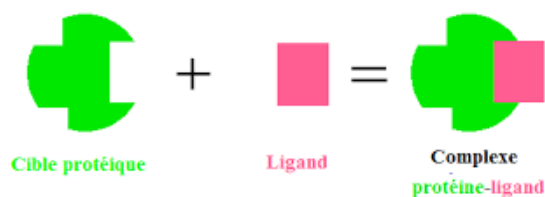


Figure 1: Formation du complexe ligand-protéine [5].

3. Types de docking moléculaire

Il existe trois types de docking moléculaire [6]

- **Docking rigide**

Est basé sur la réalisation d'une conformation préférée du système protéine-ligand, en tenant compte du fait que chacune des deux molécules est une entité rigide tout en conservant une géométrie interne de chaque élément en interaction dans le complexe n'est pas prise en compte.

- **Docking flexible**

Il est tout à fait possible que les structures des protéines et des ligands soient modifiées au cours du processus d'amarrage moléculaires pour optimiser au mieux l'interaction entre les deux entités.

- **Docking semi-flexible**

Se situe entre ces deux modalités dans lequel les partenaires d'interaction sont partiellement déformables. En général, le récepteur est traité comme rigide et le ligand comme entièrement flexible, ce qui est préférable car il donne des résultats plus précis.

4. Etapes de docking moléculaire

Le docking moléculaire s'accomplit en deux étapes complémentaires [7] [8]

- **Docking** qui consiste à rechercher Les conformations du ligand capables à établir des interactions idéales avec le récepteur en utilisant des algorithmes de recherche : algorithme génétique, la méthode de Monte Carlo (qui utilise des procédés aléatoires) ...
- **Scoring** qui sont des méthodes mathématiques et des fonctions discriminant les poses de docking correctes de celles incorrectes. Ces méthodes sont utilisées

pour estimer la puissance d'interaction et l'affinité de liaison et qui permet d'évaluer les conformations par un calcul rapide d'énergie d'interaction des ligands avec un récepteur pour ne retenir que la meilleure.

5. Fonctions de scores

En théorie, le complexe est favorable si la variation d'énergie libre globale de complexation est inférieure à zéro. En pratique, l'évaluation de l'énergie libre des complexes est une tâche souvent coûteuse d'un point de vue informatique, ce qui limite son utilisation en routine. De ce fait, des méthodes approximatives ont été développées pour distinguer les meilleurs complexes parmi ceux générés par le docking : les fonctions de score. Nous avons cinq fonctions du score : fonctions empiriques, fonctions basées sur la connaissance, fonctions de score basées sur un champ de force, fonctions consensus et fonctions de score centrées sur la complémentarité géométrique surface-surface [9].

- **Fonctions empiriques**

L'idée fondamentale est que l'énergie d'interaction du complexe récepteur- ligand peut être interprétée comme une somme d'interactions chimiques localisées. Elles approximent l'énergie libre de liaison en additionnant d'une façon pondérée les différents termes d'interactions (interactions ioniques, interactions hydrophobiques, les ponts hydrogènes) qui dérivent des paramètres structuraux. Elles estiment l'énergie d'interaction en réunissant d'une façon intuitive les termes fondamentaux définis par l'expérience. Elles sont utilisées par la plupart des programmes de docking. Parmi les principales fonctions on peut citer : ChemScore, PLP et LigScore [9].

- **Fonctions basées sur la connaissance (knowledge-based)**

Elles dérivent des données statistiques qui ont été obtenues par analyse expérimentale des fréquences d'interactions entre atomes au sein d'un complexe protéine-ligand. Leur principe est que les distances interatomiques les moins représentées statistiquement dans les complexes représentent les interactions les moins stables et celles qui sont les plus représentées constituent des contacts énergétiques favorables. On peut citer comme exemples : PMF, SMOG et DrugScore [9].

- **Fonctions de score basées sur un champ de force**

C'est une fonction mathématique qui exprime l'énergie d'un système par la somme de divers termes issus de la mécanique moléculaire. Le champ de force dans sa forme standard évalue la somme de deux énergies : l'énergie interne du ligand (les termes décrits sont similaires à ceux de l'énergie intermoléculaire) et l'énergie d'interaction entre ligand et protéine (l'énergie intermoléculaire est le résultat d'une addition de plusieurs termes énergétiques : terme de Van der Waals et terme électrostatique) qui correspond au terme principal de l'énergie d'interaction protéine-ligand dans le cas du docking moléculaire. Elles sont sensibles aux petites variations de coordonnées atomiques, ce qui limite leur champ d'application, mais ça peut être résolu par adoucissement du potentiel de VDW, où la contribution de la composante répulsive sera limitée afin d'autoriser quelques clashes stériques sans trop pénaliser le mode d'interaction correspondant. Les fonctions G-Score est un exemple de ce type de fonctions de score [10].

- **Fonctions consensus**

Ces fonctions hybrides combinent les résultats issus de diverses fonctions de score. Si les termes des différentes fonctions de score sont fortement corrélés, le consensus peut amplifier les erreurs au lieu de les atténuer. Cependant, il est possible de compenser partiellement les faiblesses intrinsèques de chacune des fonctions de score employées en évitant leurs erreurs individuelles et augmentant la probabilité d'identifier des composés actifs [9]. Elles combinent les informations obtenues à partir des différents scores, afin de compenser les erreurs des fonctions de scores individuelles. Plusieurs études ont montré que ces fonctions permettent l'évaluation des énergies d'interactions protéine-ligand mieux que les fonctions individuelles, X-CSCORE est un exemple de ce type de fonctions [10].

- **Fonctions de score centrées sur la complémentarité géométrique surface-surface**

Les méthodes de docking reposant sur des surfaces utilisent des fonctions de score qui sont adaptées et principalement centrées sur la complémentarité géométrique surface-surface et auxquelles il peut être adjoit une estimation d'interactions sur le modèle des fonctions de score plus conventionnelles. Par exemple, LigandFit génère, par la méthode de Monte Carlo, les conformations du ligand dont les formes sont ensuite comparées à celles du site actif. Afin d'améliorer la pertinence d'un programme du docking il faut d'abord améliorer celle des fonctions de score sans entraîner un surcoût

de calculs très important. En général, les erreurs de docking sont dues à un échantillonnage insuffisant ou à une fonction de score inadéquate [9].

6. Algorithmes de recherches

Il existe trois types d'algorithmes pour le traitement de la flexibilité du ligand : les méthodes systématiques, les méthodes stochastiques ou aléatoires, et les méthodes de simulation ou déterministes. Ces méthodes nécessitent plus de puissance de calcul mais permettent une modélisation plus précise et spécifique [11].

- **Recherche systématique**

Les algorithmes de recherche systématique tentent d'explorer tous les degrés de liberté. Pour réduire le nombre d'évaluations à effectuer, des critères de terminaison sont définis pour éviter que l'algorithme ne soit confronté à une explosion combinatoire. Les algorithmes de fragmentation/reconstruction (méthodes de construction incrémentielles) divisent généralement un ligand en petits noyaux rigides et en parties de liaison flexibles. Les fragments de noyau rigides sont d'abord ancrés dans le site de liaison et les parties flexibles sont ajoutées progressivement pour reconstruire le ligand complet [12]. Ce type d'algorithme est notamment employé dans les programmes FlexX, LUDI et les versions flexibles du programme Dock [17].

- **Recherche stochastique**

Les algorithmes de recherche stochastiques (ou aléatoires) impliquent des changements aléatoires pour modifier la position du ligand (translation et rotation) ainsi que les angles de torsion afin de générer différentes conformations. Les principales méthodes de recherche stochastique sont Monte Carlo (MC), les algorithmes génétiques (GA) [12].

- **Méthodes de Monte Carlo**

MC peut générer un ensemble de conformations qui sont statistiquement cohérentes à une température donnée. Des perturbations aléatoires des positions atomiques sont appliquées afin d'explorer l'espace conformationnel du système moléculaire. Une fonction d'évalue si la conformation nouvellement générée est inférieure à celle de l'étape précédente ou, si elle est supérieure, se situe dans une plage d'énergie définie par le facteur dit de Boltzmann (critères de Metropolis). Une méthode de Monte Carlo est employée pour la recherche conformationnelle du ligand [12].

- **Algorithme génétique**

Les GA sont vaguement modélisés sur des concepts empruntés à l'évolution darwinienne. Différentes conformations et positions de ligands sont générées, formant une population de solutions. Cet état initial de population évolue vers les positions énergétiques les plus basses. Cette population est soumise à des croisements et à des mutations aléatoires ou biaisées afin de former la population suivante. L'algorithme maintient une pression sélective vers une solution optimale, avec un échange d'informations aléatoire permettant l'exploration de l'espace de recherche. Après des étapes successives d'évolution, les meilleures positions et conformations de ligands sont conservées, ce qui donne la pose de ligands d'énergie la plus faible. Ces algorithmes sont utilisés dans de nombreux programmes d'amarrage tels que GOLD, AutoDock, DARWIN, FFLD [12].

- **Recherche tabou**

L'algorithme de recherche tabou explore l'espace conformationnel en interdisant les espaces déjà explorés et accepte les nouvelles solutions sur la base de leur RMSD par rapport aux précédentes conformations. Il est utilisé par exemple dans le programme PRO_LEADS [13].

- **Recherche simulation**

Ces méthodes 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. C'est le cas par exemple dans les versions récentes du programme Dock, et dans le programme ICM [13].

7. Les outils du docking moléculaire

Pour réaliser un docking on a besoin d'une cible de nature protéique (récepteur), d'une petite molécule appelée ligand et d'un programme de docking moléculaire celui qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi.

- **Récepteur**

En termes de molécules, un récepteur est une protéine qui peut se lier spécifiquement et de manière réversible à une autre molécule appelée ligand. La structure 3D qui a été résolues par la cristallographie au rayon X, la résonance magnétique nucléaire (RMN), la spectroscopie infrarouge et/ou densité électronique. Ces structures sont disponibles en format de fichier pdb et provient de **PDB (Protein Data bank)** (<https://www.rcsb.org/>), la plus grande archive de données structurales sur les macromolécules biologiques, telles que les protéines et les acides nucléiques [14].

- **Ligand**

Un ligand est défini comme toute molécule ou atome qui se lie irréversiblement à une molécule de protéine réceptrice ou une macromolécule cible (une protéine ou un acide nucléique) jouant généralement un rôle fonctionnel : stabilité structurale, catalyse, régulation de l'activité enzymatique et transmission du signal. Le type de ligand et sa structure chimique peut être obtenu à partir de différentes bases de données appelées chimio-thèques ou espaces chimiques dont les structures tridimensionnelles des ligands sont disponibles. Une deuxième méthode pour obtenir ce dernier consiste à utiliser la PDB ou des ligands de la littérature scientifique. Il est également possible de dessiner les ligands par chemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl et les sauvegardés dans différents formats (pdb, mol, mol2...etc.) [15].

- **Programmes du docking**

Plusieurs logiciels de docking moléculaire sont actuellement disponibles tels que DOCK, AutoDock, FlexX, Surflex etc. Ces programmes présentent des algorithmes de recherche et des fonctions de score variés [16].

Auto-Dock

L'étape de docking moléculaire est réalisée grâce au sous-programme AutoDock est une suite outils de docking automatisés. Il est conçu pour prédire comment de petites molécules, telles que des substrats ou des médicaments candidats, se lient à un récepteur de structure 3D connue.

AutoDock Vina (ADV)

AutoDock Vina (ADV) introduit en 2010 est la seconde génération du logiciel AutoDock(AD4) publié en 2007 par le même institut de recherche que son prédécesseur. La nature de l'algorithme de recherche et la fonction de score qui sont

implémentés dans ADV sont totalement différents. Rendant le logiciel ADV plus efficace dans ses prédictions que son prédécesseur. Contrairement à AD4, ce logiciel est développé pour le calcul parallèle, ce qui le rend beaucoup plus efficace, et adapté pour le criblage virtuel haut débit. La fonction de score empirique implémentée dans ADV a été déterminée selon la même méthode que la fonction d'AD4, c'est-à-dire en établissant un modèle de régression linéaire multiple mais en se basant sur un jeu de données beaucoup plus important environ 1300 complexes protéine/ligand (contre 188 pour AD4) issus de la PDB. Le modèle et les pondérations des descripteurs de la fonction de score d'ADV sont différentes de celles d'AD4. <http://vina.scripps.edu/>

8. Criblage virtuel

Le terme criblage virtuel regroupe un ensemble de techniques computationnelles ayant pour objectif l'exploration de bases de composés à la recherche de molécules d'intérêt. Une analogie souvent utilisée compare ces techniques à des filtres qui permettraient de constituer des ensembles de molécules partageant certaines propriétés et de sélectionner les plus susceptibles d'interagir avec une cible donnée. Le criblage virtuel est utilisé dans les premières phases du développement de nouveaux médicaments, et en particulier lors de l'identification de hits. Il a alors pour but de sélectionner au sein des ensembles réduits de molécules dont le potentiel d'activité envers la cible thérapeutique visée est supérieur à celui des autres molécules. Il peut également être utilisé lors de l'optimisation des leads. Dans ce cas, le criblage a pour objectif l'identification de motifs structuraux essentiels dans la liaison ligand-récepteur, et la discrimination des meilleurs composés au sein de chimiothèques orientées comprenant des molécules appartenant à une même série [17].

Tout criblage virtuel se décompose en trois étapes

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

Il est à noter que toute erreur à chacune de ces trois étapes aura des conséquences importantes se traduisant généralement par une augmentation du taux de faux positifs et de faux négatifs. Il convient donc d'être très attentif à chacune d'entre elles [13].

8.1 Types de criblage

Deux types d'approches de criblage virtuel sont connus. Le premier fait référence au ligand et se nomme « ligand-based » et la deuxième se réfère à la cible moléculaire et se nomme « structure-based ».

8.1.1 Criblage virtuel « ligand-based »

Cette démarche repose sur les connaissances acquises concernant des molécules de référence interagissant avec la cible d'intérêt biologique. Ces molécules peuvent être utilisées afin d'en dériver un pharmacophore qui définit le minimum de caractéristiques que doit posséder la molécule afin d'interagir avec le système biologique d'intérêt. Ici, le manipulateur détermine une relation de structure-activité quantitative (QSAR) dans laquelle une corrélation entre les propriétés des molécules calculées et leur activité biologique, expérimentalement déterminée, est établie. À leur tour, ces relations QSAR peuvent être utilisées pour la prédiction de nouveaux analogues [9].

8.1.2 Criblage virtuel « structure-based »

Elle repose sur les connaissances de la structures tridimensionnelles de la cible biologique .qui peuvent provenir par des approches expérimentales telles que la cristallographie aux Rayons X et la spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) ou bien, en leur absence, des modèles construits par homologie .En utilisant la structure de la cible biologique, la conception de molécules ayant une grande affinité sélective à la cible se fait à l'aide d'outils graphiques et de procédures de calculs automatisés [17].

Pour cela, différentes approches peuvent être employées : la construction de modèles pharmacophoriques basés sur la structure, l'établissement de modèles 3D_QSAR, la conception de novo (ou de novo design) et les méthodes de docking qui sont les plus populaire. Toutes ces techniques nécessitent l'identification préalable du site de liaison [13].

Les approches de criblage virtuel « structure-based » et « ligand-based » peuvent s'avérer complémentaires, et leur application nécessite l'accès soit à la structure du récepteur, soit à une ensemble d'inhibiteurs connus. Le choix de l'approche utilisée dépend donc des données disponibles au démarrage du projet [17].

9. Les interactions protéine-ligand

Le fonctionnement des systèmes biologiques est basé sur de remarquables mécanismes d'assemblage et de reconnaissance impliquant des interactions moléculaires non-covalentes de faible énergie. Les messages biologiques qui sont intégrés dans leur structure ne peuvent s'exprimer que par l'intermédiaire d'interactions spécifiques qui s'établissent, de façon souvent réversible, avec d'autres partenaires de choix. Le problème qui se pose pendant l'ancrage du ligand au sein de la protéine (docking) est la prédiction de la conformation et l'orientation du ligand relatif au site actif de la protéine cible. À chaque protéine cible de structure connue le docking se révèle être la clé dans le design de nouveaux médicaments [18].

- **Interaction hydrogène**

La liaison hydrogène est une liaison chimique non covalente de type dipôle-dipôle entre deux molécules ou entre deux groupements d'une molécule. Elle consiste essentiellement dans l'interaction entre deux molécules dont l'une possède un atome donneur d'électrons (O) et l'autre possède un atome H accepteur d'électrons. Ce type de liaison résulte d'un transfert partiel d'un électron célibataire sur le groupement H. Les liaisons hydrogène peuvent être intramoléculaires ou intermoléculaires [19] (**Figure2**).

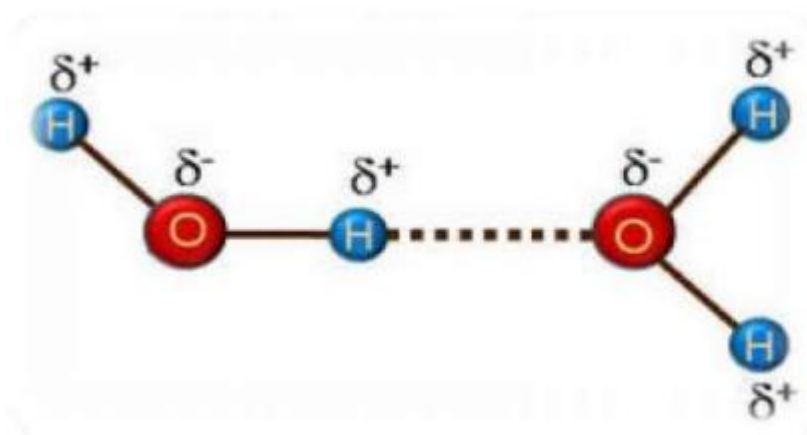


Figure 2: Exemples d'une liaison hydrogène

- **L'interaction de Van der Waals**

Ce sont des interactions entre atomes, molécules, ou entre une molécule et un cristal. Ces interactions Van Der Waals s'appliquent à très courte distance et ne concernent donc que les atomes de surface. Elles sont nombreuses et contribuent essentiellement

dans la recherche de la concordance stérique entre le ligand et la protéine réceptrice [20].

- **Les interactions hydrophobes**

Sont des chaînes organiques saturées ou aromatiques non polaires ayant très peu d'affinité pour l'eau. Ils ont tendance à se positionner de manière à présenter la plus faible surface de contact avec l'environnement aqueux [21](Figure3).

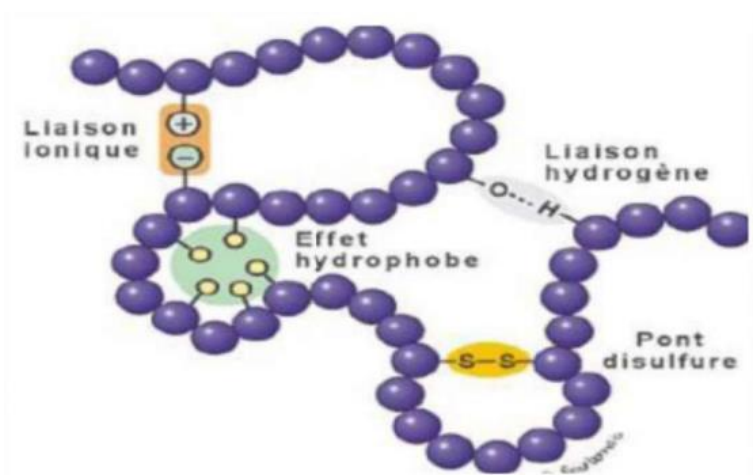


Figure 3: Exemple d'une liaison hydrophobe

- **Interactions électrostatiques**

Les interactions électrostatiques agissent à plus grande distance entre dipôles chargés. La distance pour une liaison saline, par exemple, est de 3.7 à 4.5 Å, et sa force est de l'ordre de 8 Kcal/mol. En présence de solvant, ces interactions sont favorisées du fait de la polarité et de la petite taille de la molécule d'eau [12].

Références bibliographiques

- [1] Grosdidier, A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives.[Thèse de doctorat]. 2007.
- [2] Zerman, W. Modalésation des nouveaux inhibiteurs de la dihydrofolatereductase fongique.[Mémoire de master]. 2022.
- [3] Soudani, W. « Docking moléculaire de 2-chloroéthylnitrososulfamides à potentiel,» RHAZES: Green and Applied Chemistry, vol. 15, pp. 24-26, 2022.
- [4] Makhloufi, I., Lazreg, K. Conception in silico de nouveaux composés anticancéreux [Mémoire de master], Chimie, 2019.
- [5] Yang, Y., Chakravorty, DK., & Merz, KM.« Finding a needle in the haystack: computational modeling of Mg 2+ binding in the active site of protein farnesyltransferase,» HHS author manuscript, vol. 44, n° 149, p. 9658-9666, 2010.
- [6] Mahrooz, A., Rashidi, MR., & Nouri, M. «Naringenin is An Inhibitor of Human Serum Paraoxonase.,» Journal of Clinical Laboratory Analysis , vol. 6, n° 125, p. 395–401, 2011.
- [7] Warren , GL., Andrews , CW., Capelli , AM., Clarke , B., LaLonde, J., Lambert, MH., Lindvall, M., Nevins, N., Semus, SF., Senger, S., Tedesco , G., Wall , ID., Woolven ,JM., Peishoff , CE., & Head , M. « Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Fun,» Med Chem, vol. 20, n° 149, 2006.
- [8] Halperin , I., Ma B., Wolfson, H., Nussinov , R. « Principles of Docking: An Over view of Search Algorithms and a Guide to Scoring Functions. Proteins: Structure, Function, and Genetics.,» vol. 47, p. 409-443, 2002.
- [9] Asses, Y. Conception par modélisation et criblage in silico d'inhibiteurs du récepteur. [thèse de doctorat]. Université Henri Poincaré., 2021.
- [10] M, Saoussene. Etude docking et synthèse de dérivés de xanthone : voie d'accès à de nouveaux inhibiteurs de l' α -glucosidase.[Thèse de doctorat]. 2016.
- [11] Yadava, U. «Algorithm and scoring methods in protein ligand.,» Endocrinology & Metabolism International Journal, vol. 6, n° 16, p. 359-367, 2018.
- [12] Miteva, M., Sperandio,O., & Villoutreix,B. «Criblage virtuel de ligands pour la conception demédicaments basée sur la structure,» vol. 7, p. 104–121, 2007.
- [13] Abed, R., Belkaibch,I. Etude 3D-QSAR et docking moléculaire de dérivés de pyrazolinel'activité anti-amibienne contre la souche HM1.[Mémoire de master], chimie, 2022.

- [14] Ghadhab, EL., & SOUFI ,M. Application du Docking moléculaire par SURFLEX Pour la mise en évidence des nouveaux inhibiteurs de la Kinase dépendante de la cycline 2 (CDK2).[mémoire de master]. Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, 2020.
- [15] Renvez, G. Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines : vers un processus de docking .[Thèse de doctorat].Nano physique l'Université Toulouse III -, 2010.
- [16] Meng, XY., Zhang, HX., Mezei, M., & Cui, M.« Molecular docking : A powerful approach for structure-based drug discovery. Current Computer-Aided Drug Design,» vol. 2, n° 17, p. 146-157, 2011.
- [17] Judith, E. Drug design in silico criblage virtuel de protéines avisée thérapeutique. [Thèse de doctorat]. Université de Bordeaux 1, 2011.
- [18] Bissantz, C., Folkers, G., & Rognan, D. «Protein-based virtual screening of chemical databases. Evaluation of different docking scoring combinations,» Journal of Medicinal Chemistry, vol. 43, pp. 4759-4767, 2000.
- [19] Leach, AR., & Kuntz, ID.« Conformational analysis of flexible ligands in macromolecular receptor sites,» Journal of Computational Chemistry, vol. 13, p. 730-748, 1992.
- [20] Teniou, S. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Magt : Technologie des Explorations Biochimiques.[mémoire de master]. Université Mentouri Constantine , 2012.
- [21] Veselovsky, A. « Protein-protein interactions : mechanisms and modification by drugs,» Pub.Med, vol. 6, n° 115, p. 22-405, 2002.

Chapitre II

1. Introduction

La production de bêta-lactamase, les enzymes qui dégradent les antibiotiques bêta-lactamines, est le mécanisme de résistance aux antibiotiques le plus répandu et le plus menaçant. Dans le passé, des recherches approfondies se sont concentrées sur la structure, la fonction et l'écologie des bêta-lactamases, tandis que des efforts limités ont été mis sur les mécanismes de régulation des bêta-lactamases. Récemment, de plus en plus de preuves démontrent un lien direct entre l'induction de la bêta-lactamase et le métabolisme de la paroi cellulaire chez les bactéries Gram-négatives. Plus précisément, l'expression de la bêta-lactamase pourrait être induite par les fragments de muréine libérés, tels que les muropeptides [1].

2. Les bêta-lactamines

2.1 Définition

Les bêta-lactamines (β -lactamines) sont des antibiotiques bactéricides qui inhibent la biosynthèse de la paroi bactérienne [2]. Constituent une grande famille d'antibiotiques, la plus importante par le nombre et la diversité des molécules utilisables. En bref, toutes les β -lactamines présentent un élément commun dans leur structure : le noyau β -lactame (**Figure1**). C'est ce noyau qui va conférer l'activité antibiotique à la molécule.

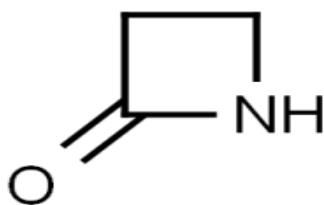


Figure 1 : Noyau β -lactame (2-Azétidinone).

En général, ce sont des antibiotiques faciles à utiliser, et relativement peu toxiques. De nombreux praticiens considèrent que lorsque le choix est possible, il est toujours préférable d'utiliser un antibiotique de cette famille [3].

2-2 Différents types de bêta-lactamines

Les bêta-lactamines possèdent toutes un noyau azétidine nitré à quatre sommets : le cycle bêta-lactame qui correspond à la partie efficace de la molécule. Des variations au

niveau de la chaîne latérale naturelle ou greffée permettent de modifier les propriétés de la molécule antibiotique. Malgré une structure de base commune, on distingue plusieurs familles de bêta-lactames en fonction de la nature du cycle accolé au noyau commun. Les pénames ou pénicillines, les céphèmes ou céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames. A ces quatre sous-familles, il faut ajouter enfin les inhibiteurs des bêta-lactamases qui n'ont pas d'activité antibactérienne intrinsèque mais permettent de prévenir la dégradation de la bêta-lactamine co-administrée [4].

a. Les pénicillines

Les pénicillines sont des antibiotiques bêta-lactamines. A la base, les pénicillines sont des toxines qui proviennent de la moisissure *Penicillium notatum* et qui sont inoffensives pour l'homme. Elles n'ont été introduites pour des thérapies qu'à partir de 1941 ou 1943, treize ans suivant leurs découvertes. Elles sont utilisées dans le traitement d'infections bactériennes, principalement contre des germes Gram positif. La cible des pénicillines, comme celle de tout antibiotique à structure B-lactame, est la paroi bactérienne, qui confère forme et rigidité à la bactérie tout en préservant son intégrité cellulaire. Ces antibiotiques bloquent la biosynthèse du constituant de cette paroi, le peptidoglycane, concourant à un effet bactériostatique mais accélèrent aussi sa dégradation à l'origine d'un effet bactéricide [3]. Il existe quatre générations de pénicillines, qui regroupent les antibiotiques selon leur spectre d'action [2].

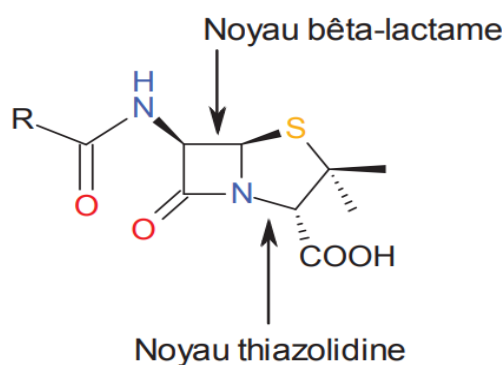


Figure 2 : Structure des pénicillines.

b. Les Céphalosporines

Céphalosporines, groupe d'antibiotiques de la famille des bêta-lactamines, présentant la propriété de tuer les bactéries en cours de développement, et dont les formes naturelles

sont extraites d'un champignon du genre *Cephalosporium*. Cette famille d'antibiotiques possède un noyau central très proche à la pénicilline, mais ces antibiotiques sont également plus coûteux et recommandés en raison de leur moindre toxicité et leur stabilité vis-à-vis des bêta-lactamases. Ils sont cependant plus actifs contre les bacilles Gram négatif, et les cocci Gram positif. Ils combattent certains types de méningites et sont utilisés comme traitement prophylactique en chirurgie orthopédique, viscéral et gynécologique. La cible des céphalosporines, comme celle des pénicillines, est la paroi bactérienne, par un mécanisme d'inhibition compétitif des transpeptidases extra-cytoplasmique. Les céphalosporines se fixent sur les protéines liant la pénicilline (PLP) qui sont en fait les enzymes qui assurent la réticulation du peptidoglycane. Chaque céphalosporine se lie sur une PLP avec une affinité préférentielle, ce qui se traduit par des modifications morphologiques particulières de la bactérie [3].

Tout comme les pénicillines, les céphalosporines sont classées en différentes générations (cinq) selon leur spectre d'action [2].

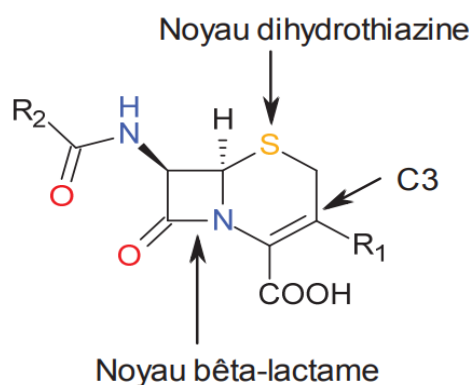


Figure 3 : Structure des céphalosporines.

c. Les monobactames

Les monobactames sont des bêta-lactamines monocycliques, découvertes dès 1977 dans des sur nageants de cultures des bactéries non pathogènes (*Acetobacter*, *Pseudomonas*). Ce sont des antibiotiques naturels à spectre sélectif, ils n'ont aucune activité sur les bacilles à Gram positif et les anaérobies (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Listeria monocytogenes*, *Legionella* spp, *Chlamydia* spp, *Mycoplasma* spp). Elles induisent peu les enzymes bactériens (bêta-lactamines). Le mécanisme d'action des monobactames est la liaison aux protéines liant les pénicillines (PLP) bactériens. Ils se lient davantage aux PLP-3. Ils ont une action

bactéricide dont l'activité dépend du temps passé au-dessus de la CMI caractéristique à la bactérie [3].

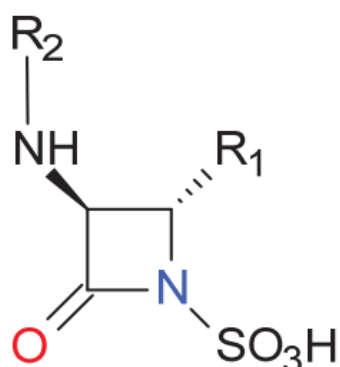


Figure 4 : Structure des monobactames.

d. Les Carbapénèmes

Les carbapénèmes sont une classe d'antibiotiques, faisant partie des bêta-lactames (structure comportant un cycle bêta -lactame), obtenues à partir de *Streptomyces cattleya*. Il s'agit d'agents bactéricides et qui incluent deux grandes sous classes les imipénèmes et les méropénèmes. Leur spectre d'activité est très large. Ils résistent à la plupart des bêta-bactamases (sauf les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline), ils sont actifs sur les Streptocoques, les Staphylocoques, les Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, les espèces *Hæmophilus* et les bactéries anaérobies, dont *Bacillus fragilis*. Ils sont donc raisonnables de réserver leur usage pour le traitement d'infections nosocomiales (surtout polymicrobiennes) sévères (infection urinaires, respiratoires). Le mécanisme d'action des carbapénèmes repose sur l'inhibition de la synthèse de peptidoglycane dans la paroi bactérienne, cette inhibition résulte surtout d'une très puissante affinité pour les PLP2. L'affinité pour les PLP3 est bien moindre que celles des autres bêta-lactamines [3].

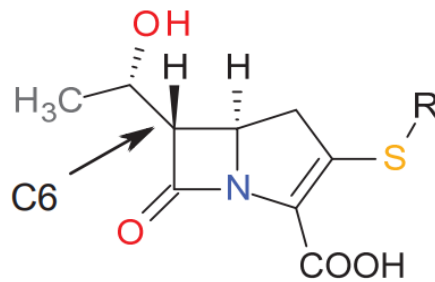


Figure 5 : Structure des carbapénèmes

e. Les inhibiteurs de bêta-lactamases

Rappelons que plusieurs bactéries se défendent contre les pénicillines à l'aide d'enzymes appelées bêta-lactamases. Ces enzymes coupent le cycle bêta -lactame, partie cruciale de la molécule, rendant l'antibiotique inactif. Ainsi, les inhibiteurs de bêta -lactamases sont employés afin de préserver l'activité des bêta-lactamines auxquelles ils sont associés. Ces dérivés de l'acide clavulanique et de l'acide pénicillanique ne possèdent qu'une très faible activité anti-bactérienne intrinsèque mais jouent le rôle de substrat-suicide capable de se lier de manière irréversible à la bêta-lactamase, empêchant ainsi son action ultérieure sur les antibiotiques. Notons que ces molécules présentent des similitudes avec les pénicillines afin d'être reconnues par les enzymes bactériennes. La **figure 6** ci-après montre la structure générale de ces inhibiteurs [4].

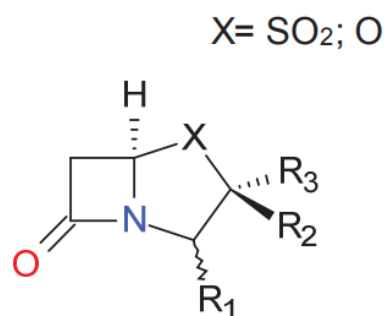


Figure 6 : Structure des inhibiteurs de bêta-lactamases.

Citons trois inhibiteurs de bêta -lactamases : l'acide clavulanique, le tazobactam et le sulbactam.

- L'acide clavulanique est produit par *Streptomyces clavuligerus* et dérive du noyau clavame qui se distingue du noyau péname du fait d'un atome d'oxygène qui

remplace celui de soufre. Il sera associé à l'amoxicilline (utilisation thérapeutique très large) ou la ticarcilline.

- Le sulbactam qui présente un noyau pénème possède une activité intrinsèque antibiotique sur quelques germes mais ne sera employé qu'en association avec une pénicilline. Il existe un ester de sulbactam-ampicilline dont l'hydrolyse dans l'organisme libérera le sulbactam et la pénicilline.

- Le tazobactam possède lui aussi un noyau pénème et dérive de l'acide pénicillanique. Il présente une activité proche de l'acide clavulanique et du sulbactam et sera associé à la pipéracilline [4].

2-3 Mode d'action des bêta-lactamines

Les bêta-lactamines sont des inhibiteurs de synthèse de la paroi bactérienne, ils se fixent sur les protéines de la membrane cytoplasmique : les protéines liant les pénicillines (PLP), ce sont les cibles des bêta-lactamines [3]. La paroi bactérienne est un composant bactérien vital qui permet aux bactéries (gram négatif et positif) de garder leur structure rigide et de résister à la pression osmotique. Les protéines de liaison à la pénicilline (PLP) sont des transpeptidases impliquées dans la synthèse du peptidoglycane, l'un des composants majeurs de la paroi bactérienne. Les BL peuvent se fixer sur les PLP par ouverture du cycle β -lactame et inhiber la synthèse du peptidoglycane aboutissant à une paroi bactérienne non fonctionnelle et la mort cellulaire [5]. Parmi ces enzymes plusieurs font partie du groupe des D, D-peptidases, c'est-à-dire qu'elles coupent des liaisons peptidiques situées entre deux centres asymétriques [3].

3. Les bêta-lactamases

Les bêta-lactamases (β -lactamases) sont des enzymes capables d'hydrolyser la liaison amide du noyau bêta-lactame (figure1), cette réaction rend l'antibiotique inactif. C'est le mécanisme de résistance le plus courant chez les bactéries Gram-négatives [2]. Ces enzymes inactivent les antibiotiques en hydrolysant irréversiblement le lien amide de leur anneau bêta-lactame. Les bêta-lactamases sont sécrétées dans le périplasme chez les bactéries Gram négatif ou dans le milieu extérieur chez les Gram positif. Elles effectuent leur action destructrice sur les bêta-lactamines avant qu'elles n'aient le temps de rencontrer leur cible, les PLP, dans la membrane cytoplasmique. L'efficacité de ces enzymes est telle que certaines sont qualifiées d'enzymes parfaites, n'étant limitées que

par 14 le temps nécessaire à leur diffusion dans le milieu [6]. C'est à Boston au début des années 1940 que la première bêta-lactamase fut identifiée, deux ans avant l'utilisation à grande échelle de la pénicilline. Près de 70 ans plus tard, il existe plus de 470 bêta-lactamases différentes [7].

3-1 Les différents types de bêta-lactamases

Il existe des milliers de types différents de bêta-lactamases ; plusieurs schémas de classification existent, mais le schéma de classification d'Ambler est le plus largement utilisé. Cette classification est basée sur la séquence en AA (Ambler 1980). Il regroupe les bêta-lactamases par classe sur la base de l'homologie moléculaire.

Les classes A, C et D ont un résidu sérine au site actif, tandis que les enzymes de classe B ont du zinc au site actif, c'est-à-dire les métallo-bêta-lactamases (MBL). La classe A comprend les BL à spectre étendu (BLSE) et les carbapénémases de *Klebsiella pneumoniae* (KPC), TEM, SHV, GES, la classe B comprend les MBL (NDM, IMP et VIM), la classe C comprend l'AmpC et la classe D comprend les oxacillinases (OXA) [8].

- Classe A : enzymes caractérisés par la présence d'une sérine dans leur site actif, elles dégradent préférentiellement les pénicillines. Elles sont inhibées par l'acide clavulanique.
- Classe B : métallo-enzymes qui ne sont actives qu'en présence de Zn^{2+} . Elles sont donc inhibées par des agents chélateurs de cations bivalents. Ces enzymes ont généralement un large spectre d'activité, elles sont impliquées dans la résistance aux carbapénèmes.
- Classe C : enzymes présentant surtout une activité sur les céphalosporines. Ils ne sont pas inhibés par l'acide clavulanique. C'est la cloxacilline qui permet in vitro d'inhiber leur production par la bactérie, permettant ainsi de les caractériser.
- Classe D : ces enzymes agissent principalement sur les pénicillines. Ils sont variablement inhibés par l'acide clavulanique. Leur mise en évidence in vitro est difficile par les tests phénotypiques [9] [7].

4. Résistance aux bêta-lactamines

4-1- Les différentes formes de résistances

La résistance des bactéries aux antibiotiques peut être de quatre (04) formes : Résistance naturelle, acquise, croisée et co-résistance.

- La résistance naturelle ou résistance intrinsèque est une caractéristique propre à une espèce bactérienne et partagée par toutes les souches de cette espèce. Elle peut être due à la présence d'un gène chromosomique commun à toutes les bactéries de l'espèce. Pour chaque classe d'antibiotique, il existe des espèces bactériennes pour lesquelles l'antibiotique est inactif par défaut de cible ou d'accès à la cible. Ainsi, l'absence de paroi chez les mycoplasmes rend les bêta-lactamines inactives vis à vis de ces bactéries.
- Les bactéries peuvent également acquérir la résistance à un antibiotique. Dans ce cas, la résistance acquise est présente seulement dans certaines souches de l'espèce. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou d'une acquisition de matériel génétique étranger. Les résistances mutationnelles sont chromosomiques, spontanées, rares, stables et transmissibles uniquement de façon verticale. L'antibiotique n'est pas l'agent mutagène, il sélectionne seulement les mutants devenus résistants. Elles n'intéressent qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotique à la fois. Les résistances par acquisition d'ADN sont la conséquence d'un transfert horizontal y compris entre espèces éloignées phylogénétiquement. Les gènes de résistance aux antibiotiques, pour la plupart chromosomiques, proviennent généralement de microorganismes producteurs d'antibiotiques pour lesquels ils sont immunisés. Ces mécanismes de résistance peuvent alors diffuser très rapidement dans une population.
- La résistance croisée correspond à un seul mécanisme de résistance et entraîne la résistance à tous les antibiotiques d'une même famille. Un exemple de résistance croisée est celui de la résistance à la méticilline des staphylocoques par la production d'une nouvelle PLP2 a qui procure également la résistance aux autres molécules de la famille des bêta-lactamines.
- Dans la co-résistance, plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun des mécanismes confère par résistance croisée la résistance à un groupe d'antibiotique conférant à la bactérie un large spectre de résistance [10].

4-2- Mécanismes de résistance aux bêta-lactamines

Certaines souches bactériennes sont capables de développer des mécanismes de résistance qui diminuent leur sensibilité aux antibiotiques. Il existe deux mécanismes principaux de résistance aux BL : résistance aux bêta-lactamines non enzymatique et enzymatique [5].

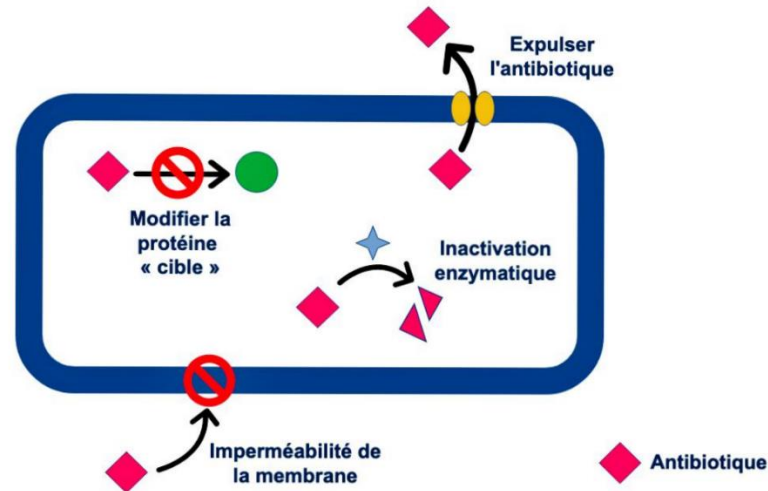


Figure 7 : Mécanismes de résistance aux bêta-lactamines.

4-2-1-Mécanismes de résistance aux bêta-lactamines non enzymatique

a) Modification de la cible

La résistance liée aux modifications de PLP peut résulter de différents mécanismes : la surexpression d'une PLP, l'acquisition d'une PLP étrangère de basse affinité, la recombinaison d'une PLP sensible avec des variétés plus résistantes ou des mutations ponctuelles des PLP résultant en une moindre affinité pour la bêta-lactamine [11]. C'est un mécanisme de résistance acquis, très largement répandu chez les bactéries à Gram positif, comme *Staphylococcus aureus* où la résistance à la méticilline est due à la présence d'une PLP ayant une très faible affinité pour les bêta-lactamines [10].

b) Excrétion par des systèmes d'efflux

Le système d'efflux actif est efficace grâce aux protéines transmembranaires ancrées dans la membrane plasmique mais également dans la membrane externe des bactéries Gram négatif. Ces protéines sont spécifiques d'une classe d'antibiotiques ou au contraire responsables de « multi drug resistance » (MDR Multi-résistance (co-résistance) : résistance à tous les antibiotiques existants) [12]. Chez les bactéries à Gram positif, les systèmes d'efflux ne sont constitués que d'une pompe transmembranaire. Chez les bactéries à Gram négatif, les systèmes d'efflux sont souvent des complexes

protéiques ternaires avec une pompe transmembranaire, une protéine périplasmique de jonction et une porine de la membrane externe. Lors d'une hyperexpression, ces systèmes d'efflux, entraîne une résistance généralement à bas niveau et croisée à différentes familles d'antibiotiques [10].

c) Diminution de l'exposition aux bêta-lactamines (Diminution de la perméabilité)

L'efficacité des bêta-lactamines peut être altérée par diminution de la perméabilité des bactéries à l'antibiotique. Pour les bactéries à Gram négatif, l'expression des porines (canaux permettant le franchissement de la membrane externe) peut être diminuée, inhibant ainsi l'entrée des bêta-lactamines dans la cellule. Des mécanismes d'efflux, médiés par des pompes localisées au niveau de la membrane cytoplasmique, peuvent également être présents et entraînent une diminution de la concentration de bêta-lactamines dans l'espace périplasmique [11]. La résistance bêta-lactamines par diminution de la perméabilité s'exprime habituellement à bas niveau. Dans certains cas, elle peut être associée à d'autres mécanismes de résistance comme l'efflux ou la production de bêta-lactamases [10].

4-2-2-Mécanismes de résistance aux β -lactamines enzymatique

La production par les bactéries d'enzymes hydrolysant l'antibiotique constitue le mécanisme de résistance le plus courant. Ces enzymes sont secrétées au dehors dans le cas des Gram (+), mais maintenues dans l'espace périplasmique dans le cas des Gram (-). Il s'agit de protéases à sérine active, qui se lient aux bêta-lactames avec plus d'affinité que les PBP. Comme celles-ci, elles hydrolysent la liaison amide du cycle bêta-lactame, les bêta-lactamases les plus efficaces en hydrolysent 1000 par seconde, rendant l'antibiotique totalement inactif et régénérant l'enzyme pour une nouvelle réaction d'hydrolyse. Les Figures 8-9 font le parallèle entre l'inhibition de la transpeptidase et celle de l'antibiotique.

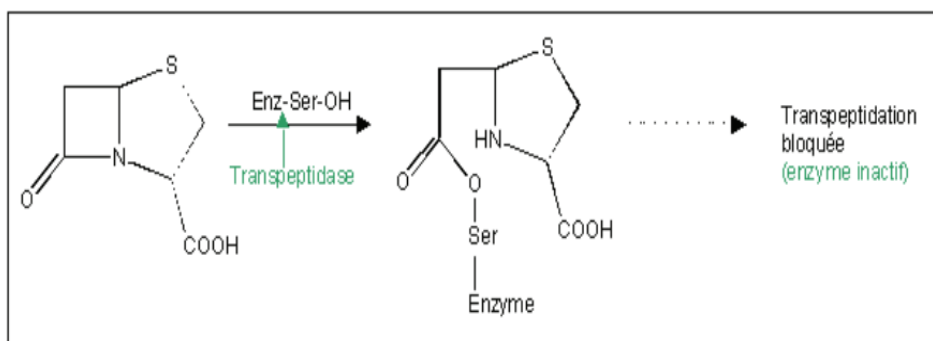


Figure 8 : Inactivation de la transpeptidation

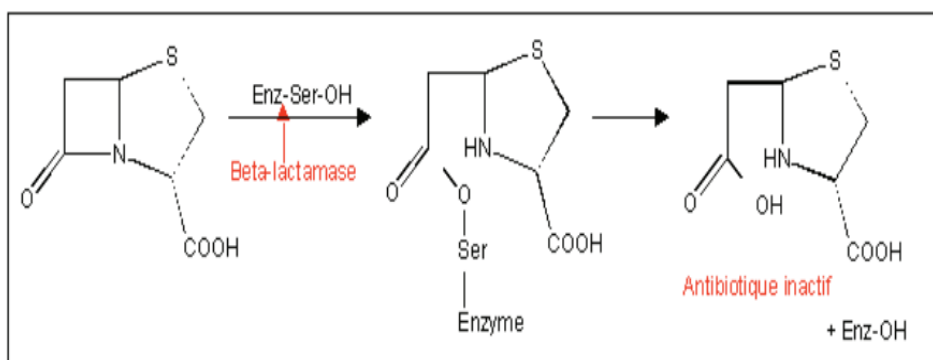


Figure 9 : Inactivation de la bêta- lactame par une bêta-lactamine

L'importance du mode de résistance associé à la production de bêta-lactamases a conduit à la synthèse de molécules résistantes à ces enzymes. Les bêta-lactamases, cependant, se caractérisent par une plasticité extraordinaire, de telle sorte qu'elles finissent toujours par réussir à hydrolyse les nouveaux antibiotiques [4].

5-Base de données NPASS

La base de données NPASS (Natural Product Activity and Species Source) est une base de données qui fournit des informations sur les valeurs d'activité de produits naturels (NP) provenant de la littérature expérimentale, ainsi que des sources d'espèces pour un grand nombre de produits naturels [13]. Cette base de données est utile pour la découverte de médicaments à base de produits naturels, la recherche de nouvelles sources de nutrition à partir de la diversité végétale, et l'exploration des effets bénéfiques des herbes [14].

Il existe plusieurs bases de données de produits naturels disponibles, y compris des bases de données générales telles que SuperNatural, PNUD et ZINC, ainsi que des bases de données spécialisées pour des classes fonctionnelles spécifiques ou pour des médicaments indigènes spécifiques. Cependant, seulement environ 4000 NP dans ces

bases de données sont fournis avec des valeurs d'activité quantitatives déterminées expérimentalement [13].

L'expansion de la diversité des sources productrices de NP est donc essentielle pour découvrir de nouvelles NP. Ces dernières années, de nouvelles stratégies ont émergé pour explorer de nouveaux organismes naturels et pour générer des métabolites par des moyens synthétiques.

La base de données NPASS a subi plusieurs mises à jour majeures pour fournir des informations plus complètes sur les produits naturels. Cette base de données est donc utile pour la recherche de nouvelles NP et pour augmenter les rendements de production de NP de grande valeur [14].

Le passage décrit la base de données NPASS qui contient plus de 35 000 composés naturels provenant de diverses sources telles que les plantes, les animaux et les champignons. Les composés sont classés en 18 superclasses chimiques différentes. NPASS contient également des informations sur l'activité biologique de ces composés, telles que les concentrations inhibitrices et les concentrations actives, qui peuvent être téléchargées gratuitement à partir de la page d'accueil [13]. Le principe de similarité moléculaire est utilisé pour cartographier et naviguer dans l'espace chimique des NP et pour estimer leur profil d'activité. ADMETlab 2.0, un serveur Web, est utilisé pour calculer les propriétés physico-chimiques, les propriétés de chimie médicinale et les propriétés ADMET de chaque NP [14].

Références bibliographiques

- [1] Zeng, X., & Lin, J. « Beta-lactamase induction and cell wall metabolism in Gram-negative bacteria,» *Frontiers in Microbiology*, 2013.
- [2] Valérian, L. « Origine et évolution des bêta-lactamases de classe D, » Département des Sciences de la Vie : Université de Liège , 2018.
- [3] Khellafi, A., Samer, A., & Aboura, L. LA RÉSISTANCE BACTÉRIENNE AUX Bêta-Lactamines.[mémoire de master]. 2009, p. 11_26.
- [4] Chemelle, J. Étude par modélisation moléculaire de l'effet allergène des antibiotiques de la famille des β - lactamines, tant sur le plan immédiat que retardé. Médecine humaine et pathologie.[thèse de doctorat]. Université Claude Bernard , 2010.
- [5] Feray, A. Impact de l'environnement sur la réponse lymphocytaire T reconnaissant les β lactamines : rôles dans les mécanismes allergiques., Toxicologie: Université Paris-Saclay, 2021.
- [6] Jacoby, G. A. « Extrachromosomal resistance in Gram-negative organisms: the evolution of β -lactamase,» *Trends in Microbiology*, vol. 10, n° 12, p. 357–360., 1994.
- [7] Fisher, J., Meroueh, S., & Mobashery, Sh. «Bacterial Resistance to β -Lactam Antibiotics: Compelling Opportunism, Compelling Opportunity,» vol. 2, n° 1105, p. 395–424, 2005.
- [8] Werth, B. J. PharmD, University of Washington School of Pharmacy, May 2022.
- [9] Poole, K. « Resistance to beta-lactamine antibiotics,» *Cell mol life sci*, vol. 17, n° 161, p. 2200- 2223, 2004.
- [10] Faure, S. Transfert d'un gène de résistance aux beta-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : influence d'un traitement antibiotique.[thèse de doctorat]. Université Rennes 1, 2009.
- [11] Bellouard, R. Optimisation pharmacologique et pharmacodynamique des traitements par β -lactamines (amoxicilline, cloxacilline et céfazoline) dans l'endocardite infectieuse : développement d'outils d'adaptation posologique a priori et bayésienne basés, université de Nantes, 2022.
- [12] Gutmann, L. Résistance aux antibiotiques, Université Paris Descartes : Service de microbiologie de l'Hôpital Européen Georges, 2013.
- [13] Zeng, X., Zhang, P., He, W., Qin, C., Chen, S., Tao, L., Wang, Y., Tan, Y., Gao, D., Wang, B., Chen, Z., Chen, W., Jiang, Y., & Chen, YZ. «NPASS : base de

données sur les activités des produits naturels et les sources d'espèces pour la recherche, la découverte et le développement d'outils sur les produits naturels,» *Nucleic Acids Research*, vol. 46, n°11, p. 1217-1222, 2018.

[14] Hui, Z., & al. «NPASS database update 2023: quantitative natural product activity and species source database for biomedical research,» *Nucleic Acids Research*, vol. 51, n°11, p. 621-628, 2023.

Chapitre III

1-Introduction

Notre objectif est de développer de nouveaux inhibiteurs de la Bêta-Lactamase en utilisant une approche *in silico* basée sur le criblage virtuel de la chimiothèque NPASS. Cette méthode nous permet d'optimiser notre recherche en identifiant les candidats les plus prometteurs grâce à la prédiction de leurs affinités et propriétés physicochimiques.

2-Matériel

2-1-Logiciels et Serveurs

La réalisation de notre partie pratique est faite par plusieurs programmes nécessaires, à savoir :

➤ **Chimera 1.10.1**

USCF Chimera est un logiciel de visualisation et d'analyse de structures moléculaires, notamment des protéines. Il permet aux chercheurs de manipuler les modèles 3D, d'effectuer des analyses et de simuler des interactions protéine-ligand, le tout gratuitement et largement utilisé dans le domaine de la biologie structurale <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>

➤ **Biovia Discovery studio visualizer 2020**

Il s'agit d'un programme libre permettant la visualisation des interactions enzyme-inhibiteurs telles que les liaisons hydrogènes, hydrophobes, Van der Waals et électrostatiques que nous avons étudiées. <https://www.3ds.com/products-services/biovia/products/molecular-modeling-simulation/biovia-discovery-studio/visualizer/>

➤ **Autodock Vina**

Autodock Vina est l'un des logiciels les plus rapides et les plus utilisés pour faire le docking moléculaire, c'est un programme de docking basé sur une fonction de notation simple et une recherche conformationnelle d'optimisation de gradient rapide. Aussi, est un programme libre pour faire de docking moléculaire et la prédiction considérablement précise du mode de liaison de ligands au site actif de la protéine <http://vina.scripps.edu/>

➤ **PyRx**

PyRx est un logiciel de criblage virtuel qui est spécialement conçu pour la recherche de médicaments en utilisant des structures moléculaires, permettant ainsi de cribler une chimiothèque de molécules contre des cibles pharmacologiques potentielles. PyRx

intègre le programme de docking AutoDock Vina et offre une interface utilisateur conviviale pour une utilisation plus facile <https://pyrx.sourceforge.io/>

➤ **SwissADME**

Ce serveur nous a été utile pour calculer les propriétés physico-chimiques de nos molécules. Il nous a également permis d'évaluer la nature médicamenteuse et la faisabilité de la chimie médicinale d'une ou plusieurs petites molécules, afin de soutenir la découverte de médicaments <http://www.swissadme.ch/>

2-2-Banques de données

➤ **Protein Data Bank (PDB)**

La PDB est la principale source de données de biologie structurale qui permet, en particulier, d'accéder à des structures 3D de protéines d'intérêt pharmaceutique <https://www.rcsb.org/>.

La protéine « 4QU3 » que nous étudions a été obtenue au format PDB à partir de la Protein Data Bank (PDB). Cette structure présente une définition précise, avec une résolution de 1.40 Å, et aucune mutation n'est présente. De plus, le ligand est situé dans le site actif de la protéine portant le code « 1RG ».

Aussi est obtenue par cristallographie aux rayons X à partir de *Pseudomonas aeruginosa*, avec *Escherichia coli* comme organisme d'expression. Cette macromolécule est dotée de deux chaînes monomériques, la chaîne A et B. La figure ci-dessous représente la structure tridimensionnelle du complexe « 4QU3 », extraite à partir de la PDB (**Figure 1**).

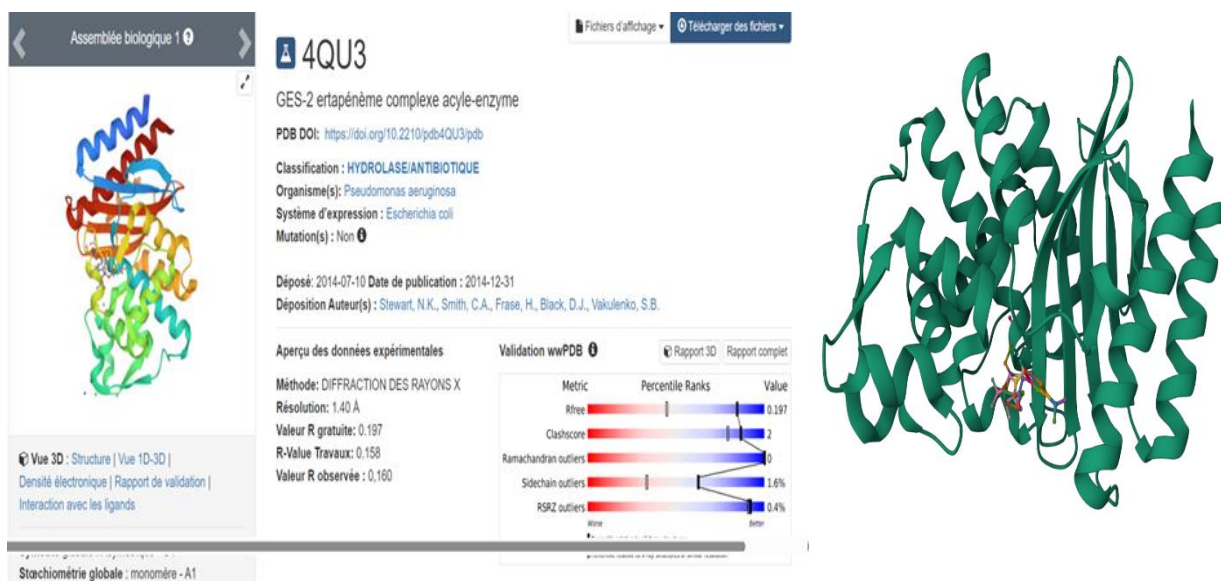


Figure 1 : Représentation 3D de la protéine 4QU3 générée par la PDB

➤ NPASS (Natural Product Activity and Species Source)

Pour notre étude visant à identifier des inhibiteurs de la Bêta-Lactamase, nous avons utilisé NPASS version 2.0. NPASS est une banque de données de Produits Naturels qui propose une collection de 35 032 composés chimiques. Cette banque de données est accessible gratuitement via le site web <http://bidd2.nus.edu.sg/NPASS/>. L'utilisation de NPASS nous a permis d'accéder à une vaste collection de produits naturels diversifiés, offrant ainsi une grande variété de structures chimiques à explorer dans notre recherche d'inhibiteurs.

3-Méthodes

3-1-Test de fiabilité du "AutoDock Vina"

Avant d'utiliser le programme Auto Dock Vina pour étudier l'inhibition de la bêta-lactamase par le docking moléculaire, il est essentiel de procéder à une évaluation préliminaire de sa performance. Dans notre étude, nous avons effectué deux tests distincts afin de vérifier l'efficacité de ce programme :

- L'écart quadratique moyen ou le RMSD (Root Mean Square Deviation).
- L'analyse visuelle

3-1-1-Test RMSD

L'efficacité d'un programme dans la prédiction de la position exacte d'un ligand dans le site actif est évaluée en utilisant la déviation quadratique moyenne (RMSD) entre la

position simulée du ligand par le programme AutoDock Vina et celle déterminée expérimentalement présente dans la PDB. Une prédiction est considérée comme correcte lorsque la valeur du RMSD obtenue est inférieure ou égale à 2 Å [1]. Dans cette étude, ce test a été effectué sur 100 complexes protéine-ligand qui ont été téléchargés aléatoirement au format PDB.

3-1-2-Analyse visuelle

L'analyse visuelle constitue une étape complémentaire au test RMSD. Elle permet de déterminer si les conformations des ligands simulées par AutoDock Vina sont correctement orientées dans le site actif de la protéine cible. Lorsqu'il n'y a pas de différence significative entre la pose des ligands créée par le docking et celle déterminée expérimentalement, on peut considérer la prédiction comme fiable [2].

3-2-Criblage virtuel

Dans notre étude, nous avons réalisé un criblage virtuel par docking moléculaire en utilisant la Bêta-Lactamase comme cible thérapeutique et la chimiothèque NPASS. Cette approche nous a permis de rechercher et identifier de potentiels inhibiteurs de la Bêta-Lactamase parmi les molécules disponibles dans la chimiothèque NPASS.

3-2-1-Préparation de la structure protéique cible

La protéine cible, identifiée sous le code « 4QU3 », a été extraite de la banque de données RCSB-Protein (<https://www.rcsb.org/>). Le format PDB de la protéine a été importé dans le logiciel Chimera 1.10.1 pour éliminer les ligands co-cristallisés, les molécules d'eau et les chaînes non pertinentes. Dans le logiciel BIOVIA Discovery Studio 4.0, le ligand a été séparé du récepteur, et chaque partie a été enregistrée au format PDB, permettant ainsi d'obtenir un récepteur avec un site actif libre.

Ensuite, nous avons préparé la cible en définissant les charges partielles de ses atomes à l'aide d'AutoDock Tools, qui attribue des charges de type "KOLLMAN CHARGES". Il était également nécessaire d'ajouter les hydrogènes polaires au récepteur. Le fichier de la protéine a ensuite été converti par AutoDock Vina au format pdbqt, qui est le format spécifique à AutoDock Vina et contient les données de charges. Cette étape de préparation de la protéine assure une configuration appropriée pour les étapes ultérieures du criblage virtuel.

3-2-2-Préparation de la base de donnée NPASS

Dans le cadre de cette étude, 35032 composés naturels ont été téléchargées à partir de la base de données NPASS au format.sdf (Structure Data File), ce qui a permis de préparer la chimiothèque pour les étapes ultérieures du criblage virtuel. Pour ce faire, nous avons suivi les étapes suivantes : tout d'abord, l'importation des ligands a été réalisée, puis ces ligands ont été convertis en format PDBQT en utilisant Open Babel, qui est intégré dans le logiciel PyRx et qui permet aussi la minimisation de l'énergie des ligands.

3-2-3-Protocole du criblage virtuel

Dans notre protocole de criblage virtuel, nous avons utilisé PyRx pour évaluer l'affinité de chaque molécule, nous avons utilisé le récepteur du complexe 4QU3, que nous avons placé dans une grille tridimensionnelle englobant le site actif de la protéine étudiée. Les coordonnées du centre de la grille étaient les suivantes : X=13.222, Y=2.222 et Z=22.139, avec des dimensions X=40, Y=40 et Z=48 Å (Angstrom). En utilisant cette approche de criblage virtuel, nous avons évalué l'affinité de chaque ligand en le positionnant dans le site actif de la protéine cible « 4QU3 », ce qui nous a permis de sélectionner les candidats les plus prometteurs pour une interaction spécifique avec la protéine étudiée.

Références bibliographiques

- [1] Korb, O., Stützle, T., & Exner, T. E.« Empirical scoring functions for advanced protein-ligand docking with PLANTS.» Journal of chemical information and modeling, vol. 1, n° 149, pp. 84-96, 2009.
- [2] Gabb, H A., Jackson, R M ., Sternberg, M J.« Modelling protein docking using shape».

Chapitre IV

1-Evaluation de fiabilité du "AutoDock Vina"

1-1-RMSD

Les résultats obtenus de ce test sont illustrés dans la **Figure 1**.

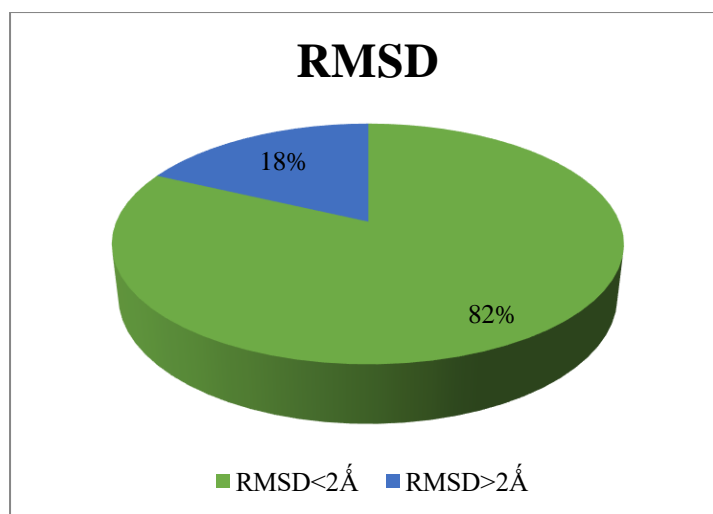


Figure 1: Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles.

Il ressort de la figure que 82% des valeurs de RMSD obtenues suite au docking moléculaire par Autodock Vina sont inférieures à 2 Å alors que seulement 18% sont supérieures à cette valeur seuil. Ces résultats montrent que ce programme simule correctement les interactions protéine-ligand. La liste des complexes étudiés avec les valeurs de RMSD est représentée dans l'**Annexe1**.

1-2-Analyse visuelle

L'analyse visuelle par Discovery Studio faite à la suite du test RMSD, est une étape nécessaire pour confirmer les résultats du test RMSD. Pour cela, nous avons choisi les complexes avec les codes suivants : 1JJT, 2FJP et 3ANT qui possèdent un RMSD égale à 0.84 Å, 0.49 Å et 0.80 Å respectivement et qui se traduit visuellement par une bonne superposition de ce ligand simulé par Autodock Vina avec celui observée expérimentalement (**Figure 2**).

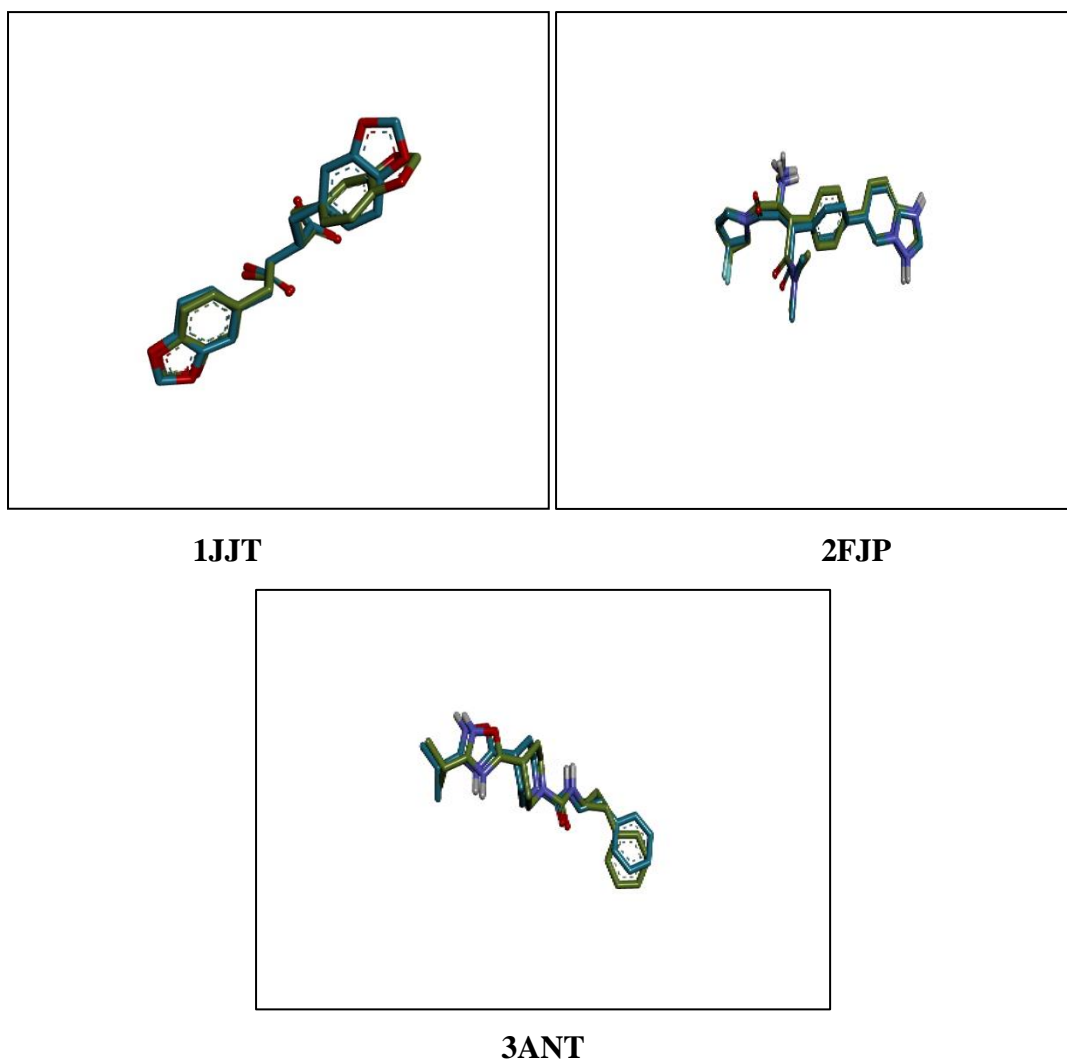


Figure2: Superposition de la géométrie de ligands des complexes 1JJT,2FJP,3ANT par cristallographie aux rayons X et celle obtenue par Autodock Vina.

Cela démontre une fois de plus la fiabilité du programme d'Autodock Vina pour l'étude de l'inhibition *in silico* de la bêta-lactamase.

2-Résultats du criblage virtuel

Après avoir effectué le criblage virtuel, les conformations les plus favorables de chaque ligand ont été générées au sein du site actif et classées selon leur énergie d'interaction croissante. L'affinité du ligand de référence, l'ertapénem, qui était de -8.2 kcal/mol, a été utilisée comme critère de sélection. Parmi les 386 ligands obtenus (**Annexe 2**), nous avons retenu uniquement les huit ligands présentant une affinité Inférieur à -10.0 kcal/mol (**Tableau 1**).

Tableau 1: Affinité des 8 meilleurs ligands obtenus par PyRx.

Ligand	NPASS ID	Affinité (kcal/mol)
Ertapénem		-8.2
Molécule 1	NPC474328	-11.0
Molécule 2	NPC57690	-10.4
Molécule 3	NPC476651	-10.3
Molécule 4	NPC55443	-10.3
Molécule 5	NPC57998	-10.3
Molécule 6	NPC58538	-10.2
Molécule 7	NPC56713	-10.1
Molécule 8	NPC475417	-10.1

Les structures 2D des meilleurs ligands sont représentées dans la **Figure 3**.

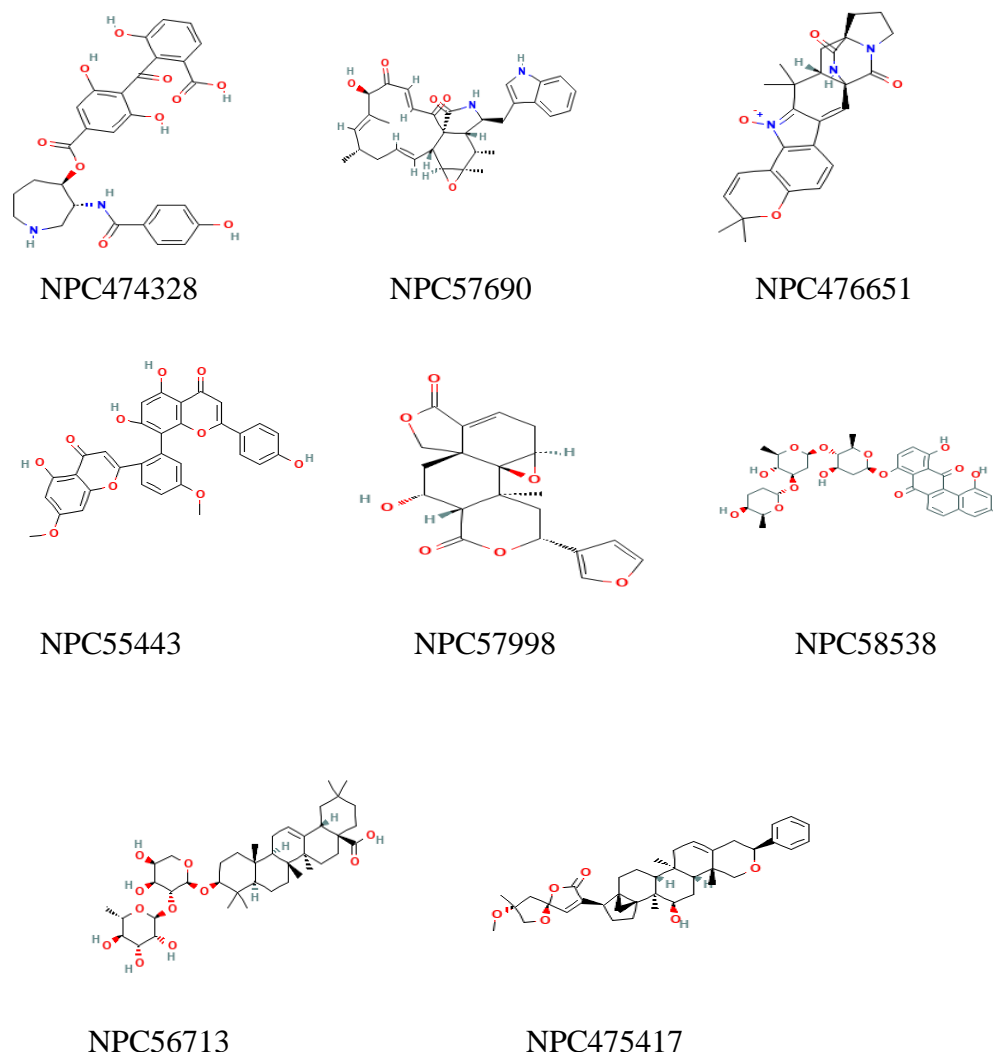


Figure 3 : Les structures 2D des huit meilleurs ligands

2-1-Analyse visuelle

L'analyse visuelle de la position des ligands dans la cavité du site actif est une étape cruciale dans la sélection de nouveaux inhibiteurs de la Bêta-lactamase à partir du criblage virtuel de la chimiothèque NPASS. Après avoir examiné en détail les premières molécules du classement généré par CV, nous avons identifié les meilleurs inhibiteurs de la Bêta-lactamase en se basant sur leur affinité préférentielle avec le site actif. Ces molécules ont démontré des interactions avec les résidus issus de la littérature **SER64**, **LYS67**, **SER125**, **ASN127**, **GLU161**, **ASN165** de l'enzyme, ce qui les a rendues particulièrement intéressantes. Les interactions les plus importantes formées entre la protéine et ces ligands ont été analysées et représentées dans des tableaux et des figures.

Tableau 2 : Types de liaisons formées entre la protéine «4QU3 » et les ligands (top 8)

		Liaisons Hydrogènes		Interaction Hydrophobe			
Composé (NPASS ID)	Affinité (kcal/mol)	Liaisons Hydrogènes conventionnelles	Liaisons carbonées-Hydrogènes	Interaction Pi-Pi	Pi-Sigma	Alkyl	Pi-Alkyl
Ertapénem	-8.2	ARG238 THR232 SER64 GLU161		TRP99			
NPC474328	-11.0	ASN165 ASN127					
NPC57690	-10.4	SER125 SER64 THR232			TRP99		PRO162 ALA234
NPC476651	-10.3	THR232		TRP99		PRO162	
NPC55443	-10.3	ARG267 PRO162 ASN127 SER64 SER125 THR230 ARG238		TRP99	THR232		
NPC57998	-10.3	ARG238 THR230 SER125 LYS67 ASN127 ASN165					
NPC58538	-10.2	PRO162 ASN165 GLU161 ASN127 THR232	THR232			LEU124	ALA234
NPC56713	-10.1	GLU98 PRO162 ARG238 THR230 THR211	ASP166				
NPC475417	-10.1	SER64 SER125	ASP268		TRP99		PRO162

Suite à une analyse visuelle et à l'examen des informations fournies dans le Tableau 2, il a été déterminé que le produit naturel ayant la meilleure affinité est le NPC474328. Les composés NPC476651 et NPC56713, quant à eux, ne présentent aucune interaction

avec les résidus issus de la littérature. Donc, nous avons identifié quatre produits naturels prometteurs : NPC57998, NPC55443, NPC57690 et NPC475417. Notre choix s'est basé sur l'évaluation des résidus qui interagissent avec le site actif de la cible étudiée "4QU3".

- **Interaction Ertapénem avec 4QU3**

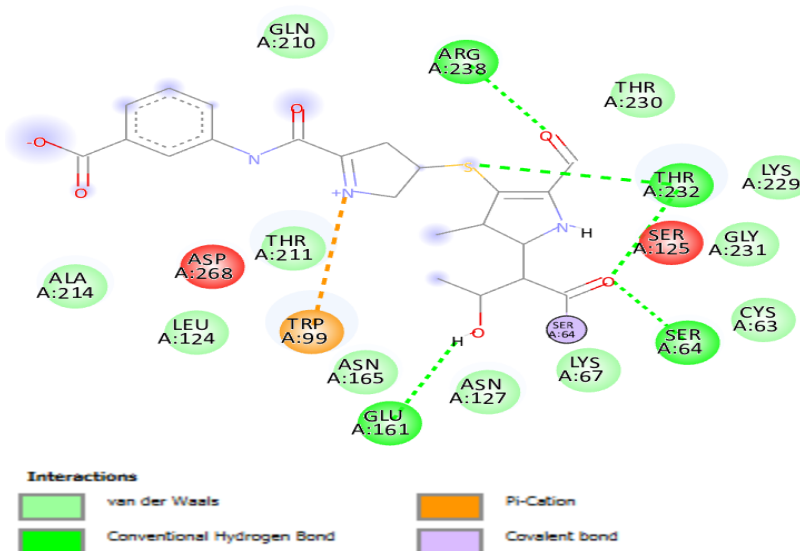


Figure 4: La présentation des interactions Protéine- Ertapénem en schéma 2D.

Le ligand Ertapénem a une énergie libre de -8.2 Kcal/mol. L'analyse visuelle 2D (**Figure 4**) et 3D des résultats de docking du l'Ertapénem-4QU3 montre que le ligand est placé correctement dans la cavité catalytique de la protéine. Elle montre également que ce complexe protéine-ligand est stabilisé par des interactions hydrogènes avec les résidus : **SER64, GLU161, ARG238, THR232**. De plus, ce composé forme aussi une interaction hydrophobe de type pi-cation entre le cycle de l'inhibiteur et le résidu **TRP99**.

- **Interaction NPC474328 – 4QU3**

Le composé présente l'énergie libre la plus basse qui est de -11.0 Kcal /mol. Les interactions entre le ligand et la protéine se traduisent par la formation de deux liaisons hydrogènes avec les résidus ASN165, ASN127(**Figure 5**).

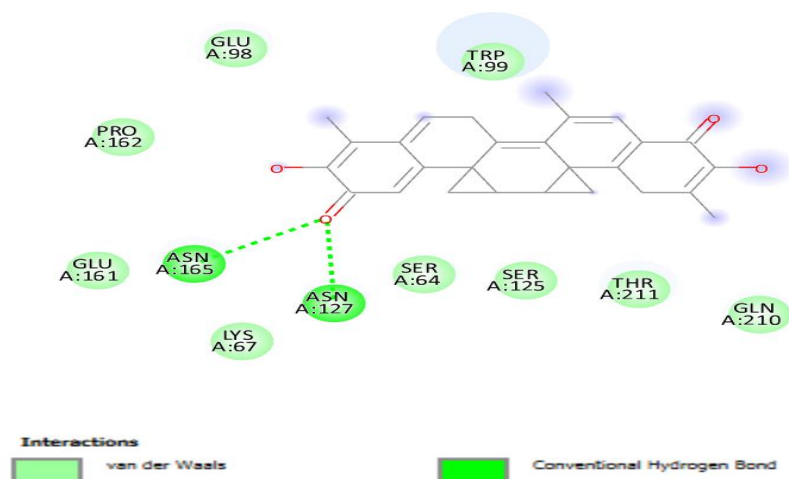


Figure 5: La présentation des interactions Protéine- NPC474328 en schéma 2D.

- **Interaction NPC57998 – 4QU3**

L'analyse visuelle 2D du produit naturel **NPC57998** montre la formation de six liaisons hydrogènes avec les résidus suivants ARG238, THR230, SER125, LYS67, ASN127, ASN165 avec une affinité de -10.2 Kcal/mol (**Figure 6**).

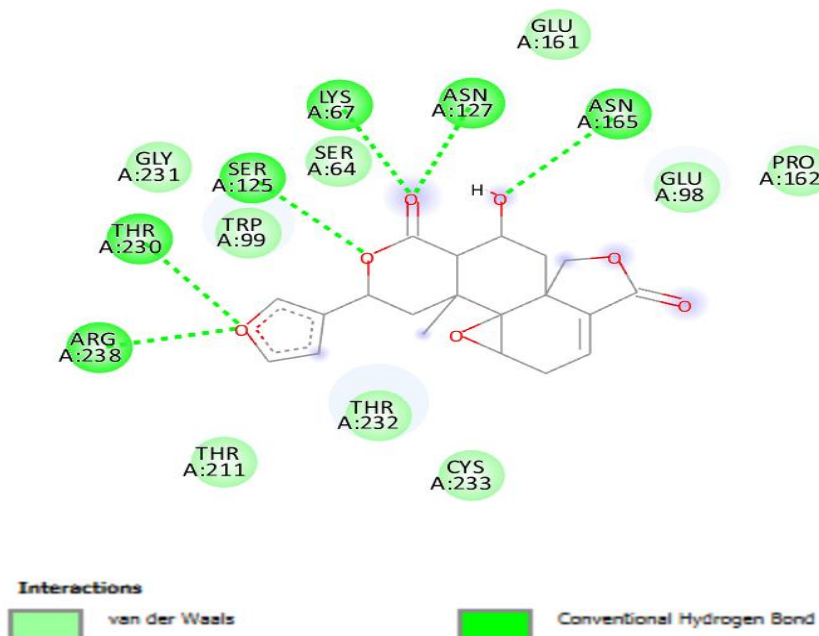


Figure 6 : La présentation des interactions Protéine- NPC57998 en schéma 2D.

- **Interaction NPC55443 – 4QU3**

Le produit **NPC55443** a une affinité de -10.3 Kcal /mol, il forme sept liaisons hydrogènes avec 4QU3 : PRO162, ASN127, THR230, ARG267, SER64, SER125, ARG238 et deux liaisons hydrophobes TRP99 et THR232 (**Figure 7**).

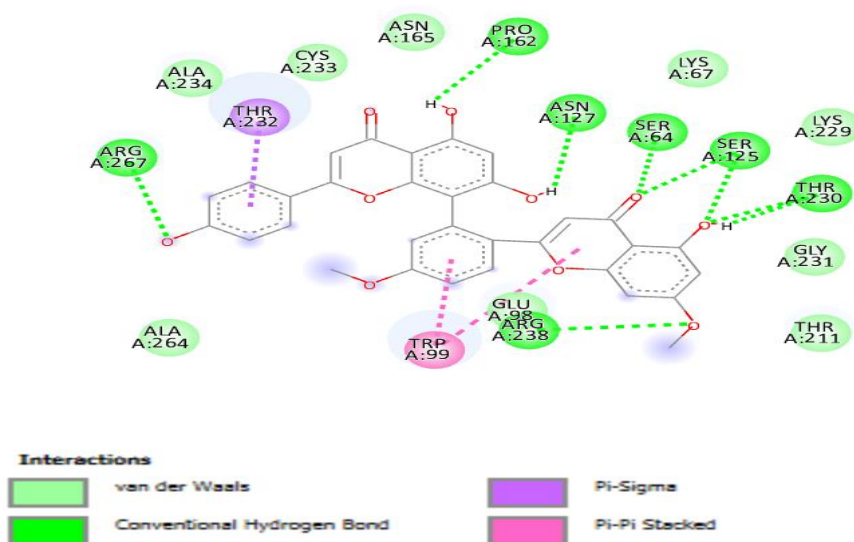


Figure 7 : La présentation des interactions Protéine- NPC55443 en schéma 2D.

- **Interaction NPC57690 – 4QU3**

Le produit **NPC57690** a une affinité de -10.4 Kcal /mol. Les interactions entre le ligand et la protéine se traduisent par la formation de trois liaisons hydrogènes avec SER125, SER64 et THR232 ainsi que quatre liaisons hydrophobes TRP99, PRO162 et ALA234 (**Figure 8**).

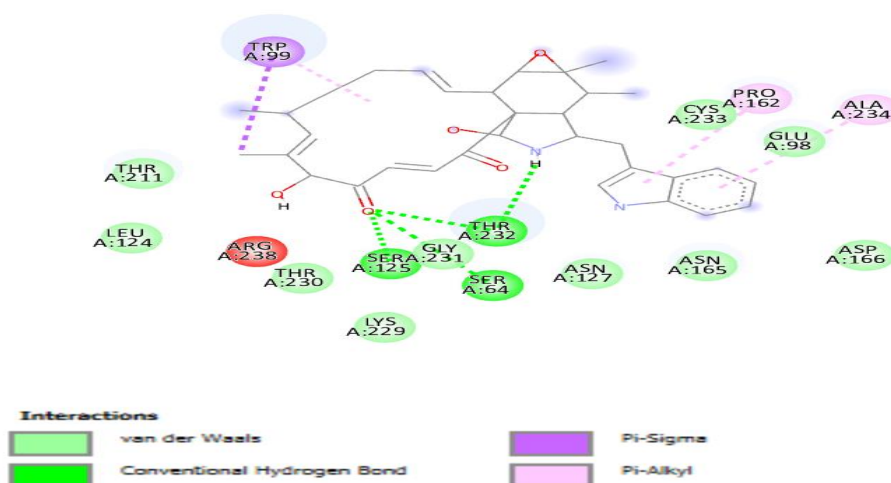


Figure 8 : La présentation des interactions Protéine-NPC57690 en schéma 2D.

- **Interaction NPC475417– 4QU3**

Le produit **NPC475417** a une affinité de -10.2 Kcal /mol. Les interactions entre le ligand et la protéine se traduisent par la formation de quatre liaisons hydrogènes avec SER64, SER125 et ASP268 et trois liaisons hydrophobiques avec TRP99, PRO162 (Figure 9).

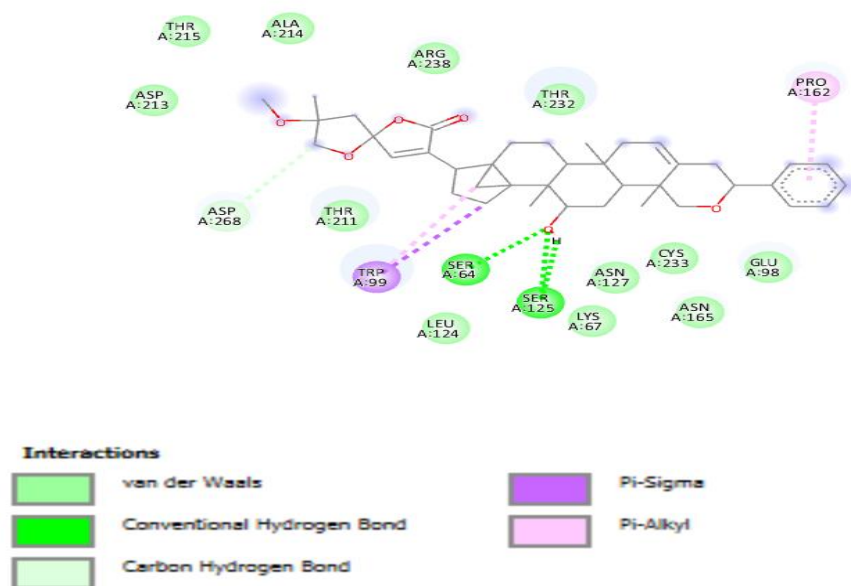


Figure 9: La présentation des interactions Protéine-NPC475417 en schéma 2D.

- À partir du criblage virtuel de la chimiothèque NPASS avec la protéine « 4QU3 », il est possible de conclure que les quatre ligands mentionnés, à savoir NPC57998, NPC55443, NPC57690 et NPC475417, ont le potentiel d'être des inhibiteurs prometteurs. Les résultats obtenus suggèrent que ces ligands ont une affinité de liaison élevée avec la protéine cible 4QU3. De plus, ils forment des complexes stables avec cette protéine, ce qui renforce leur potentiel en tant qu'inhibiteurs efficaces.
- D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que la protéine « 4QU3 » forme des complexes avec les 8 meilleurs composés qui sont plus stables que celui formé avec la molécule de référence, avec des valeurs énergétiques libres plus basses de -10 Kcal/mol.

- Nous avons constaté aussi que la quasi-totalité des ligands ont formé un nombre d'interactions supérieur à celui de l'Ertapénem en interagissant majoritairement avec le résidu SER64.

3-Propriétés physico-chimiques

3-1-La règle de Lipinski

Chaque médicament éventuel doit se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible coût de production, être soluble, stable mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité. Ainsi, en 1997, Lipinski et al, proposent ce qu'on appelle couramment la « règle de Lipinski » ou la « règle de 5 » permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure 2D. Selon cette règle un composé possède toutes les chances d'être absorbé par voie orale s'il respecte au moins 3 des 5 critères représentés dans le tableau (**Tableau 3**) [1].

3-2-Les règles de Veber

Veber a introduit deux critères supplémentaires d'après l'étude de 1100 composés candidats médicaments, la surface polaire (PSA, polar surface area) du composé doit être inférieure à 140 Å², le nombre de liaisons de rotation ("rotatable bonds" en anglais) doit être inférieur à 10 pour une bonne biodisponibilité par voie orale (tableau3) [2].

Tableau 3 : Valeurs des différentes propriétés physico-chimiques définissant la règle Lipinski et Veber

Molécule	Log p	MW	nOH, NH	N, ON	TPSA	N rotatable
Ertapénem	0.39	478.54	5	8	185.68	10
NPC474328	3.73	420.54	2	4	74.60	0
NPC57690	4.29	568.24	3	6	115.28	2
NPC476651	3.93	445.51	1	5	90.88	0
NPC55443	4.28	566.51	4	10	159.80	5
NPC57998	1.48	372.37	1	7	98.50	1
NPC58538	2.91	694.72	5	13	190.67	6
NPC 56713	3.78	734.96	6	11	175.37	5
NPC475417	4.93	614.81	1	6	74.22	3

On peut avoir à travers le (**Tableau 3**) que tous les ligands ont des LogP inférieurs à 5. Donc ils ont une bonne solubilité dans l'eau, une meilleure tolérance gastrique et une élimination efficace par les reins et une bonne perméabilité à travers la membrane cellulaire. Et pour le poids moléculaire les ligands NPC474328, NPC476651 et NPC57998 sont inférieurs à 500 DA, ainsi ils peuvent facilement passer à travers la

membrane cellulaire, sauf les autres ligands sont supérieurs à 500 DA. Tous les ligands ont des nombres accepteurs d'hydrogène inférieurs à 10 sauf les ligands NPC58538 et NPC56713, aussi tous les ligands ont des nombres donneurs d'hydrogène inférieurs à 5 sauf le ligand NPC56713.

Les résultats de calcul qui se représente dans le (**Tableau 3**) montrent que les quatre produits NPC57998, NPC55443, NPC57690 et NPC475417 sont en accord avec les règles de lipinski, ce qui suggère que ces produits théoriquement n'auraient pas des problèmes avec la biodisponibilité orale.

Les ligands NPC474328, NPC57690, NPC476651, NPC57998 et NPC475417 s'inscrivent parfaitement dans la marge des critères imposés par la règle de veber, montre que ces ligands sont capables de présenter une activité biologique sans avoir des problèmes d'absorption par voie oral.

L'analyse de ces composés permet de souligner que le produit NPC57998 se distingue en présentant le meilleur profil des propriétés physico-chimiques. En effet, ce composé respecte à la fois les règles de Lipinski et de Veber. Cela indique que le NPC57998 possède des caractéristiques favorables en termes de solubilité, de biodisponibilité et de métabolisme, ce qui en fait un candidat prometteur pour le développement de médicaments.

Références bibliographiques

- [1] Chikhi, A. Calculs et modélisations des interactions peptide deformylase – substances, microbiologie. Université Frères Mentouri, 2007.
- [2] Cecchelli, R., Berezowski, V., Lundquist, S., Culot, M., Renftel ,M., Dehouck, MP.,& Fenart, L.«Modelling of the blood-brain barrier in drug discovery and development,» Nat Rev Drug, vol. 8, p. 650–661, 2007.

Conclusion

générale

Conclusion

L'objectif majeur de notre étude était la recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs de bêta-lactamase, cible thérapeutique des maladies infectieuses. Pour ce faire, nous avons effectué un criblage virtuel par docking moléculaire avec AutoDock Vina, suivi d'une étude des propriétés physicochimiques.

Premièrement, nous avons validé le logiciel de criblage virtuel Autodock Vina pour s'assurer de la fiabilité des résultats par deux tests. Le premier test consiste à calculer le RMSD (Root Mean Square Déviation) entre la meilleure conformation du ligand simulé par Autodock vina et celle obtenue expérimentalement par cristallographie au niveau de la PDB. Avec 82% des valeurs de RMSD parfaitement dans les normes et une bonne superposition entre la pose théorique et celle expérimentale, nous pouvons conclure que le programme Autodock Vina est suffisamment fiable et peut être utilisé sans trop risque d'erreurs dans le cadre de notre étude.

Deuxièmement, une approche de criblage virtuel basée sur la structure a été effectuée à partir de la bibliothèque de produits naturels NPASS possédant 35000 composés ; Nous avons retenu les 8 meilleurs ligands ayant l'énergie libre la plus basse, ce qui se traduit par une meilleure affinité et stabilité du complexe ligand-récepteur comparativement au ligand naturel. Les différents types d'interactions établies ont été analysés à l'aide du logiciel Discovery Studio 4.0 par la visualisation des liaisons hydrogènes et hydrophobiques au sein de la cavité catalytique de l'enzyme étudiée.

Finalement, Afin de valider les meilleurs composés pour devenir des candidats médicament, il était indispensable de vérifier les propriétés physicochimiques des composés grâce au serveur SwissADME. La prédiction des propriétés physicochimiques de ces composés met en valeur le composé NPC57998 qui a présenté le meilleur profil ADME car ils respectent les deux règles Lipinski et Veber.

Ces résultats n'étant que préliminaires, ils doivent être complétés par des études expérimentales *in vivo* et *in vitro* afin de confirmer l'efficacité de l'approche *in silico* et la sécurité de cette molécule.

Annexes

Annexe 1 : Tableau RMSD de 100 complexes Protéine – ligand

Protéine	Ligand	RMSD	Protéine	Ligand	RMSD	Protéine	Ligand	RMSD
1A4Q	DPC	1.17	3HL7	I47	1.39	5ZFT	CED	2.89
1A8T	61	1.72	3HRB	I39	0.57	6BPF	NXL	2.03
1ACJ	THA	0.39	3HY7	97	1.67	6BR1	E3Y	0.82
1BNQ	AL4	1.89	3KWF	B1Q	0.48	6HOT	CIY	0.44
1G27	BB1	1.73	3M8P	65B	0.66	6M8C	IRH	1.11
1GHP	PNM	2.56	3PGH	FLP	0.53	6TH5	NBZ	0.40
1I2W	1QL	2.73	3Q7D	NPX	0.48	6W79	X77	0.85
1JJT	BDS	0.84	3QBJ	NXZ	0.45	7K2W	CEF	2.60
1JVJ	IM2	2.42	3S1Y	S1Y	1.81	7RP9	ID1	2.97
1K1J	FD2	1.54	3S79	ASD	0.36	7RPA	MER	2.72
1K22	MEL	1.2	3S7S	EXM	0.27	7RPD	1RG	2.04
1KVM	CEO	2.40	3SH9	CEF	2.46	7T7D	FDX	1.53
1TEM	ALP	2.30	3WS8	X4C	2.21			
1XGI	NST	0.75	3ZW0	FUC	0.70			
1XOE	ABX	0.95	4E00	OF1	2.63			
2ACK	EDR	0.80	4CQ0	SXS	1.16			
2BAN	357	1.23	4DLI	IRG	0.68			
2BU5	TF1	0.48	4DR9	BB2	1.01			
2CHX	90	1.35	4EBV	007	0.61			
2FDU	D1G	1.45	4GL7	OXJ	0.30			
2FJP	S14	0.49	4JE7	BB2	1.64			
2I3Z	LIR	1.11	4JPE	1M7	0.99			
2PU4	OX7	1.85	4JXS	18U	2.92			
2QDS	MCO	0.29	4L9Q	9TP	0.91			
2RJQ	BAT	1.22	4OGT	2U6	1.65			
2VOZ	C41	1.92	4OTY	LUR	1.11			
2WON	ZZE	0.88	4PES	2PJ	1.77			
2X1J	XJ1	0.65	4X69	OP0	1.97			
2ZGX	29U	0.78	4ZX4	4TL	1.30			
2ZQD	CAZ	2.41	5ACX	WL3	0.57			
3ANS	S38	1.36	5DTK	5F3	0.82			
3ANT	S82	0.80	5DTS	5F8	1.07			
3CCC	7AC	0.67	5EKK	THP	1.31			
3D0K	GWJ	1.32	5F00	5T8	0.82			
3DUX	64U	0.34	5F12	FMN	0.69			
3E3U	NVC	1.84	5G18	AZR	2.01			
3EHR	3BS	1.85	5JF1	BB2	0.66			
3EQM	ASD	0.42	5JKW	TES	0.42			
3F68	91U	0.45	5JL6	ASD	0.34			
3FMR	TN4	0.96	5JL9	ASD	0.29			
3G0B	T22	0.36	5K1V	6PX	2.70			

3G0D	XIH	0.38	5NUC	THP	0.60
3GOD	XIH	0.32	5OR6	A4K	1.51
3GRJ	G14	1.67	5UFO	87J	0.88

Annexe 2 : Tableau affinité de 386 produits

produit	affinité	produit	affinité	Produit	affinité	produit	affinité
NPC324850	-8.3	NPC473162	-8.4	NPC474261	-8.3	NPC474457	-8.3
NPC324875	-8.8	NPC473183	-8.4	NPC474265	-8.5	NPC474463	-8.4
NPC325028	-8.6	NPC473184	-8.4	NPC474268	-8.8	NPC474464	-9.3
NPC325032	-9.6	NPC473185	-8.5	NPC474276	-9.2	NPC474465	-8.3
NPC325093	-8.5	NPC473186	-8.3	NPC474281	-9.8	NPC474466	-9.2
NPC325229	-9.7	NPC473214	-8.4	NPC474286	-9.1	NPC474472	-8.3
NPC325295	-8.6	NPC473218	-8.6	NPC474286	-9.1	NPC474473	-8.4
NPC325429	-8.4	NPC473221	-8.6	NPC474290	-8.6	NPC474474	-9.1
NPC32552	-8.3	NPC473233	-8.6	NPC474297	-8.8	NPC475417	-10.1
NPC32555	-8.3	NPC473240	-8.4	NPC474300	-8.8	NPC475419	-9.2
NPC32565	-8.3	NPC473242	-8.4	NPC474301	-8.4	NPC475420	-9.3
NPC325651	-8.3	NPC473243	-8.3	NPC474311	-9.4	NPC475422	-13.5
NPC325732	-8.3	NPC473254	-8.6	NPC474313	-8.3	NPC475424	-9.7
NPC325750	-8.6	NPC473255	-8.3	NPC474315	-9.3	NPC475427	-8.9
NPC325769	-8.8	NPC473274	-8.3	NPC474318	-9.1	NPC475431	-9.0
NPC325775	-8.3	NPC473286	-8.4	NPC474327	-9.8	NPC475432	-8.6
NPC325828	-9.9	NPC473310	-9.0	NPC474328	-11.0	NPC475448	-8.7
NPC325860	-9.4	NPC473312	-8.9	NPC474343	-8.6	NPC475453	-9.0
NPC38545	-8.5	NPC473315	-9.0	NPC474345	-8.9	NPC475454	-8.6
NPC39683	-9.3	NPC473362	-9.6	NPC474357	-9.6	NPC475457	-8.6
NPC3980	-8.4	NPC473365	-8.3	NPC474370	-9.4	NPC475463	-9.9
NPC40089	-8.5	NPC473368	-9.5	NPC474378	-8.7	NPC475472	-9.3
NPC4036	-8.3	NPC473375	-8.6	NPC474379	-8.6	NPC475479	-8.4
NPC40394	-8.3	NPC473409	-8.9	NPC474390	-8.5	NPC475482	-9.0
NPC40496	-8.7	NPC474190	-8.9	NPC474396	-8.3	NPC475484	-8.7
NPC470961	-8.4	NPC474203	-9.6	NPC474397	-8.6	NPC475486	-8.5
NPC471976	-8.3	NPC474207	-8.3	NPC474398	-9.2	NPC475487	-8.7
NPC471993	-9.7	NPC474209	-8.6	NPC474399	-9.3	NPC475492	-9.1
NPC471994	-8.4	NPC474219	-8.7	NPC474401	-8.3	NPC475494	-8.3
NPC472027	-8.7	NPC474220	-8.5	NPC474404	-8.5	NPC475497	-9.5
NPC472051	-8.5	NPC474227	-8.3	NPC474410	-9.8	NPC475504	-8.8
NPC472052	-8.7	NPC474228	-8.4	NPC474415	-8.8	NPC476599	-9.2
NPC472058	-8.5	NPC474229	-8.7	NPC474417	-8.6	NPC476615	-8.3
NPC472059	-8.5	NPC474230	-8.7	NPC474418	-9.6	NPC476618	-9.3
NPC472060	-9.5	NPC474231	-8.7	NPC474420	-8.3	NPC476620	-8.7
NPC472073	-8.3	NPC474233	-8.6	NPC474422	-8.5	NPC476622	-8.5
NPC472106	-8.6	NPC474234	-8.3	NPC474423	-8.8	NPC476623	-9.1
NPC472135	-8.7	NPC474238	-8.6	NPC474436	-9.9	NPC476637	-9.1
NPC472144	-8.4	NPC474241	-9.5	NPC474440	-8.4	NPC476642	-8.6

NPC472156	-8.4	NPC474242	-8.5	NPC474441	-8.4	NPC476647	-12.4
NPC473065	-8.3	NPC474245	-8.6	NPC474442	-8.6	NPC476648	-11.4
NPC473073	-8.4	NPC474247	-8.3	NPC474448	-8.7	NPC476651	-10.3
NPC473152	-8.6	NPC474250	-9.4	NPC474454	-8.8	NPC476652	-8.3
NPC473158	-9.4	NPC474259	-9.1	NPC474455	-8.3	NPC476653	-9.1
produit	affinité	produit	affinité	produit	affinité	produit	affinité
NPC476661	-8.3	NPC55443	-10.3	NPC57141	-9.4	NPC59288	-9.6
NPC476662	-8.3	NPC55463	-9.5	NPC57163	-8.3	NPC59350	-8.4
NPC476690	-9.3	NPC55470	-8.9	NPC57362	-8.5	NPC68156	-8.3
NPC476691	-17.3	NPC55493	-8.6	NPC57453	-8.3	NPC68160	-9.0
NPC476692	-9.1	NPC55503	-9.5	NPC57469	-9.0	NPC68175	-8.6
NPC476693	-9.7	NPC55532	-9.0	NPC57484	-8.8	NPC6818	-9.2
NPC476699	-8.9	NPC55602	-9.8	NPC57586	-8.6	NPC68205	-8.6
NPC476715	-8.4	NPC55608	-8.9	NPC5767	-8.3	NPC68293	-8.5
NPC476725	-8.3	NPC55662	-9.9	NPC57690	-10.4	NPC68324	-8.7
NPC476726	-8.4	NPC5568	-8.3	NPC57744	-8.3	NPC6836	-8.3
NPC476727	-8.4	NPC55738	-9.2	NPC57751	-9.0	NPC68381	-9.4
NPC476728	-9.5	NPC55786	-8.5	NPC5778	-8.5	NPC68419	-9.3
NPC476729	-8.5	NPC55793	-9.4	NPC57812	-8.3	NPC68426	-9.2
NPC476734	-8.9	NPC55869	-8.6	NPC5786	-8.6	NPC68592	-8.8
NPC54098	-8.3	NPC55872	-8.8	NPC57954	-9.1	NPC68619	-9.1
NPC54098	-8.3	NPC55947	-9.6	NPC57976	-9.2	NPC68630	-9.6
NPC54179	-8.9	NPC55949	-9.3	NPC57998	-10.3	NPC6865	-8.8
NPC54248	-8.4	NPC55973	-8.8	NPC58001	-10.0	NPC68727	-8.5
NPC54394	-8.6	NPC56025	-8.7	NPC5802	-8.5	NPC68828	-9.4
NPC54395	-9.8	NPC56049	-8.4	NPC58029	-9.9	NPC69006	-8.3
NPC5447	-8.3	NPC56071	-9.0	NPC58052	-8.9	NPC6902	-8.5
NPC54521	-9.2	NPC56077	-8.3	NPC58053	-9.0	NPC69043	-8.6
NPC54577	-8.8	NPC56109	-9.3	NPC58063	-8.6	NPC69101	-9.7
NPC54614	-8.3	NPC56197	-8.5	NPC58190	-9.7	NPC6913	-8.5
NPC54619	-9.3	NPC56204	-8.4	NPC58200	-8.3	NPC69273	-9.6
NPC5462	-8.3	NPC56214	-8.4	NPC58219	-8.7	NPC69279	-8.3
NPC54654	-9.1	NPC5632	-8.7	NPC58223	-8.9	NPC69291	-8.8
NPC54661	-9.7	NPC56413	-8.3	NPC58267	-8.4	NPC69408	-8.7
NPC54689	-8.3	NPC56525	-9.1	NPC58370	-9.1	NPC69531	-9.1
NPC54731	-8.4	NPC56588	-9.8	NPC5840	-8.3	NPC69548	-8.4
NPC54737	-8.5	NPC56635	-8.5	NPC58448	-8.8	NPC69627	-9.1
NPC54802	-9.1	NPC56656	-9.0	NPC58538	-10.2	NPC69737	-8.5
NPC54803	-8.3	NPC5671	-8.6	NPC58631	-9.0	NPC69755	-8.5
NPC54830	-8.5	NPC56713	-10.1	NPC5864	-8.3	NPC81074	-8.4
NPC54905	-9.4	NPC56731	-8.3	NPC58653	-8.3	NPC81079	-8.6
NPC54909	-9.2	NPC56764	-8.5	NPC58685	-9.9	NPC81092	-8.4
NPC54983	-9.8	NPC56796	-9.0	NPC5871	-8.5	NPC81135	-8.5
NPC55018	-8.7	NPC56887	-8.3	NPC5883	-8.7	NPC81175	-9.3
NPC55205	-8.4	NPC56953	-8.5	NPC58942	-9.1	NPC81218	-8.7

NPC55296	-9.4	NPC56953	-8.3	NPC59033	-8.5	NPC81222	-9.1
NPC55309	-8.8	NPC56962	-9.0	NPC59162	-9.0	NPC81332	-8.4
NPC5532	-8.3	NPC57036	-8.3	NPC59170	-8.4	NPC81386	-8.5
NPC55336	-9.2	NPC57065	-9.2	NPC59239	-8.7	NPC81474	-8.9
NPC55422	-8.9	NPC57072	-8.4	NPC59269	-9.4	NPC81515	-8.8
produit	affinité						
NPC81530	-8.7						
NPC81630	-8.6						
NPC81654	-8.5						
NPC81679	-8.8						
NPC81736	-9.9						
NPC82056	-9.3						
NPC82070	-8.3						
NPC82111	-8.3						
NPC82129	-9.1						
NPC82190	-9.0						
NPC82251	-8.6						
NPC82299	-8.8						
NPC82330	-8.5						
NPC82370	-9.9						
NPC82436	-9.4						
NPC82457	-8.8						
NPC82467	-8.3						
NPC82472	-9.3						
NPC82477	-9.1						
NPC82538	-8.5						
NPC82541	-9.4						
NPC82602	-9.4						
NPC82633	-9.1						
NPC82635	-8.6						
NPC82741	-8.6						
NPC82759	-8.4						
NPC82763	-8.5						
NPC82902	-8.7						
NPC82917	-8.9						
NPC82919	-8.9						
NPC82931	-9.3						
NPC82955	-8.7						
NPC8300	-8.6						
NPC83019	-8.5						

Résumés

Résumé

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, cette démarche s'est développée pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de nouvelles molécules bioactives. Le présent travail consiste d'ailleurs à cribler virtuellement par Autodock Vina une collection de 35000 molécules disponibles dans la base de donnée NPASS (Natural Product Activity and Species Source), vis-à-vis le site actif de l'Ertapeném (bêta-lactamase) : cible thérapeutique pour le traitement de maladies infectieuses. Cette enzyme produites par des bactéries sert à hydrolyser la liaison amide du noyau β -lactame, inactivant l'antibiotique bêta-lactamine. À l'issue de ce criblage, les composés NPC57998, NPC55443, NPC57690 et NPC475417 ayant les énergies libres les plus basses sont de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus sélectifs et affins envers l'ertapeném. Une étude physicochimique par les serveurs : SwissADME, pour les NPC57998, NPC55443, NPC57690 et NPC475417 meilleurs ligands a été effectuée. Le meilleur profil a été obtenu avec la molécule NPC57998.

Mots Clés : Docking moléculaire, Criblage virtuel, Bêta-lactamase, Inhibiteur, AutoDock Vina, Affinité.

Abstract

Molecular docking virtual screening is a new approach aimed at simulating and predicting the affinity of a very large number of ligands for the active site of a given therapeutic target, this approach has developed to become, Today, a key tool in the search for new bioactive molecules. The present work consists in virtually screening by Autodock Vina a collection of 35,000 molecules available in the database NPASS (Natural Product Activity and Species Source), vis-à-vis the active site of Ertapenem (beta-lactamase): therapeutic target for the treatment of infectious diseases. This enzyme produced by bacteria is used to hydrolyse the amide binding of the β -lactam nucleus, inactivating the antibiotic beta-lactamine. As a result of this screening, the compounds NPC57998, NPC55443, NPC57690 and NPC475417 having the lowest free energies are new inhibitors theoretically more selective and affins towards ertapenem. A physicochemical study by the servers: SwissADME, for NPC57998, NPC55443, NPC57690 and NPC475417 best ligands were performed. The best profile was obtained with the molecule NPC57998.

Keywords: Molecular docking, Virtual screening, Beta-lactamase, Inhibitor, AutoDock Vina, Affinity.

ملخص

الفحص الافتراضي للالتحام الجزيئي هو نهج جديد يهدف إلى محاكاة وتتبع تقارب عدد كبير جدًا من الروابط للموقع النشط لهدف علاجي معين، وقد تطور هذا النهج ليصبح، اليوم، أداة رئيسية في البحث عن جزيئات نشطة بيولوجيًا جديدة. يتمثل العمل الحالي في قيام Autodock Vina بفحص مجموعة من 35000 جزيء متاحة في قاعدة البيانات NPASS (نشاط المنتج الطبيعي المنتج الطبيعي ومصدر الأنواع)، مقابل الموقع النشط لـ Ertapenem (beta-lactamase). الهدف العلاجي لعلاج الأمراض المعدية. يستخدم هذا الإنزيم الذي تنتجه البكتيريا لتحلية ارتباط الأמיד بنواة β اللاكتام، مما يؤدي إلى تعطيل المضاد الحيوي بيتا لاكتامين. نتيجة لهذا الفحص، فإن المركبات التي لديها أقل طاقات حرة هي مثبتات جديدة نظريًا أكثر انتقائية وآفات تجاه ertapene. تم إجراء دراسة فيزيائية كيميائية من قبل الخوادم: SwissADME، على سبيل NPC57998، NPC55443، NPC57690 وأفضل الربيطات NPC475417. تم الحصول على أفضل ملف تعريف مع NPC57998 الجزيء.

الكلمات الرئيسية : الالتحام الجزيئي، الفحص الافتراضي، Beta-lactamase، Inhibitor، AutoDock Affinity، Vina

Année universitaire : 2022-2023

Présenté par : BERKNI Israa
GHETTOUT Loubna

Exploration de la base de données NPASS pour la découverte des inhibiteurs potentiels de la bêta- lactamase par docking moléculaire

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

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, cette démarche s'est développée pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de nouvelles molécules bioactives. Le présent travail consiste d'ailleurs à cribler virtuellement par Autodock Vina une collection de 35000 molécules disponibles dans la base de donnée NPASS (Natural Product Activity and Species Source), vis-à-vis le site actif de l'Ertapéném (bêta-lactamase) : cible thérapeutique pour le traitement de maladies infectieuses. Cette enzyme produite par des bactéries sert à hydrolyser la liaison amide du noyau β -lactame, inactivant l'antibiotique bêta-lactamine. À l'issue de ce criblage, les composés NPC57998, NPC55443, NPC57690 et NPC475417 ayant les énergies libres les plus basses sont de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus sélectifs et affins envers l'ertapéném. Une étude physicochimique par les serveurs : SwissADME, pour les NPC57998, NPC55443, NPC57690 et NPC475417 meilleurs ligands a été effectuée. Le meilleur profil a été obtenu avec la molécule NPC57998.

Mots Clés : Docking moléculaire, Criblage virtuel, Bêta-lactamase, Inhibiteur, AutoDock Vina, Affinité.

Président de jury : Mr. MOKRANI.E-H (MCA – Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadrant : Mme. **CHERIET M.** (MRB-Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine CRBt.)

Examineur : Mr. BOUHDJAR Kh. (MRA-Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine CRBt.)