



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الأخوة منتوري قسنطينة

Faculté des sciences de la nature et de la vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوي و الجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

Recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la protéine inhA pour le traitement de la tuberculose pulmonaire

Présenté et soutenu par :

Le : 22 / 06 / 2023

- AZIOUNE Malek Rayene.
- TEBIB Hiba.

Jury d'évaluation :

Président du jury : CHIKHI Abdelouaheb (Professeur à UFM Constantine 1).

Rapporteur : BENSEGUENI Abderrahmane (Professeur à UFM Constantine 1).

Examineur : MOKRANI El Hassen (Maitre de conférences A à UFM Constantine1).

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Nous remercions Allah de nous avoir accordé volonté et patience pour l'accomplissement de ce travail.

*Nous voudrions dans un premier temps remercier, notre directeur de mémoire Mr **BENSEGUENI Abderrahmane**, professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine1, de nous avoir encadré, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils. Merci de nous avoir donné la possibilité de réaliser ce travail.*

*Nous remercions également Mr **MOKRANI El Hacem** maître de conférences A à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1, pour tous ses efforts, ses conseils, ses critiques et son aide scientifique et technique qui nous ont guidé tout au long ce travail.*

*Nos remerciements les plus vifs à Mr **CHIKHI Abdelouaheb** Professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1, pour le grand honneur de présider le jury de ce mémoire.*

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

Merci .



Dédicaces



Merci mon dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force et le courage de mener bien ce travail.

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :

A Mes très chers parents source de vie, d'amour et d'affection qui m'ont chaleureusement soutenu et encouragé durant ces années d'études.

A mes frères : GHAZALI , HAMZA et HAKIM.

A mes chers cousins et cousines pour leurs soutien morale et leurs conseils précieux durant cette période.

A ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité.

A ma sœurs et meilleure amie d'enfance WISSAL

Et a ma chère amie et binome de travail MALIK celle qui a partagé avec moi tous les moments d'émotions tout au long ce projet.

Hiba



Dédicaces



Merci mon dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force et le courage de mener bien ce travail.

Je tiens a dédier cet humble travail :

A mon cher père qui a toujours été à mes coté pour me soutenir et m'encourager.

A ma chère mère qui n'a jamais cessé de formuler des prières à mon égard et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

*A mon frère **WAIL** et ma sœur **RITEDJ**.*

*A ma chère tante **ANTI** pour ses conseils et sa présence constatnte pour moi et ma meilleure amie et cousine **HADIL** pour ton encouragement.*

Merci a toute ma famille et mes amis, là où je suis arrivée aujourd'hui c'est a vous.

*Sans oublié mon binome chère **HIBOUCH** pour son soutien morale, sa petience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

MALEK

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale 1

Chapitre 1 : Généralité sur la tuberculose

Introduction..... 3

1. Définition 3

2. Les formes de la tuberculose..... 3

2.1. Tuberculose extra-pulmonaire (TEP) 3

2.1.1 Tuberculose ganglionnaire..... 3

2.1.2 Tuberculose ostéoarticulaire 4

2.1.3 Tuberculose uro-génitale 4

2.1.4 Tuberculose du système nerveux central 4

2.1.5 Tuberculoses abdominales 4

2.2 Tuberculose pulmonaire (TP) 4

2.2.1 Mode de transmission et développement 4

3. Mycobacterium tuberculosis 6

4. Traitement de la tuberculose 6

4.1 Traitement préventif..... 6

4.2 Traitement curatif..... 6

Chapitre 2 : Enoyl acyl carrier protein reductase InhA

Introduction..... 9

1. Enoyl acyl carrier protein reductase (inhA)..... 9

2. Structure 9

Site actif 11

3. Les inhibiteurs de l'inhA 12

3.1 Les inhibiteurs indirects	13
3.3.1 l'isoniazide (INH)	13
3.3.2 L'Ethionamide (ETH) et le Prothionamide (PTH)	14
3.2 Les inhibiteurs directs	15
3.2.1 Le Triclosan (TCL)	15

Chapitre 3 : Docking moléculaire

Introduction.....	17
1. Docking moléculaire	17
2. Comparaison et superposition des molécules	18
2.1 Définition du RMSD	18
3. Les interactions protéine-ligand.....	19
3.1 Les liaisons hydrogènes	19
3.2 Les interactions ioniques.....	20
3.3 Les interactions hydrophobes	20
3.4 Les interactions de Van der Waals.....	20
4. Les outils du docking moléculaire	20
4.1 Le ligand	21
4.2 Le récepteur	21
4.3 Programme de docking	22
5. Le programme de docking Surflex	22

Chapitre 4 : Matériels et méthodes

1. Matériels	24
1.2 Microordinateurs.....	24
1.3 Les programmes.....	24
1.4 Les banques de données et les sites internet	25
2. Méthodes.....	26
2.1 Test de fiabilité du logiciel	26

➤ Test RMSD	26
➤ Analyse visuelle.....	27
2.2 Choix de la cible	27
2.3 Préparation de la protéine et du ligand	28
2.4 Proposition de nouveaux inhibiteurs.....	28
2.5 Prédiction des propriétés ADME	29
2.5.1 Les propriétés physicochimiques.....	29
2.5.2 Les propriétés pharmacocinétiques.....	30

Chapitre 5 : Résultats et discussion

1. Test de fiabilité	31
1.1 Test RMSD	31
1.2 Analyse visuelle	32
2. Choix et préparation de la cible	34
3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'inhA	35
3.1 Criblage virtuel des similaires	35
3.3 Etude des interactions des 3 meilleurs similaires	37
3.3.1 Etude des interactions du composé S206.....	37
3.3.2 Etude des interactions du composé S109.....	38
3.3.3 Etude des interactions du composé S804.....	39
3.2 Prédiction des propriétés ADME	40
Conclusion générale.....	43

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des figures

Figure 1 : Structure tertiaire de l'InhA. Représentation en rubans du modèle de récepteur rigide de Mtb InhA (PDB ID : 1ENY) (coloré par la structure secondaire) en complexe avec le coenzyme NADH (en gris métallique). En jaune, le feuillet β parallèle à 7 brins et en magenta les huit hélices α , reliées par des boucles (en cyan) et des tours (en blanc). L'extrémité N-terminale de la protéine est composée des hélices α 1 et α 2, et des brins β 1 à β 3, tandis que l'extrémité C-terminale est formée des hélices α 7 et α 8. Figure réalisée avec VMD (42)	10
Figure 2 : Structure de l'isoniazide	13
Figure 3 : Bioactivation de l'isoniazide par KatG et formation de l'adduit INH-NADH actif contre M. tuberculosis.....	14
Figure 4 : Structures de l'éthionamide et du prothionamide	14
Figure 5 : Mécanisme d'action de l'ETH.....	15
Figure 6 : Structure du Triclosan	15
Figure 7 : Principe général du Docking moléculaire	18
Figure 8 : La liaison hydrogène	19
Figure 9 : La liaison ionique	20
Figure 10 : Les interactions de Van der Waals.....	20
Figure 11 : La structure tridimensionnelle du complexe 2B35, générée par la PDB	28
Figure 12 : structure 2D du Triclosan.....	28
Figure 13 : Résultats du test RMSD en pourcentage (%) obtenus par Surfex a deux intervalles.....	31
Figure 14 : Superposition du ligand donné par rayon X (en jaune) et du final-0 calculé par Surfex (en bleu) du complexe 5IKR (RMSD = 0.611)	32
Figure 15 : Superposition du ligand donné par rayon X (en jaune) et du final-0 calculé par Surfex (en bleu) du complexe 6FAG (RMSD = 1.99)	33
Figure 16 : Superposition du ligand donné par rayon X (en jaune) et du final-0 calculé par Surfex (en bleu) du complexe 2BE2 (RMSD = 1.565)	33
Figure 17 : Superposition du ligand donné par rayon X (en jaune) et du final-0 calculé par Surfex (en rouge) et du oprms (en bleu) du complexe 2B35 (RMSD = 3.386, après optimisation = 1.01)	33

Figure 18 : Représentation de la chaîne A (coloré en cyan), le site actif (coloré en rouge) de la protéine inhA ainsi que le TCL (coloré en rose) et le NAD (coloré en vert). Figure générée par VMD à partir du complexe 2B35	34
Figure 19 : Représentation 2D des interactions du composé S206 au sein du site actif, à gauche sans NAD et à droite avec NAD.....	37
Figure 20 : Représentation 3D des interactions du composé S206 au sein du site actif	37
Figure 21 : Représentation 2D des interactions du composé S109 au sein du site actif, à gauche sans NAD et à droite avec NAD.....	38
Figure 22 : Représentation 3D des interactions du composé S109 au sein du site actif	39
Figure 23 : Représentation 2D des interactions du composé S804 au sein du site actif, à gauche sans NAD et à droite avec NAD.....	39
Figure 24 : Représentation 3D des interactions du composé S804 au sein du site actif	40

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les principaux programmes de docking moléculaire.....	22
Tableau 2 : Caractéristiques des deux microordinateurs utilisés.....	24
Tableau 3 : Les codes PDB des complexes inhA-inhibiteur avec leur résolution et score de docking	27
Tableau 4 : Les complexes utilisés pour l'analyse visuelle et leurs valeurs RMSD	32
Tableau 5 : Les 3 meilleurs composés, leurs affinité et leurs structures	35
Tableau 6 : Propriétés physicochimiques des similaires S206, S109, S804 et TCL ..	40
Tableau 7 : Propriétés pharmacocinétiques des similaires S206, S109, S804 et TCL	41

Liste des abréviations

2D / 3D : bidimensionnel / tridimensionnel.

Å : Angström.

ADME : Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination.

BAAR : Bacille Acido-Alcool-Résistant.

BBB perméabilité : Blood-Brain Barrier permeability.

BK : Bacille de Koch.

CYP : Cytochrome.

EMB : Ethambutol.

Enoyl ACP : Enoyl Acyl Carrier Protein.

FRB : Liaison a libre rotation.

IC50 : Inhibitory concentration 50.

INH : Isoniazide.

LogP : Coefficient de partage octanol/eau.

MD : Molecular Dynamic.

NAD/NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide / Nicotinamide Adénine Dinucléotide Hydrogéné.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PDB : Protein Data Bank.

PIT : Primo Infection Tuberculeuse.

PM : Poids Moléculaire.

PZA : Pyrazinamide.

RIF : Rifampicine.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

RMSD : Root Mean Square Diviation.

SAR : Relation Structure-Activity.

SBDD : Structure-Based Drug Design.

SBVS : Structure-based virtual screening.

SM : Streptomycine.

SNC : Système Nerveux Centrale.

TBE : Tuberculose Extra-Pulmonaire.

TCL : Triclosan.

TP : Tuberculose Pulmonaire.

TPSA : Surface polaire de la molécule

TUG : Tuberculose Uro-Génitale.

VDW : Van der Waals.

VMD : Visual Molecular Dynamics.

Introduction générale

La production d'un nouveau médicament est un processus long, complexe et trop coûteux, allant de l'identification d'une cible thérapeutique en passant par la recherche des composés actifs jusqu'aux essais cliniques [1]. Cependant les nouvelles méthodes analytiques basées sur l'informatique encore appelées "BIO-INFORMATIQUE" sont devenues aujourd'hui une autre alternative de recherche et de découverte de nouvelles molécules biologiquement actives avec les propriétés souhaitées avec en prime un gain de temps considérable et moins de dépenses d'argent [2].

Le docking moléculaire est une approche *in silico* qui fait partie de ces méthodes bio-informatiques ayant pour objectif essentiel de prédire la conformation la plus favorable d'un ligand ou inhibiteur au sein de son récepteur [3]. C'est une méthode qui est actuellement très utilisée en Drug design pour rechercher par criblage virtuel d'une banque de molécules de nouvelles molécules actives envers une cible thérapeutique donnée.

La tuberculose est une maladie infectieuse contagieuse, causée essentiellement par le pathogène *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch, déclarée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme un problème de santé publique majeur au niveau mondial [4]. L'isoniazide (INH) est l'antituberculeux de première ligne utilisé dans le traitement de cette maladie. Il est activé par l'enzyme catalase-peroxydase ou KatG de *Mycobacterium tuberculosis*. L'INH inhibe la protéine inhA une enoyl-ACP réductase appartenant au système d'élongation des acides gras FAS-II impliquée dans la biosynthèse des acides mycoliques nécessaires à la synthèse de la paroi mycobactérienne entraînant ainsi la mort de la cellule bactérienne [5]. Les traitements antibiotiques actuels sont longs et se heurtent à des problèmes d'observance et de résistance. La tuberculose résistante aux médicaments est un problème majeur dans le monde entier et le développement de nouveaux médicaments et stratégies est essentiel pour empêcher la propagation de ces souches [6].

Dans ce travail, en faisant appel au docking moléculaire et aux différentes méthodes de prédiction des propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques nous allons tenter de rechercher de nouveaux inhibiteurs de la protéine inhA qui ne nécessitent pas d'activation préalable. A ce titre nous allons réaliser un criblage d'une banque de molécules virtuelles afin de rechercher des similaires plus efficaces du triclosan qui est un inhibiteur direct de la protéine InhA agissant à de faibles concentrations mais disposant d'une faible biodisponibilité orale qui diminue son potentiel thérapeutique [7].

Dans ce travail, nous allons dans un premier temps, vérifier la fiabilité du programme de docking moléculaire par le test RMSD (root mean square deviation) suivi d'une analyse visuelle.

Dans un deuxième temps, nous allons rechercher les similaires du triclosan ayant un meilleur potentiel inhibiteur de l'enzyme InhA.

Enfin dans un troisième temps, nous allons évaluer les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des similaires afin de déterminer lequel sera susceptible de devenir un candidat-médicament.

Le mémoire englobe cinq chapitres dont les trois premiers correspondent à un aperçu bibliographique sur la tuberculose, l'enzyme InhA et le docking moléculaire. Le quatrième chapitre est consacré à la partie « Matériel et Méthodes ». Le cinquième chapitre commente les résultats obtenus. Une conclusion générale suivie des références bibliographiques clôturent le document.

Chapitre 1 :

Généralité sur la

tuberculose

Introduction

Les maladies infectieuses sont causées par des agents pathogènes tels que des virus, des bactéries, des champignons ou des parasites. Ces agents pathogènes peuvent se propager d'une personne à l'autre par contact direct ou indirect. Parmi lesquelles la tuberculose qui est une maladie infectieuse causée par la bactérie *Mycobacterium tuberculosis*, elle peut affecter les poumons, mais aussi d'autre partie du corps comme les reins, les os et le cerveau. Les symptômes incluent une toux persistante, une fièvre, une perte de poids et une fatigue.

La tuberculose pulmonaire est la forme la plus courante de la maladie où les poumons sont affectés par le bacille de KOCH, elle est déclarée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme un problème de santé publique majeur au niveau mondial.

1. Définition

La tuberculose est une maladie infectieuse contagieuse d'origine bactérienne due à une mycobactérie : *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch, qui touche le plus souvent les poumons, mais peut toucher d'autres organes (les reins, les ganglions, les os) et être disséminée dans la quasi-totalité de l'organisme [4]. Elle constitue la deuxième cause de décès par maladie infectieuse dans le monde [8]. Il existe plusieurs formes de la tuberculose, la plus courante est la tuberculose pulmonaire.

2. Les formes de la tuberculose

Il existe différentes formes de tuberculose selon la localisation et les caractéristiques bactériologiques, définies selon la nomenclature internationale OMS [9]. Selon la localisation :

2.1. Tuberculose extra-pulmonaire (TEP)

Est une infection non contagieuse, peut être associée ou non aux formes pulmonaires [10]. Elle atteint des organes autres que le poumon, le plus souvent les ganglions lymphatiques, la colonne vertébrale, les articulations, les voies génito-urinaires, le système nerveux ou l'abdomen [11].

2.1.1 Tuberculose ganglionnaire

La tuberculose ganglionnaire est la localisation extra-pulmonaire la plus fréquente [12]. La lésion est en général cervicale, unilatérale et unique.

Les ganglions cervicaux sont les plus fréquemment atteints, suivis par les ganglions médiastinaux, axillaires, inguinaux, épi-trochléens et mésentériques. La tuberculose se manifeste alors par l'apparition d'adénopathies [13].

2.1.2 Tuberculose ostéoarticulaire

La plus fréquente des localisations ostéoarticulaires est la spondylodiscite tuberculeuse, ou mal de Pott. Elle se manifeste par une atteinte vertébrale et discale avec formation d'abcès froids paravertébraux. Ils peuvent entraîner des déformations rachidiennes, des tassements, ainsi que des compressions médullaires [10].

2.1.3 Tuberculose uro-génitale

La TUG est une localisation secondaire de la maladie, qui atteint l'appareil urinaire et génital chez l'homme, cependant chez la femme l'appareil génital peut être épargné [14] et fait partie des formes rares et peu connues des tuberculoses extra-pulmonaires [15].

2.1.4 Tuberculose du système nerveux central

La tuberculose du SNC est le deuxième site le plus fréquent après la méningite tuberculeuse [16] ; qui est la forme clinique la plus fréquente de tuberculose neurologique. Elle est liée à la dissémination hématogène du bacille jusqu'aux méninges, où se formeront les granulomes.

2.1.5 Tuberculoses abdominales

La tuberculose abdominale est définie par l'ensemble des manifestations induites par l'infection par le bacille de KOCH (BK) des organes abdominaux [17]. Elle représente environ 10% des TBE. Les formes les plus fréquentes sont : la péritonite tuberculeuse ; qui touche le péritoine (paroi de la cavité abdominale) et la tuberculose intestinale ; qui touche toutes les portions du tube digestif, mais elle siège préférentiellement au niveau de la région iléo-caecale [18].

2.2 Tuberculose pulmonaire (TP)

La tuberculose pulmonaire constitue la localisation la plus fréquente et la seule forme contagieuse de la maladie [19] où les poumons sont parmi les organes susceptibles d'être affectés par le bacille de Koch [20]. C'est une infection pulmonaire commune qui sévit dans le monde entier.

2.2.1 Mode de transmission et développement

La TP est une maladie à transmission interhumaine qui s'effectue essentiellement par voie aérienne d'un sujet contagieux à un sujet indemne. L'infection se transmet à travers un aérosol

de très petites gouttelettes de sécrétions bronchiques (gouttelettes de Flugge), qui sont dispersées dans l'air lors de quintes de toux et inhalées par la personne saine en contact. Le risque de contamination dépend de la concentration des mycobactéries dans l'air ambiant, de la virulence des micro-organismes, de la durée d'exposition et de la réceptivité individuelle de la personne en contact [21].

Dans la majorité des cas, les bacilles tuberculeux sont arrêtés au niveau du nez et des bronches et bronchioles. Ils sont par la suite entraînés par les mucus vers le pharynx puis déglutis et détruits par l'acidité de l'estomac. Si quelques bacilles contenus dans ces gouttelettes parviennent au niveau des alvéoles pulmonaires, ils peuvent se multiplier et être à l'origine de ce qu'on appelle une primo-infection tuberculeuse [22].

➤ **La primo-infection tuberculeuse (PIT)** est la conséquence du premier contact du bacille tuberculeux avec un organe indemne de tout contact antérieur [23]. La multiplication de la bactérie entraîne une réponse immunitaire et une nécrose caséuse qui sont destinées à empêcher le développement des bactéries et à favoriser leur destruction [24]. La PIT est souvent asymptomatique. Elle peut aussi conduire à une discrète altération de l'état général avec fièvre modérée et asthénie. Une pleurésie sérofibrineuse, un érythème noueux ou une kérato-conjonctivite phlycténulaire sont plus rarement observés [10]. Elle peut se présenter sous deux formes :

- La primo-infection latente ou dormante : C'est la plus répandue avec 90% des cas, elle est asymptomatique, non contagieuse et se traduit par un simple virage des réactions cutanées tuberculique [25], elle persiste toute la vie et dans la majorité des cas, elle ne provoque pas de maladie, elle peut même offrir une protection contre la réinfection [26].
- La primo-infection patente : représente 10% des cas, elle est symptomatique [25], elle se développe suite à un affaiblissement du système immunitaire par maladie ou médicaments lourds. Le bacille dormant peut se réveiller et prolifère entraînant souvent les symptômes typiques de la tuberculose mais pas toujours avec des signes radiologiques et bactériologiques [27].

Dans 5% des cas la PIT peut évoluer en TB maladie dans les 2 ans qui suivent la primo-infection, cette évolution est beaucoup plus fréquente pour les patients immunodéprimés, et 5% cette évolution ne se fera que plusieurs années plus tard.

- **Tuberculose maladie (tuberculose active)** est la réactivation plus ou moins tardive de l'infection après la primo-infection tuberculose qui peut être passée inaperçue. Mais elle peut être aussi une nouvelle contamination [28]. Les patients atteints présentent souvent des signes généraux non spécifiques, tels qu'une asthénie, un amaigrissement, une dyspnée, une toux prolongée.

3. *Mycobacterium tuberculosis*

M. tuberculosis est le Bacille de Koch (BK) qui a été découvert par Robert Koch en 1882, le principal responsable de la tuberculose humaine [29].

Il a une structure générale des bactéries à Gram positif [30], se présentant sous la forme de bacilles fins, immobiles et aérobies stricts [31] qui se localisera préférentiellement dans les tissus bien oxygénés ce qui explique la prépondérance des tuberculoses pulmonaires [32]. C'est un bacille acido-alcool-résistant (BAAR), cette propriété est favorisée par les acides mycoliques (acides gras à longue chaîne) constituant la paroi cellulaire [29] conférant une haute imperméabilité de cette dernière et un faible niveau de fixation de la coloration de Gram qui leur donne la considération par défaut de bactéries Gram positives, ainsi que la résistance naturelle à certains antibiotiques usuels [22].

4. Traitement de la tuberculose

4.1 Traitement préventif

La prévention de la tuberculose passe par les mesures d'hygiène préventive et surtout par la vaccination au BCG (bacille de Calmette et Guérin) ; une souche de *Mycobacterium bovis* atténuée par un grand nombre de repiquages sur milieu bilié et glycérolé. Le vaccin est pratiqué à la naissance, avec un rappel à 6 ans en cas d'absence de cicatrice vaccinale et à tout âge devant un test à la tuberculine négatif [33,34].

Il provoque une réaction immunitaire à la fois cellulaire et humorale, avec une protection croisée contre *M. tuberculosis* [35]. Il induit donc divers degrés de protection contre la tuberculose, notamment contre sa forme prédominante, la tuberculose pulmonaire.

4.2 Traitement curatif

La TB est une maladie mortelle mais guérissable avec un traitement approprié et scrupuleusement respecté par le malade [36]. Les antituberculeux sont classés en antibiotique de première ligne (utilisés en première intention chez les tuberculeux) et antituberculeux de seconde ligne (utilisés en seconde intention) [37].

Le traitement standardisé de la TP est la polychimiothérapie. La durée du traitement est de 6 à 8 mois, répartie en deux phases :

- Une phase initiale intensive associant quatre antituberculeux (HRZE) : l'isoniazide (H), la rifampicine (R), le pyrazinamide (Z) et l'éthambutol (E), durant deux mois.
- Une phase de continuation associant H et R durant quatre mois.

Sur le marché, il existe cinq médicaments antituberculeux essentiels : Isoniazide, Rifampicine, Pyrazinamide, Streptomycine, Ethambutol [38].

L'éthambutol (EMB) : est un amino-alcool synthétique décrit en 1961. Il inhibe la biosynthèse des arabinogalactane qui entrent dans la composition de la membrane de la bactérie.

La streptomycine (SM) : est le premier antibiotique antituberculeux utilisé, il pénètre dans la membrane interne de *Mycobacterium tuberculosis* et inhibe la biosynthèse des protéines en se liant de manière irréversible à la petite sous-unité des ribosomes.

Le pyrazinamide (PZA) : est un analogue de l'isoniazide. Il s'agit également d'une prodrogue dont l'activité dépendrait d'une amidase bactérienne, il est efficace sur les bacilles intracellulaires, permet d'abrèger la durée du traitement.

La rifampicine (RIF) : un antibiotique bactéricide inhibe l'ARN polymérase ADN dépendante, entraînant ainsi la mort de la bactérie par blocage transcriptionnel. Avec l'INH, la rifampicine constitue la base de la chimiothérapie antituberculeuse.

L'isoniazide (INH) : Cette hydrazide de l'acide nicotinique est un bactéricide et antituberculeux de première intention. C'est une pro-drogue nécessitant une activation *in vivo* pour former le véritable principe actif. Il inhibe la biosynthèse des acides mycoliques qui sont des constituants essentiels de la paroi mycobactérienne ce qui entraîne la mort cellulaire. Il est activé par l'enzyme KatG de *M. tuberculosis*, une catalase-peroxydase pour ensuite inhiber la protéine inhA une enoyl-ACP réductase appartenant au système d'élongation des acides gras FAS-II impliquée dans la biosynthèse des acides mycoliques [5].

Les effets indésirables des antituberculeux sont variables, parfois imprévisibles et potentiellement graves, correspondent principalement à des atteintes du foie de type cytolytique et des troubles du système nerveux responsable de neuropathies périphériques [39].

L'objectif de la poly-antibiothérapie est d'agir de manière complémentaire sur les différentes populations de *M. tuberculosis* complexe et de prévenir l'émergence de mutants résistants. Ces mutants sont à l'origine des rechutes à bacilles résistants [40].

Les mutations impliquées dans la résistance de *M. tuberculosis* aux antituberculeux ont été mises en évidence :

- Dans des gènes codant les protéines cibles de l'antibiotique, diminuant l'affinité de la cible pour cet antibiotique ;
- Dans des gènes codant une enzyme impliquée dans l'activation de l'antibiotique, empêchant son passage de la forme pro-drogue à la forme active ;
- Ou dans une région génomique régulatrice provoquant la surexpression de la cible de l'antibiotique [41].

En se basant sur les gènes codant une enzyme impliquée dans l'activation de l'antibiotique comme le cas de l'INH, nous allons tenter de rechercher de nouveaux antibiotiques sans exigence d'activation pour le traitement des souches résistantes.

Chapitre 2 : Enoyl acyl carrier protein reductase InhA

Introduction

La tuberculose sensible aux médicaments peut être traitée efficacement avec un traitement prolongé (≥ 6 mois) de plusieurs antibiotiques. Cette stratégie de traitement complexe se heurte à des problèmes d'observance, et certains de ces médicaments, notamment l'isoniazide (INH) et la rifampicine (RIF), ont une toxicité potentielle. La tuberculose résistante aux médicaments est un problème majeur dans le monde entier et le développement de nouveaux médicaments et stratégies est essentiel pour empêcher la propagation de ces souches [42].

L'énoyl-ACP réductase dépendante du NADH a été validée comme la cible moléculaire principale de l'isoniazide, un médicament antituberculeux de première ligne (INH), qui doit d'abord être activé par la catalase-peroxydase mycobactérienne KatG en sa forme active de radical acyle.

L'inhibition d'InhA perturbe la biosynthèse des acides mycoliques qui sont des constituants centraux de la paroi cellulaire mycobactérienne. Les inhibiteurs ciblant InhA directement sans exigence d'activation seraient des candidats prometteurs pour le développement d'agents contre la menace toujours croissante des souches de *Mycobacterium tuberculosis* résistantes aux médicaments [43].

1. Enoyl acyl carrier protein reductase (inhA)

L'énoyl-ACP réductase dépendante du NADH est une protéine de 32 kDa codée par le gène *inhA* ; c'est l'une des enzymes clés impliquées dans la voie de biosynthèse des acides gras de type II de *M. tuberculosis* [43,44], principalement la synthèse des acides mycoliques qui sont des acides gras à longue chaîne (C54 à C63) α -branchés β -hydroxylés, et constituent des composants majeurs et spécifiques des mycobactéries et des genres apparentés [45]. Qui sont essentiels à la formation de la paroi cellulaire de l'agent pathogène humain *Mycobacterium tuberculosis*.

InhA catalyse la réduction des trans -2-énoyl-ACP à longue chaîne (16 carbones ou plus) dans la voie de biosynthèse des acides gras de type II de *M. tuberculosis* [43]. Cette réaction correspond à la dernière étape de l'élongation des acides gras [45].

2. Structure

L'InhA (EC : 1.3.1.9) est une énoyl-ACP réductase qui appartient à la famille des oxydoréductases dépendantes de la tyrosine, également connues sous le nom de déshydrogénases à chaîne courte, et qui utilise le NADH comme cofacteur [46]. La principale

caractéristique de cette famille est une topologie de squelette polypeptidique dans laquelle chaque sous-unité est constituée d'un seul domaine avec un noyau central qui contient un pli de Rossmann supportant un site de liaison au NADH [47].

L'enzyme InhA de *M. tuberculosis* est un homotétramère composé d'une sous-unité répétitive d'un domaine unique avec un pli de Rossmann dans le noyau qui fournit un site de liaison au NADH. La structure globale présente un repliement α/β avec une série d'hélices α flanquant un feuillet β central de multiples feuilletts β parallèles [48].

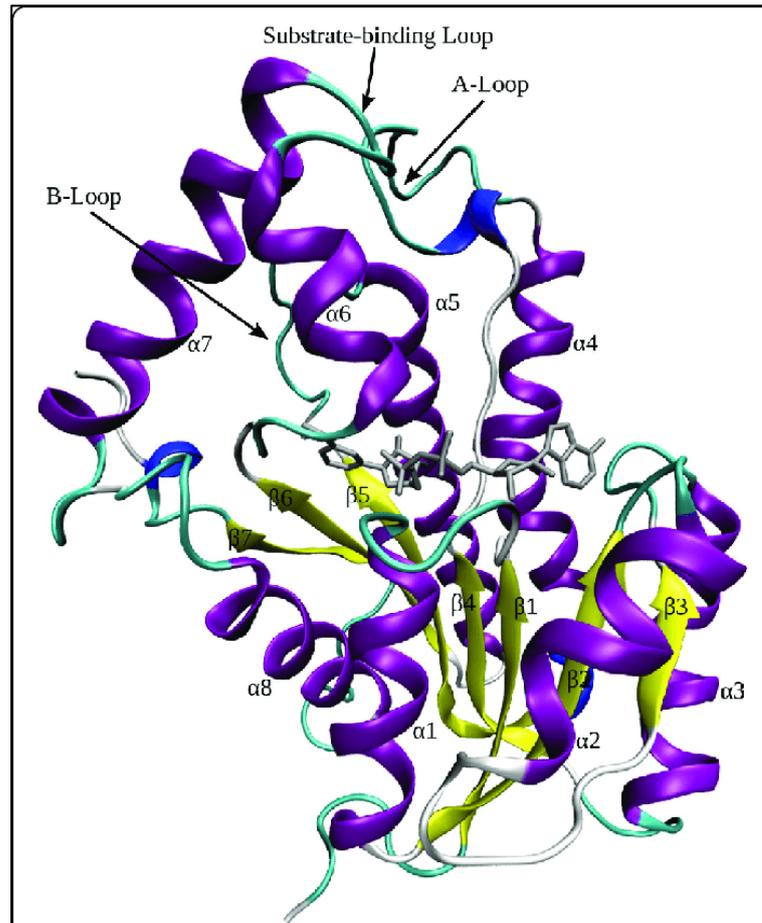


Figure 1 : Structure tertiaire de l'InhA. Représentation en rubans du modèle de récepteur rigide de Mtb InhA (PDB ID : 1ENY) (coloré par la structure secondaire) en complexe avec le coenzyme NADH (en gris métallique). En jaune, le feuillet β parallèle à 7 brins et en magenta les huit hélices α , reliées par des boucles (en cyan) et des tours (en blanc). L'extrémité N-terminale de la protéine est composée des hélices α 1 et α 2, et des brins β 1 à β 3, tandis que l'extrémité C-terminale est formée des hélices α 7 et α 8. Figure réalisée avec VMD [49]

Le domaine unique peut être décomposé en deux sous-structures reliées par une courte boucle peptidique [48] :

La sous-structure 1 : contient le domaine n-terminal qui est composé de 6 feuillets β parallèles entourés et entrelacés par 4 hélices α pour former une structure α/β centrale.

La première sous-structure peut être divisée en deux sections :

- La première section est constituée de deux feuillets β (B-1 et B-2) et deux courtes hélices α (A-1 et A-2), cette section est reliée à la deuxième section par un feuillet β (B-3) qui passe de l'autre côté de la structure et mène à la deuxième section [48].
- La deuxième section s'initie à la troisième hélice α (A-3) qui est connectée par une longue boucle à un feuillet β de 14 résidus (B-4). Une quatrième hélice α (A-4) se connecte à un cinquième feuillet β (B-5), qui est suivi d'une hélice α de 25 résidus (A-5). Cette structure se connecte ensuite à un sixième feuillet β (B-6), qui est le dernier motif structurel secondaire dans le pli de liaison du nucléotide [48].

La topologie de la sous-structure 1 ressemble à celle du pli de liaison des dinucléotides de nombreuses déshydrogénases, en ce qu'elle contient un feuillet β torsadé au centre, entouré d'hélices α [48].

La sous-structure 2 : contient la région c-terminale de la molécule et se compose d'un petit feuillet β (B-7) et de deux hélices α (A-6 et A-7) qui sont reliées par une courte boucle de cinq résidus. Une courte boucle relie le pli de liaison au nucléotide au domaine carboxyle, qui est constitué de deux autres hélices α (A-8 et A-9). L'hélice α la plus longue (A-5), pourrait interagir avec les hélices carboxyle terminales [48].

Site actif

Le site actif de l'InhA est enfoui dans une profonde crevasse délimitée d'un côté par les feuillets β (B4 et B5) et l'hélice α (A-5) du pliage de Rossmann et de l'autre côté par les hélices α (A-6 et A-7) [50].

La poche de liaison de l'InhA comprend trois régions clés occupées par les inhibiteurs : site I : catalytique ; site II : hydrophobe ; site III : hydrophile [51].

- **Le site I** : contient un acide aminé tyrosine et le groupe ribose du cofacteur nicotinamide adénine dinucléotide (NAD). Les inhibiteurs interagissent avec l'enzyme par le biais de liaisons hydrogène avec le groupe hydroxyle de Tyr et l'anneau ribose du NAD. Selon la structure chimique de l'inhibiteur, une liaison hydrogène supplémentaire est possible avec l'acide aminé méthionine [51].

- **Le site II** : est formé par la poche hydrophobe près de la chaîne latérale de Tyr. Ce site permet aux groupements hydrophobes de ses inhibiteurs de se lier à InhA par le biais d'interactions hydrophobes [51].
- **Le site III** : est relativement peu exploré, mais les anneaux hydrophobes des inhibiteurs restent proches des groupes phosphates du NAD ainsi que de Gly96 et Phe97 à une distance de van der Waals [51].

Le site de liaison des ligands est bordé par les résidus hydrophobes suivants : **tyrosine 158 (Y158), phénylalanine 149 (F149), méthionine 199 (M199), tryptophane 222 (W222), leucine 218 (K218), méthionine 161 (M161) et proline 193 (P193)** [48].

Le résidu Phe149 est situé sur le brin β S5, Tyr158 et Lys165 sont sur l'hélice H5. Tyr158 peut adopter deux conformations distinctes dans l'Apo InhA [50] :

- **La conformation in** : prise en sandwich entre Met161 et Phe149, pointant vers Lys165 dans le site actif, [50]
- **La conformation out** : pointant en dehors du site actif, vers la SBL (Substrate Binding Loop ; la boucle de liaison au substrat) [50].

La division du site de liaison du substrat de l'InhA en trois sous-sites structurels, la détermination de la conformation du résidu catalytique Tyr158 ("in" ou "out") et la présence d'une poche d'interaction passée inaperçue, formée par les chaînes latérales de Phe41 et Arg43 dans le site actif de l'InhA, qui présente la conformation "out" de Tyr158 ont ouvert la voie à l'amélioration de la conception basée sur la structure et au développement de nouveaux inhibiteurs de l'InhA [51].

3. Les inhibiteurs de l'inhA

L'inhibition de l'InhA entraîne une chute de production des acides mycoliques et donc la mort de la bactérie. Parmi les médicaments utilisés pour lutter contre la tuberculose : l'isoniazide (INH) et ses analogues thioamides ; l'éthionamide (ETH) et le prothionamide (PTH) [50] qui sont des pro-drogues indirectes qui pourraient être activées par des enzymes. C'est pourquoi l'identification d'autres molécules capables d'inhiber l'InhA directement sans activation est nécessaire telle que : les biaryl ethers représentés par le triclosan (TCL) et ses dérivés, les dérivés phénoxy-phénoliques, les dérivés de Triazole, Diazaborine [52], les inhibiteurs aryl- et oxopyrrolidine-carboxamides (GEG, Oxopyrrolidine-carboxamides, Arylamides), les dérivés de la Pyridomycine, les inhibiteurs à base de Thiadiazole et de Pyrazole.

3.1 Les inhibiteurs indirects

3.3.1 L'isoniazide (INH)

L'isoniazide (INH), est un hydrazide de l'acide isonicotinique, sa formule brute : C₆H₇N₃O.

C'est un des composés antituberculeux de première intention, Utilisé pour la première fois en 1952, et reste aujourd'hui l'une des molécules les plus efficaces pour traiter la tuberculose [50]. Il inhibe la protéine inhA avec IC₅₀ = 5.4 µM [54].

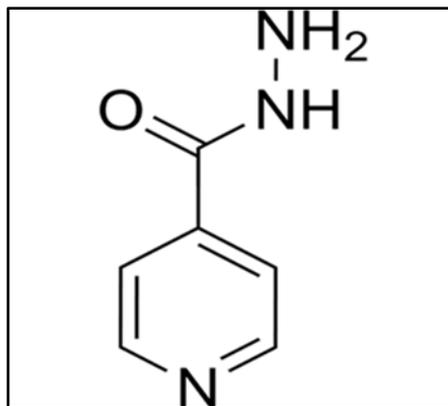


Figure 2 : Structure de l'isoniazide

· **Mécanisme d'action :**

La molécule rentre dans la cellule par diffusion passive grâce à des porines présentes au niveau de l'enveloppe bactérienne, elle n'est pas actif par elle-même, elle nécessite une activation par une enzyme catalase peroxydase bactérienne, appelée mtCP codée par le gène KatG chez *Mycobacterium tuberculosis* [53]. Cette catalase peroxydase dépendante de l'hème génère un radical libre isonicotinoyl, qui réagit avec le NADH et forme l'adduit INH-NADH [50]. Ce complexe se lie étroitement à l'Énoyl-[acyl-carrier-protein] réductase (NADH) codé par le gène InhA, bloquant ainsi le substrat naturel énoyl-AcpM et l'action antibactérienne [53].

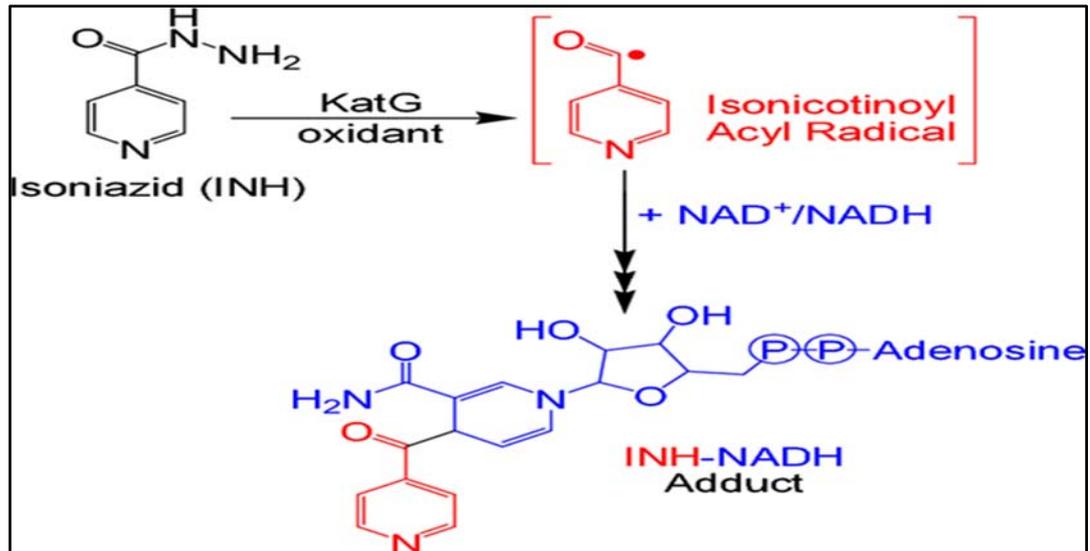


Figure 3 : Bioactivation de l'isoniazide par KatG et formation de l'adduit INH-NADH actif contre *M. tuberculosis*

3.3.2

L'Ethionamide (ETH) et le Prothionamide (PTH)

L'éthionamide (ETH) et le prothionamide (PTH), deux thioamides, très similaires, utilisés en seconde intention dans le cadre du traitement de la tuberculose.

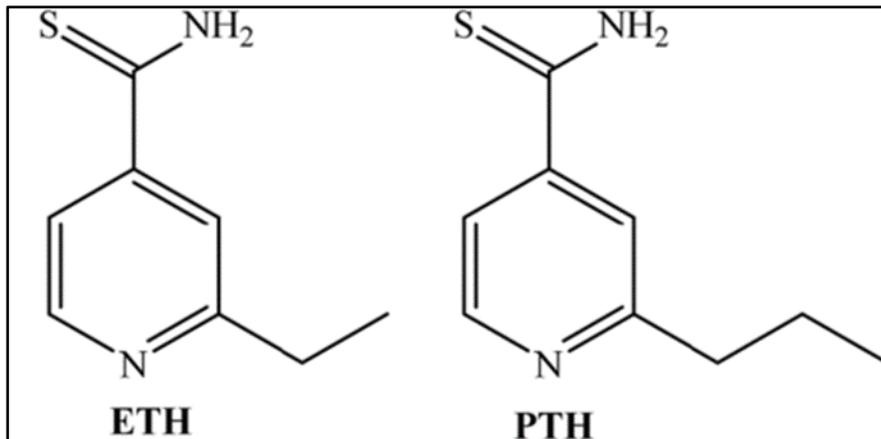


Figure 4 : Structures de l'éthionamide et du prothionamide

Mécanisme d'action :

Leur bioactivation se réalise grâce à EthA (Ethionamide Activator), une flavine mono-oxygénase régulée par EthR, a été identifiée comme l'activateur de l'ETH. Un radical libre intermédiaire, généré par deux étapes successives d'oxydation de l'ETH, réagit avec le NADPH et forme l'adduit ETH-NADH et PTH-NADH [50]. C'est sous cette forme que le produit va être actif. L'ETH et le PTH pénètrent dans la cellule par diffusion passive.

Cette utilisation en seconde ligne se justifie par le grand nombre d'effets secondaires, comparativement à l'INH qui inhibe la même cible.

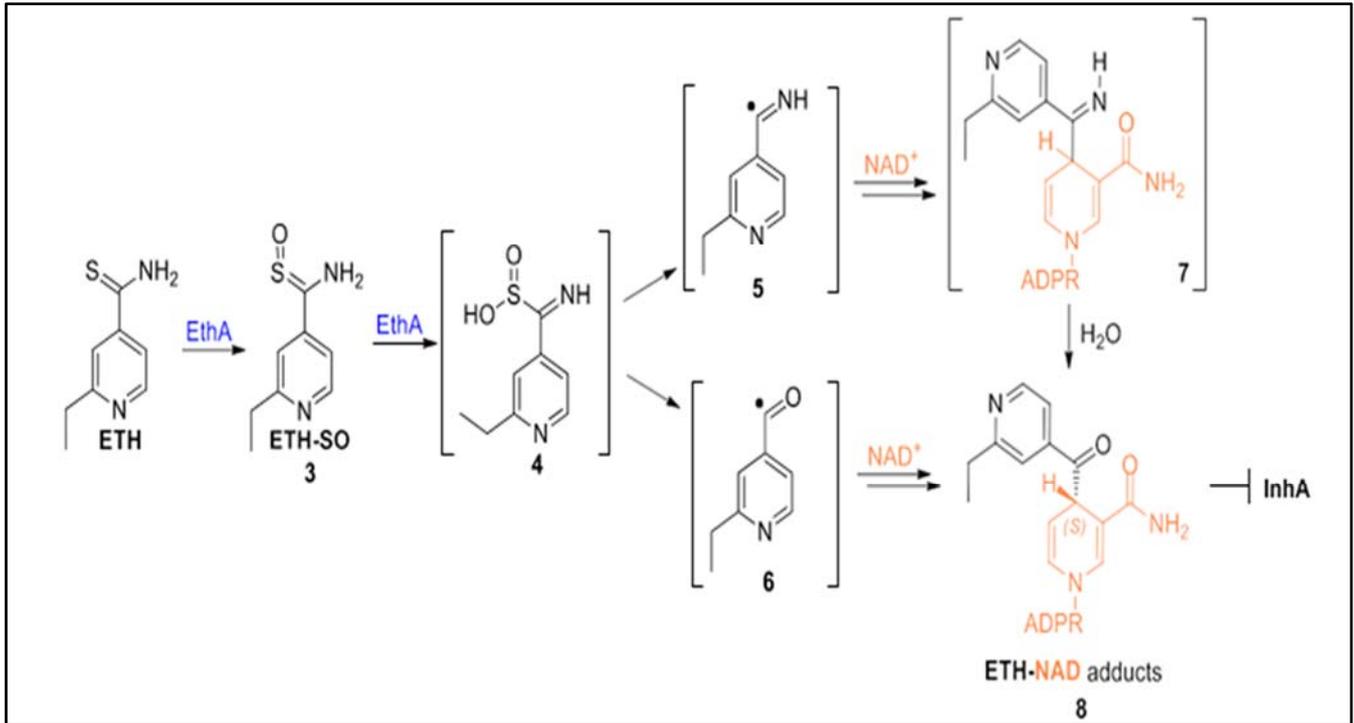


Figure 5 : Mécanisme d'action de l'ETH

3.2 Les inhibiteurs directs

3.2.1 Le Triclosan (TCL)

Le triclosan aussi appelé 5-chloro-2-(2,4-dichlorophénoxy) phénol est un biocide. Il est largement utilisé depuis les années 1970.

C'est un éther aromatique qui est un phénol substitué en C-5 par un groupe chlore et en C-2 par un groupe 2,4-dichlorophénoxy, sa formule brute $C_{12}H_7Cl_3O_2$.

Il joue un rôle en tant qu'agent antibactérien, fongicide, inhibiteur (enoyl-[acyl-carrier-protein] réductase (NADH)) avec $IC_{50} = 20 \mu\text{g mL}^{-1}$ [80].

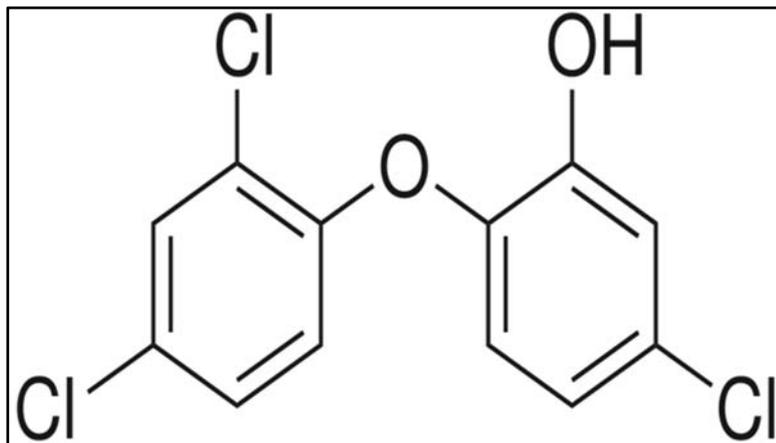


Figure 6 : Structure du Triclosan

· **Mécanisme d'action :**

Le triclosan peut être considérée comme un composé prometteur pour l'inhibition de l'InhA et la suppression de la croissance mycobactérienne, car cette molécule polychlorée ne nécessite aucune activation et est capable d'affecter directement la fonction de l'InhA [54].

La liaison du triclosan à l'InhA de type sauvage n'est pas compétitive par rapport au NADH et au trans-2-dodécénoyl-CoA [55].

Le cycle chlorophénol du TCL forme une interaction d'empilement avec le cycle nicotinamide du NADH et est lié par hydrogène au groupe phénolique de Tyr158 ainsi qu'au groupe hydroxyle O₂ du cofacteur ribose. L'anneau dichlorophényle est orienté orthogonalement à l'anneau chlorophénol, avec un atome de chlore pointant vers le groupement pyrophosphate du cofacteur tandis que l'autre est projeté vers l'entrée de la cavité de liaison, avec des contacts étroits avec les atomes de l'épine dorsale de Phe97 et Met98 [50].

Le TCL étant un inhibiteur direct, il nous intéresse particulièrement dans ce travail où nous tenterons de rechercher des similaires de ce composé plus efficaces en faisant appel à la méthode du criblage par docking moléculaire d'une banque de molécules virtuelles.

Chapitre 3 :

Docking

moléculaire

Introduction

Le processus de recherche et de développement de nouveaux médicaments est extrêmement long et coûteux, il prend environ 12 à 14 ans avec 800 millions de dollars par composé. Cependant les méthodes de découverte/conception de médicaments assistées par ordinateur jouent un rôle majeur dans le développement de petites molécules importantes sur le plan thérapeutique depuis plus de trois décennies [56].

À l'heure actuelle, plusieurs techniques de modélisation moléculaire sont disponibles pour faciliter les tâches de découverte de médicaments. Ces méthodes sont classées en deux grandes catégories : les méthodes basées sur la structure et les méthodes basées sur le ligand [56]. Le docking moléculaire est une méthode *in silico* basée sur la structure, largement utilisée dans la découverte de médicaments. Le docking permet d'identifier de nouveaux composés d'intérêt thérapeutique, de prédire les interactions ligand-cible au niveau moléculaire ou de définir les relations structure-activité (SAR), sans connaître a priori la structure chimique d'autres modulateurs de la cible [57], ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales.

1. Docking moléculaire

Le Docking ou l'amarrage moléculaire est l'une des méthodes *in silico* basées sur la structure les plus populaires et les plus efficaces, qui permet de prédire les interactions entre les molécules et les cibles biologiques. Ce processus est généralement réalisé en prédisant d'abord l'orientation moléculaire d'un ligand dans un récepteur, puis en estimant leur complémentarité à l'aide d'une fonction de score [57].

La fonction de score :

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe [58].

L'amarrage moléculaire, le criblage virtuel basé sur la structure (SBVS) et la dynamique moléculaire (MD) sont parmi les stratégies SBDD (structure-based drug design) les plus fréquemment utilisées en raison de leur large éventail d'applications dans l'analyse des événements de reconnaissance moléculaire tels que l'énergie de liaison, les interactions moléculaires et les changements de conformation induits [59].

Le criblage virtuel basé sur la structure repose sur l'amarrage d'une série de petits composés dans la poche de liaison d'une protéine (récepteur, enzyme), les mieux classées, sont renvoyées, et qu'un choix est fait sur la fraction de composés à faire avancer pour des tests en vue de l'identification d'un hit [60].

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring :

- **La première étape (le docking)** : est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables [61].
- **La deuxième étape (le scoring)** : est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées molécules [61].

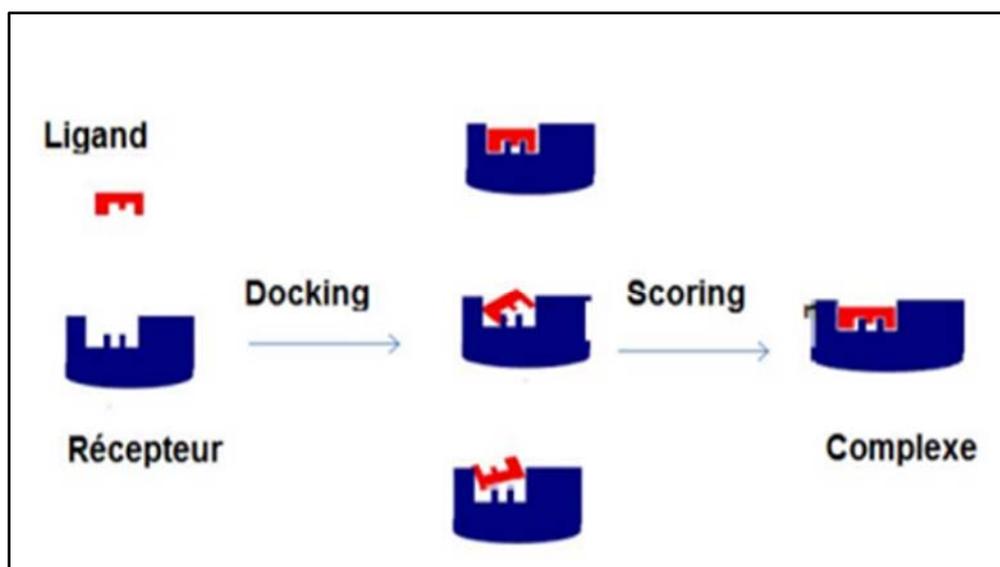


Figure 7 : Principe général du Docking moléculaire [62]

2. Comparaison et superposition des molécules

2.1 Définition du RMSD

L'écart quadratique moyen (RMSD : Root Mean Square Deviation) est la mesure quantitative la plus couramment utilisée de la similarité entre deux coordonnées atomiques superposées [63], il représente la distance moyenne entre les atomes (généralement les atomes du squelette) des protéines superposées [64]. Les valeurs RMSD sont présentées en Å et calculées par :

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n di^2}$$

Où la moyenne est calculée sur les n paires d'atomes équivalents et d_i est la distance entre les deux atomes de la i-ième paire [63].

Trois classifications RMSD différentes pour les solutions de docking :

- RMSD $\leq 2,0$ Å : bonne solution,
- RMSD est comprise entre 2,0 et 3,0 Å : solution acceptable,
- RMSD $\geq 3,0$ Å : mauvaise solution.

Pour une paire ligand-protéine, lorsqu'une pose est classée comme une bonne solution, cela signifie que la fonction de notation a reproduit l'orientation de liaison cristallographique [65].

3. Les interactions protéine-ligand

Les interactions protéine-protéine et protéine-ligand jouent un rôle clé dans l'organisation des systèmes biologiques. Elles permettent la régulation de certains processus biologiques, la transmission des signaux, ou encore la catalyse de diverses réactions biochimiques. Cependant la stabilité de ligand au sein du site actif de la protéine est gouvernée par des interactions de nature non covalente [66].

3.1 Les liaisons hydrogènes

La liaison hydrogène découle de l'interaction électrostatique entre un atome électronégatif dit "accepteur (A porteur d'une charge partielle δ^-) et un atome d'hydrogène polaire (H porteur d'une charge partielle δ^+) qui est lié de manière covalente à un atome électronégatif dit "donneur (D porteur d'une charge partielle δ^-) [67].

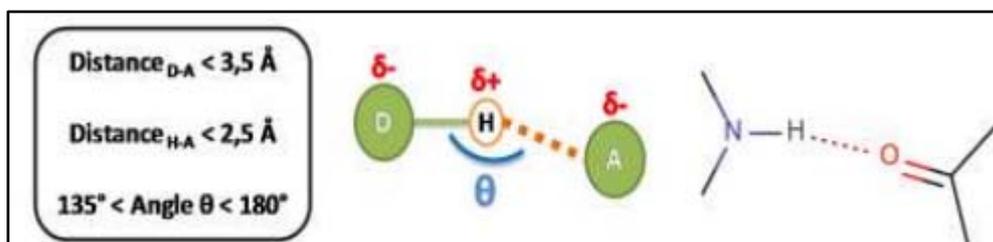


Figure 8 : La liaison hydrogène [68]

3.2 Les interactions ioniques

Les liaisons ioniques connues aussi sous le nom de ponts salins résultent d'une force d'attraction électrostatique entre deux atomes de charges opposées, la distance pour une liaison saline doit être inférieure à 4.0 - 4.5 Å et sa force reste très importante pour une interaction non covalente qui peut atteindre 10 Kcal/mol [68].

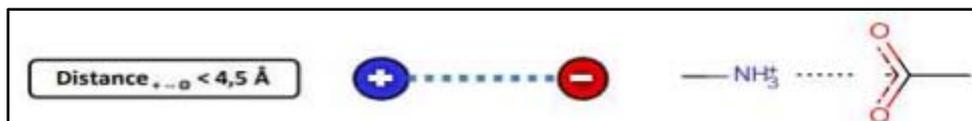


Figure 9 : La liaison ionique [68]

3.3 Les interactions hydrophobes

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. Ce type d'interactions est le plus fréquent dans les études d'interactions protéine-ligand pour augmenter l'affinité du ligand [69].

3.4 Les interactions de Van der Waals

Les interactions de Van der Waals (VdW), également connues sous le nom d'interactions de London ou de forces de dispersion, impliquent des dipôles instantanés. Elles résultent de l'interaction des nuages électroniques de deux atomes adjacents conduisant à la présence d'une force attractive. Ces attractions sont très courantes mais sont beaucoup plus faibles que les liaisons chimiques [70].

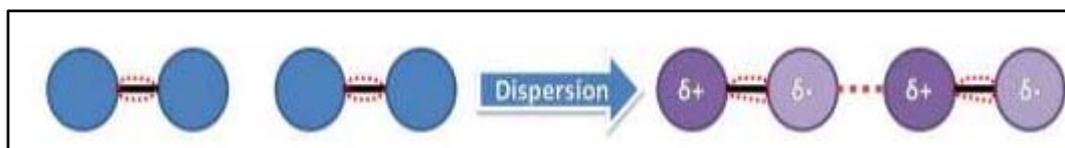


Figure 10 : Les interactions de Van der Waals [68]

4. Les outils du docking moléculaire

Les logiciels de docking sont des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique (protéine).

Les outils qui sont très utilisées en docking sont : une petite molécule qui est appelée ligand, une cible biologique d'intérêt thérapeutique appelée protéine et un programme de docking.

4.1 Le ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux. Le terme de ligand est le plus souvent utilisé en chimie de coordination et en chimie organométallique [71].

Ce terme, très utilisé pour l'étude de protéines, et qui désigne les molécules qui réagissent avec la protéine de manière non-covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans ses fonctions.

En arrimage moléculaire, le ligand doit également être sous forme 3D. A ce titre la structure des ligands est obtenue par deux moyens :

- Consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature avec possibilité de les reproduire par dessin, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....) grâce à des logiciels de construction moléculaires tels que Titan ;
- Consiste à utiliser des collections de molécules virtuelles commerciales, constituées de bases de données de structures chimiques appelés chimiothèques ou espaces chimiques telles que Pubchem, Zinc, la Chimiothèque Nationale Française...etc. [71].

4.2 Le récepteur

Le récepteur est une macromolécule, le plus souvent une protéine, un organe, une cellule ou une molécule qui assure la réception d'information. Dans le cas d'une molécule, le récepteur est une protéine spécialisée capable de se lier spécifiquement et réversiblement à une autre molécule appelée ligand [72].

La plupart des structures sont extraites de la banque de données des protéines (PDB). La PDB est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle de macromolécules biologiques, elle contient principalement des protéines mais aussi des acides nucléiques [73]. Les structures tridimensionnelles sont issues principalement de l'analyse par diffraction des rayons X, les autres par résonance magnétique nucléaire (RMN) ou de modélisations moléculaires.

Les différentes conformations tridimensionnelles sont téléchargeables sous extension pdb lisibles par les logiciels de docking et contenant diverses informations sur la protéine en question.

Actuellement la PDB compte 1 203,607 structures biologiques et est accessible facilement et gratuitement via le site : <https://www.rcsb.org/>.

4.3 Programme de docking

Un programme de docking moléculaire a pour but de prédire correctement le mode d'interaction entre deux entités chimiques, et de reconnaître parmi ceux –ci lequel est le meilleur.

Plus de 30 programmes de Docking moléculaire (commerciaux ou non) sont disponibles [74]. Les plus fréquemment cités sont respectivement : AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK et ICM.

Tableau 1 : Les principaux programmes de docking moléculaire [75]

Nom	Editeur	Site internet
AutoDock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Dock	UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred	OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/application/fred.html
Glide	Schrodinger	http://www.schorodinger.com/products/glide.html
Gold	CCDC	http://ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html

5. Le programme de docking Surflex

Les programmes de docking sont des outils très utilisés dans la modélisation moléculaire, parmi lesquels nous avons choisi le programme Surflex.

Le programme Surflex comprend deux parties. L'une pour des études de similarité tridimensionnelle des molécules, l'autre pour des études de Docking [76].

Ce programme commence par construire un modèle « en négatif » du site actif dit protomol (ou pseudo-molécule utilisée comme cible sur laquelle doit s'aligner le ligand). Surflex repose sur la fragmentation et l'ajustement de fragments du ligand sur le protomol d'où l'appellation de son algorithme de fragmentation incrémentale [76].

L'étape de Docking s'effectue suivant deux méthodes :

a. La première est une méthode incrémentale dite Hammerhead. Dans ce cas le programme fractionne le ligand et cherche à trouver le meilleur appariement pour chaque fragment, il essaye d'adapter les fragments à ceux de la pseudo-molécule. Les fragments ayant la plus haute affinité sont utilisés pour reconstruire le ligand. Pour l'étape de docking ne sont conservés que les meilleurs fragments qui s'alignent avec ceux de la pseudo-molécule [76].

b. La deuxième méthode dite 'molécule entière' reprend la même étape de fractionnement que précédemment. Le changement se fait au niveau des fragments du ligand conservés. Dans ce cas tous les fragments sont pris en compte pour la recherche de configuration optimale du ligand [76].

Le résultat est donné sous la forme des 10 meilleurs « conformères » au format **mol2**. Chaque fichier possède trois scores :

- le premier d'affinité ;
- le second correspond au degré de pénétration impropre du ligand dans la protéine appelé «crash score», plus ce score est proche de 0 plus l'interaction est favorable ;
- le troisième ou «polar score» correspond au niveau de contribution des interactions polaires [76].

Chapitre 4 :

Matériels et

méthodes

1. Matériels

Pour pouvoir réaliser notre travail qui consiste à rechercher de nouveaux inhibiteurs de la protéine inhA par docking moléculaire, nous avons utilisés différents programmes installés sur deux microordinateurs.

1.2 Microordinateurs

Les caractéristiques des deux microordinateurs utilisés dans ce travail sont rassemblées dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Caractéristiques des deux microordinateurs utilisés

	Microordinateur 1 (TOSHIBA)	Microordinateur 2 (SONY)
Mémoire (RAM)	6 Go	8 Go
Type du système	Système d'exploitation 64 bits	Système d'exploitation 64 bits
Processeur	Intel® Core™ i3-2328M CPU @ 2.20GHz 2.20GHz	Intel® Core™ i5 CPU M520 @ 2.40GHz 2.40GHz
Système d'exploitation	Windows 7 Edition Intégrale	Windows 8.1

1.3 Les programmes

Pour réaliser ce travail différents programmes ont été utilisés :

➤ **VMD (Visual Molecular Dynamics) version 1.9.1 :**

C'est un programme de visualisation moléculaire, il permet l'affichage de la structure tridimensionnelle de la molécule biologique choisie. Ce programme nous a servi à séparer les complexes protéine-ligand dans des fichiers en format **.pdb** mais également pour voir le site actif de la protéine cible.

➤ **Surflex version 1.3 :**

Logiciel principal du docking moléculaire. C'est un algorithme de docking rapide capable d'arrimer les ligands dans un environnement constitué d'acides aminés avec une bonne précision [76].

➤ **Discovery studio 2021 :**

C'est un programme de visualisation moléculaire que nous avons utilisé suite au test RMSD réalisé sur les différents complexes étudiés pour visualiser la position du ligand calculée par docking moléculaire par rapport à la pose expérimentale. Ce programme permet également de déterminer les interactions générées par les similaires étudiés dans le site actif de la protéine cible.

1.4 Les banques de données et les sites internet

➤ **PDB (Protein Data Bank) :**

La banque des données PDB est une collection des structures tridimensionnelles des complexes macromoléculaires de protéines, d'acides nucléiques, et d'autres molécules biologiques. Les structures disponibles dans cette banque ont été déterminées par des méthodes expérimentales telles que cristallographie par rayons X (rayons X), spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) ou microscopie électronique (EM) [77].

Tous les complexes utilisés dans ce travail sont téléchargés à partir de la PDB au format **.pdb** via le site : <https://www.rcsb.org/> .

➤ **PubChem :**

Est une banque de données de molécules chimiques gérée par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), branche de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis sous l'autorité de la *National Institutes of Health* (NCI) [78]. Elle répertorie des millions de composés accessible gratuitement et en ligne via le site : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Nous avons utilisé cette banque de données pour télécharger en 3D et sous le format **.sdf** tous les composés similaires à notre molécule de référence.

➤ **SwissADME :**

C'est un site internet accessible gratuitement et en ligne via le site : <http://www.swissadme.ch/> .

Il permet de prédire les paramètres ADME notamment les caractéristiques physicochimiques et les propriétés pharmacocinétiques et de déterminer la nature médicamenteuse ainsi que la compatibilité avec la chimie médicinale des petites molécules [79]. Pour ce faire, il suffit d'introduire le format SMILES du composé ou de construire sa structure pour avoir tous les informations précitées.

Dans ce travail, seuls les 3 meilleurs similaires choisis sur la base de leur score d'affinité ont été traités par ce programme.

2. Méthodes

Dans ce travail nous allons tenter de rechercher de nouveaux inhibiteurs de la protéine inhA à partir des similaires du Triclosan. Le travail s'est déroulé en 3 étapes. Dans la première étape, nous avons jugé utile de vérifier d'abord la fiabilité du logiciel de docking moléculaire Surflex par le test RMSD. Dans la deuxième étape, nous avons sélectionné à partir de la PubChem les similaires du Triclosan devant servir à réaliser le docking moléculaire pour calculer leur affinité envers la cible étudiée. Enfin, dans la troisième étape nous avons choisi les 3 meilleurs similaires sur la base de leur score afin d'étudier leurs propriétés ADME.

2.1 Test de fiabilité du logiciel

La fiabilité de Surflex a été réalisée par le test RMSD (Root Mean Square Deviation) ou l'écart quadratique moyen.

➤ Test RMSD

Le RMSD est une mesure de la distance entre la position atomique du complexe expérimental et la pose du ligand prédite par le logiciel qui doit être la plus petite possible. La prédiction est acceptable lorsque la valeur du RMSD obtenue est $\leq 2 \text{ \AA}$.

Ce test a été réalisé sur 100 complexes protéine-inhibiteur tirés arbitrairement de la PDB (voir annexe 1). Chaque complexe est téléchargé puis enregistré dans des fichiers au format **.pdb**. Pour chaque complexe, le ligand est séparé de la protéine par le logiciel VMD et enregistré au format **.pdb** en vue d'un éventuel docking par Surflex pour calculer le RMSD, en utilisant les commandes suivantes :

- **surflex-dock proto ligand.pdb protein.pdb pl**

Cette commande permet la génération du protomol (site actif) qui sera enregistré au format **.mol2** dans le répertoire correspondant.

- **surflex-dock dock ligand.pdb pl-protomol.mol2 protein.pdb**

Cette commande sert à réaliser le docking en fournissant les dix (10) meilleures positions (conformations) de chaque ligand au sein du site actif étudié, classées par ordre décroissant de leur score (Final-0, Final-1...Final-9).

- **surfex-dock rms final-0.mol2 ligand.pdb**

Cette commande permet de calculer le RMSD des atomes lourds.

- **surfex-dock oprms final-0.mol2 ligand.pdb**

Cette commande permet d'optimiser la position du ligand dans le site actif lorsque le RMSD est > 3 .

➤ **Analyse visuelle**

L'analyse visuelle venant à la suite du test RMSD permet de valider ou non la superposition du ligand expérimental et celle du ligand théorique générée par le logiciel. La visualisation a été effectuée par le programme VMD.

2.2 Choix de la cible

La protéine inhA du genre *Mycobacterium tuberculosis* est la cible thérapeutique que nous avons étudiée dans notre travail. Sa structure 3D a été téléchargée de la PDB. Il existe plusieurs structures cristallographiques du complexe « inhA-inhibiteur ». Nous avons choisi les 5 meilleurs complexes selon leur résolution et score de docking que nous avons représentés dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Les codes PDB des complexes inhA-inhibiteur avec leur résolution et score de docking

Code du complexe pdb	Code de l'inhibiteur	Résolution	Mutation
2B35	TCL	2.30 Å	NON
2B37	8PS	2.60 Å	NON
4OHU	2TK	1.60 Å	NON
4OIM	JUS	1.85 Å	NON
4OXY	1TN	2.35 Å	NON

Parmi ces complexes nous avons choisis le code **2B35**, car il présente une bonne résolution, un bon score et il comprend notre ligand de référence (TCL).

2.3 Préparation de la protéine et du ligand

Nous avons téléchargé le complexe portant le code 2B35 à partir de la PDB. Ensuite, nous avons séparé la protéine du ligand par le logiciel VMD en ne gardant que la chaîne A de la protéine, le NAD et en éliminant aussi les molécules d'eau. La protéine ainsi obtenue est enregistrée dans un fichier sous le nom « 2B35prot.pdb » alors que le ligand est enregistré sous le nom « 2B35lig.pdb ».

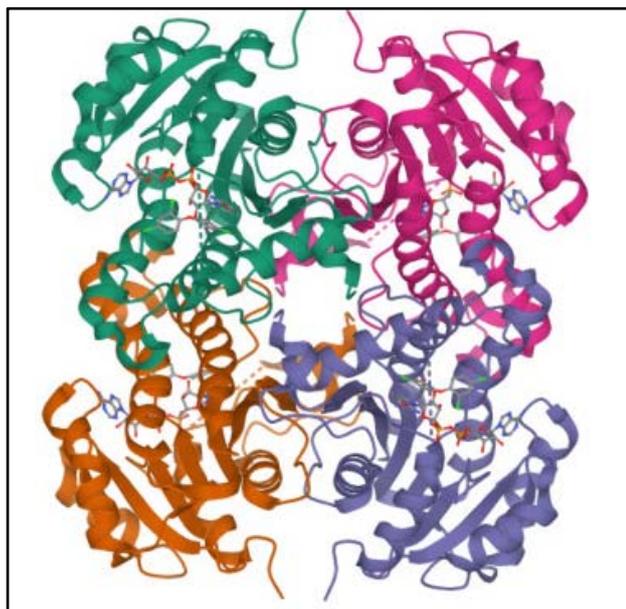


Figure 11 : La structure tridimensionnelle du complexe 2B35, générée par la PDB

2.4 Proposition de nouveaux inhibiteurs

Le triclosan est un biocide, antibactérien et un inhibiteur de la protéine inhA enoyl-[acyl-carrier-protein] réductase (NADH) avec $IC_{50} = 20 \mu\text{g mL}^{-1}$ [80]. Sa formule brute $C_{12}H_7Cl_3O_2$, il a la structure suivante :

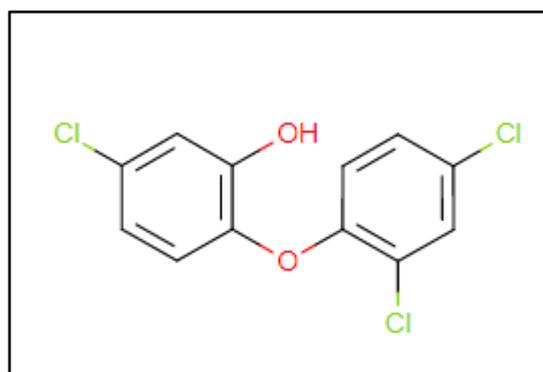


Figure 12 : structure 2D du Triclosan

Le TCL existe dans le complexe 2B35 lié à la protéine inhA. Nous l'avons utilisé comme molécule de départ car il a été récemment proposé comme un inhibiteur direct de la protéine inhA mais sa composition en chlore a diminué sa biodisponibilité orale en tant que médicament [8]. Afin d'améliorer la biodisponibilité de ce composé, il nous a semblé judicieux de choisir des similaires du TCL à partir de la PubChem en utilisant un pourcentage de similarité de 83 %. Ces derniers sont téléchargés en 3D et 2D sous format **.sdf**, pour réaliser le docking moléculaire et déterminer le ou les inhibiteur(s) présentant un score d'affinité supérieur à celui de l'inhibiteur initial.

2.5 Prédiction des propriétés ADME

Avant de proposer un composé comme médicament, il est nécessaire d'étudier les propriétés ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination) afin d'évaluer l'efficacité et la sécurité avant qu'il soit autorisé pour une utilisation sur le marché. De ce fait nous avons utilisé le serveur SwissADME pour calculer les propriétés physicochimiques et pharmacocinétique ainsi que la solubilité dans l'eau et l'accessibilité à la synthèse chimique des 3 meilleurs similaires ayant donné un score d'affinité supérieur à celui du composé de départ, le TCL.

2.5.1 Les propriétés physicochimiques

Les propriétés physicochimiques correspondent aux caractéristiques d'une substance permettant de comprendre son comportement dans le milieu biologique. Dans ce contexte sont à citer : la formule brute, le PM, Log P, TPSA, solubilité dans l'eau et accessibilité à la synthèse. Deux règles principales permettent de déterminer les caractéristiques physico-chimiques d'un composé : la règle de LIPINSKI et la règle de VEBER

➤ La règle de LIPINSKI

Énoncé en 1997 par Christopher Lipinski, elle permet d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure 2D. Selon Lipinski un composé possède toutes les chances d'être absorbé par voie orale s'il respecte au moins 3 des 5 critères suivants [81] :

- Masse moléculaire ≤ 500 g/mol.
- $\log P$ ou coefficient de partage octanol /eau ≤ 5 (entre -2 et 5).
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène ≤ 5 .
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène ≤ 10 .
- Le nombre de liaisons flexibles ≤ 15 .

LogP est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanol et dans l'eau. $\text{LogP} = \log(\text{Coct}/\text{Ceau})$. Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule.

➤ **La règle de Veber**

Veber a introduit d'autres critères pour compléter et ajuster la règle de Lipinski dans la sélection des composés :

- Le nombre de liaisons à libre rotation (FRB) ≤ 10
- La surface polaire de la molécule (PSA) $\leq 140 \text{ \AA}$. [81]

2.5.2 Les propriétés pharmacocinétiques

- **L'absorption gastro-intestinale** : est un processus clé qui doit être pris en compte lors de la conception de médicaments car c'est d'elle que dépend en grande partie l'efficacité et la biodisponibilité des composés si ces derniers arrivent à résister au pH acide de l'estomac et à traverser sans dommages le tractus gastro-intestinal.
- **La perméabilité de la barrière hémato-encéphalique** : est une barrière qui protège le cerveau contre les substances potentiellement nocives. Elle représente un obstacle que doivent franchir les médicaments destinés au traitement du système nerveux central.
- **L'inhibition des cytochromes P450** : ces enzymes sont impliqués dans le métabolisme et l'élimination des médicaments. Cependant leur inhibition peut augmenter la durée d'action des médicaments ou diminuer leur métabolisme et leur excrétion. Parmi les cinq isoformes principales de CYP (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4), le plus importants est le CYP3A4, il permet le métabolisme et l'élimination d'environ la moitié des médicaments [82].

Chapitre 5 :

Résultats et

discussion

1. Test de fiabilité

Avant de réaliser le docking moléculaire pour la recherche de nouveaux inhibiteurs de la protéine InhA, nous avons jugé utile de vérifier d'abord la performance du logiciel Surflex utilisé à cet effet, en faisant appel au test RMSD suivi d'une analyse visuelle pour valider les résultats obtenus ultérieurement.

1.1 Test RMSD

Ce test a été réalisé sur 100 complexes protéine-inhibiteur téléchargés arbitrairement de la PDB. Ce test mesure la distance entre la pose du ligand dans le complexe expérimentale et la pose prédite par le logiciel de docking moléculaire Surflex.

Les résultats du test RMSD sont représentés dans l'annexe 1.

La figure suivante représente le pourcentage des résultats RMSD des 100 complexes à deux intervalles (<2 Å et >2 Å) :

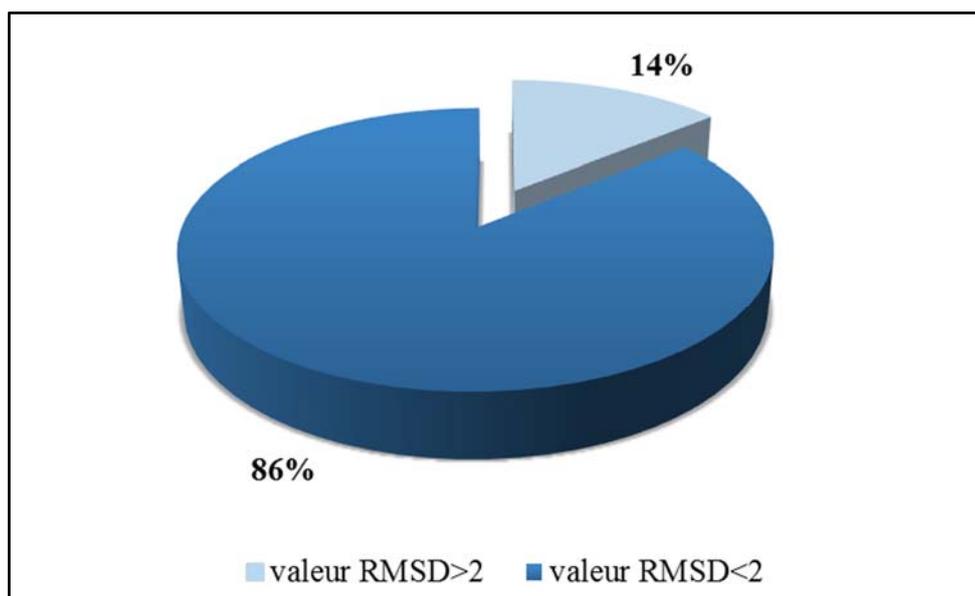


Figure 13: Résultats du test RMSD en pourcentage (%) obtenus par Surflex a deux intervalles

Ce graphe montre que 86% des valeurs sont inférieures à 2 Å et seulement 14% sont supérieures à 2 Å. Ces résultats sont corroborés par les études de Chikhi A (2007) [76] et Teniou S (2012) [83] où les RMSD < 2 Å sont respectivement de 88,4 % et 85,5%. Ceci témoigne de la fiabilité du logiciel Surflex que nous pouvons utiliser en toute confiance pour la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'InhA.

1.2 Analyse visuelle

La position prédite par le logiciel est dite optimale si d'une part la valeur du RMSD obtenue est inférieure à 2 Å et d'autre part il y a une superposition avec la pose cristallographique. Parmi les 100 complexes utilisés précédemment, nous avons choisis de manière arbitraire 4 complexes avec des valeurs de RMSD inférieures à 2 Å que nous avons regroupés dans le tableau 4 suivant :

Tableau 4: Les complexes utilisés pour l'analyse visuelle et leurs valeurs RMSD

	Code PDB	Code ligand	RMSD
Complexe 1	5IKR	ID8	0.611
Complexe 2	6FAG	EON	1.99
Complexe 3	2BE2	R22	1.565
Complexe 4	2B35	TCL	1.01

L'analyse visuelle de ces 4 complexes avec le logiciel VMD 1.9.1 (Visual Molecular Dynamics) nous a permis de comparer la pose théorique générée par le logiciel de docking moléculaire Surflex avec la pose expérimentale de la PDB. Les figures suivantes représentent pour chaque complexe la pose calculée par Surflex (colorée en bleu) et la pose expérimentale (colorée en jaune).

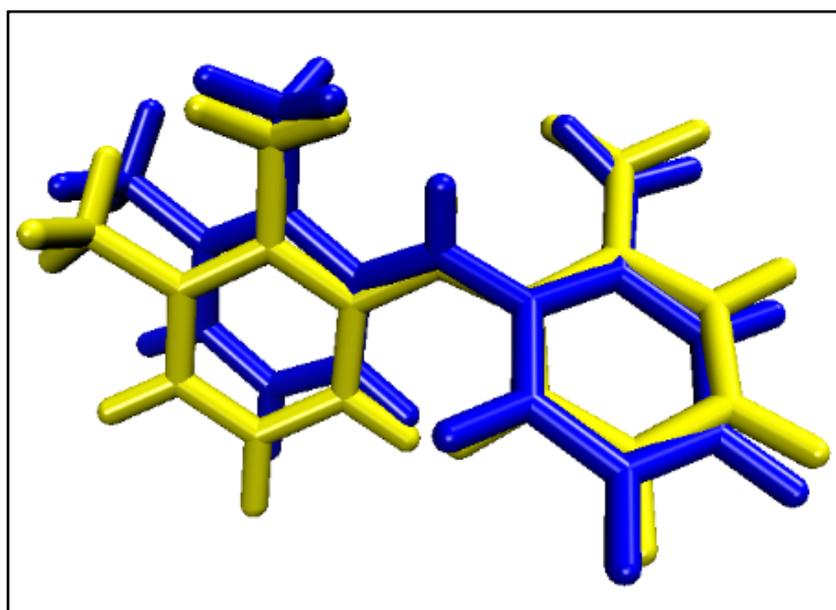


Figure 14 : Superposition du ligand donné par rayon X (en jaune) et du final-0 calculé par Surflex (en bleu) du complexe 5IKR (RMSD = 0.611)

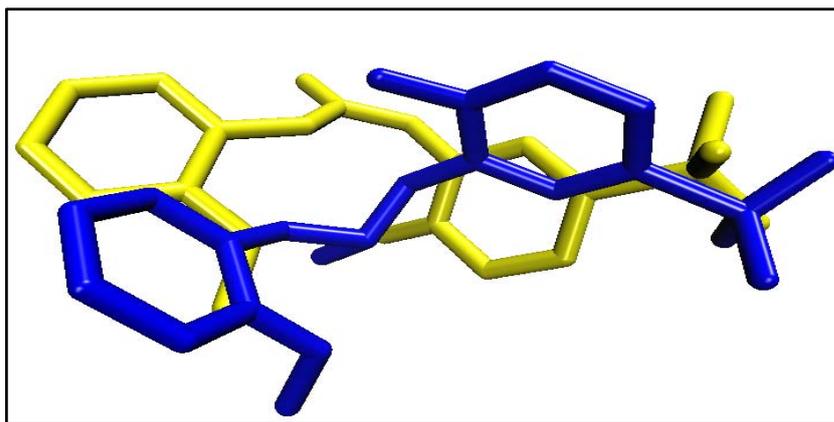


Figure 15: Superposition du ligand donné par rayon X (en jaune) et du final-0 calculé par Surflex (en bleu) du complexe 6FAG (RMSD = 1.99)

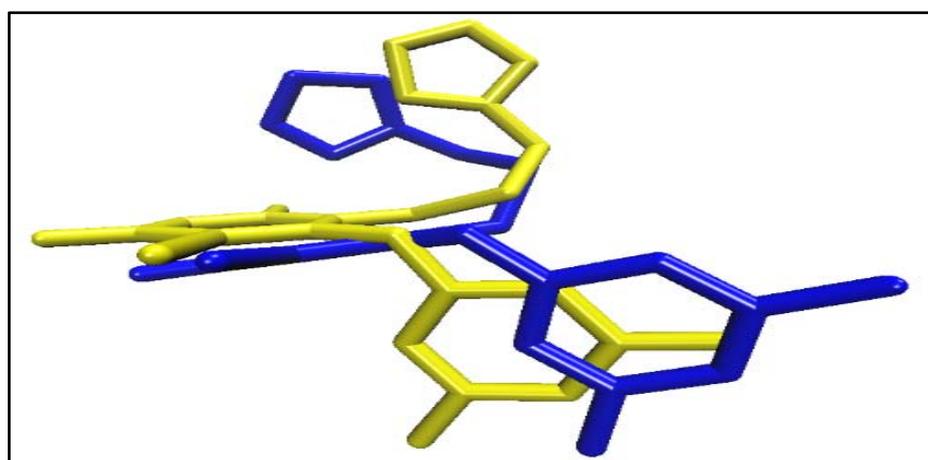


Figure 16 : Superposition du ligand donné par rayon X (en jaune) et du final-0 calculé par Surflex (en bleu) du complexe 2BE2 (RMSD = 1.565)

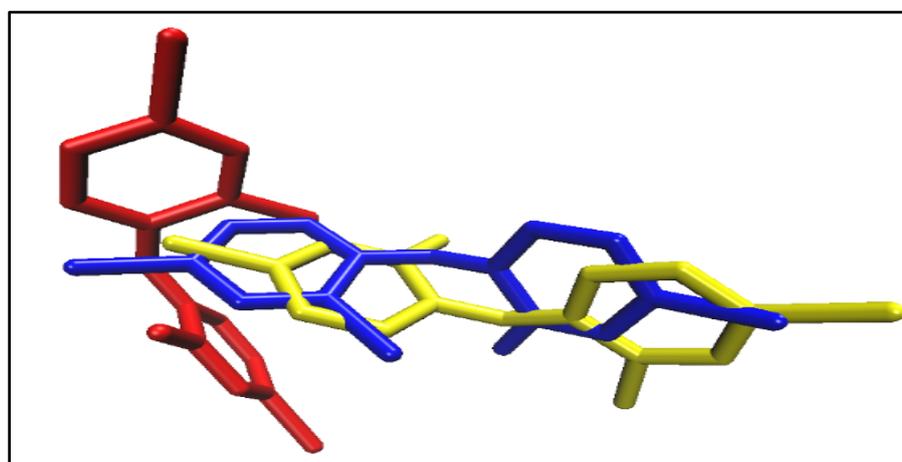


Figure 17 : Superposition du ligand donné par rayon X (en jaune) et du final-0 calculé par Surflex (en rouge) et du optrms (en bleu) du complexe 2B35 (RMSD = 3.386, après optimisation = 1.01)

Les résultats du test RMSD suivi de l'analyse visuelle montrent que le logiciel de docking moléculaire Surflex est performant de part de sa capacité à bien positionner le ligand au sein de la protéine. De ce fait il peut être utilisé en toute confiance pour réaliser notre travail de docking moléculaire sur la cible InhA.

2. Choix et préparation de la cible

Pour réaliser notre travail nous avons fait appel à la banque de données des protéines PDB afin de télécharger la protéine qui nous intéresse dans cette étude à savoir la protéine InhA ou Enoyl ACP-réductase NAD dépendante. Cette dernière est impliquée dans la synthèse des acides mycoliques nécessaires à la survie de la bactérie *Mycobacterium tuberculosis* responsable de la tuberculose chez l'homme. Au niveau de la PDB, la protéine InhA se trouve complexée au Triclosan (TCL) et au NAD sous le code 2B35.

La protéine InhA étant constituée de 4 chaînes identiques A, B, C, D et afin de faciliter les calculs de docking moléculaire, nous avons éliminé les 3 chaînes B, C, D et les molécules d'eau en utilisant le logiciel VMD. Seule la chaîne A est sauvegardée en présence de son inhibiteur le triclosan et le cofacteur NAD (Figure 18).

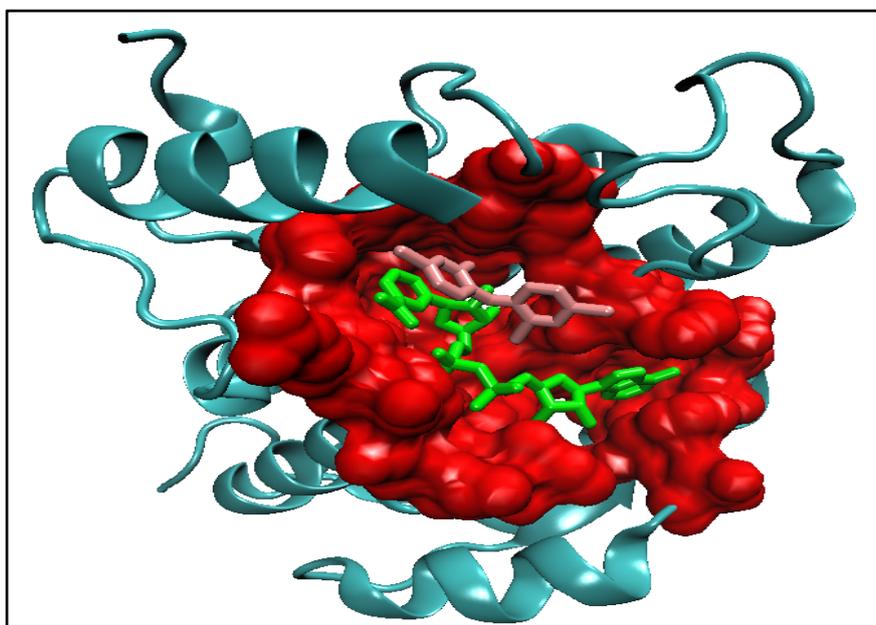


Figure 18 : Représentation de la chaîne A (coloré en cyan), le site actif (coloré en rouge) de la protéine inhA ainsi que le TCL (coloré en rose) et le NAD (coloré en vert). Figure générée par VMD à partir du complexe 2B35

3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'InhA

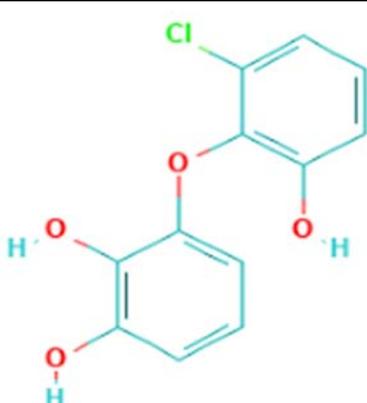
L'antituberculeux de première ligne utilisé pour le traitement de la tuberculose est l'isoniazide (INH). Ce dernier inhibe indirectement la protéine inhA nécessitant une activation enzymatique préalable. En revanche le Triclosan inhibe directement l'InhA à de faibles concentrations mais sa faible biodisponibilité orale diminue ses chances d'être un candidat-médicament (8). C'est dans ce contexte que nous envisageons, dans le cadre de ce mémoire, de rechercher de nouveaux et meilleurs inhibiteurs de l'InhA que le triclosan.

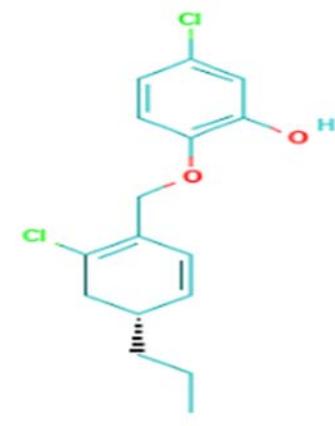
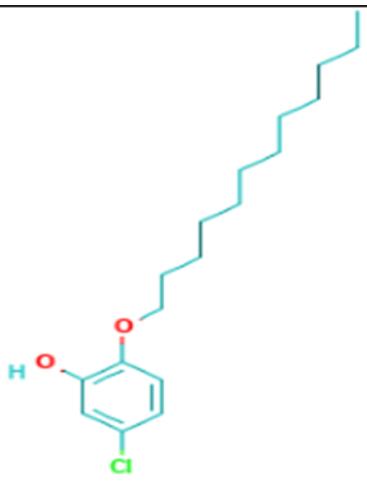
3.1 Criblage virtuel des similaires

Nous avons utilisé la chimiothèque PubChem pour télécharger les composés présentant une homologie structurale de 83% à notre ligand de référence TCL. Avec un tel pourcentage de similarité, la banque PubChem nous a fournis 1114 similaires que nous avons téléchargés en vue d'un éventuel docking moléculaire avec le programme Surflex pour évaluer leur affinité à l'égard de la protéine InhA dont les scores ont été regroupés dans l'annexe 2.

Les résultats de cette annexe montrent que 591 composés présentent un score d'affinité nettement supérieur à celui de l'inhibiteur de référence, le TCL, dont le score n'est que de 1.28. Pour des raisons pratiques, nous nous sommes limités à l'étude des 3 meilleurs composés dont le score d'affinité, la structure et le code CID sont reportés dans le tableau 5 suivant :

Tableau 5 : Les 3 meilleurs composés, leurs affinité et leurs structures

Similaires	PubChem CID	Score	Structure
S206	129865591	4,3	

S109	144534329	4,16	
S804	19014207	3,89	

Afin de déterminer le meilleur inhibiteur et de le proposer comme candidat-médicament, il est primordial d'étudier son mécanisme d'interaction avec le site actif de l'enzyme ainsi que ses propriétés ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion).

3.3 Etude des interactions des 3 meilleurs similaires

3.3.1 Etude des interactions du composé S206

La différence des scores d'affinité observée entre les 3 similaires revient au nombre et à la qualité des interactions formées entre ces composés et le site actif de l'enzyme InhA dont les détails seront décrits plus bas.

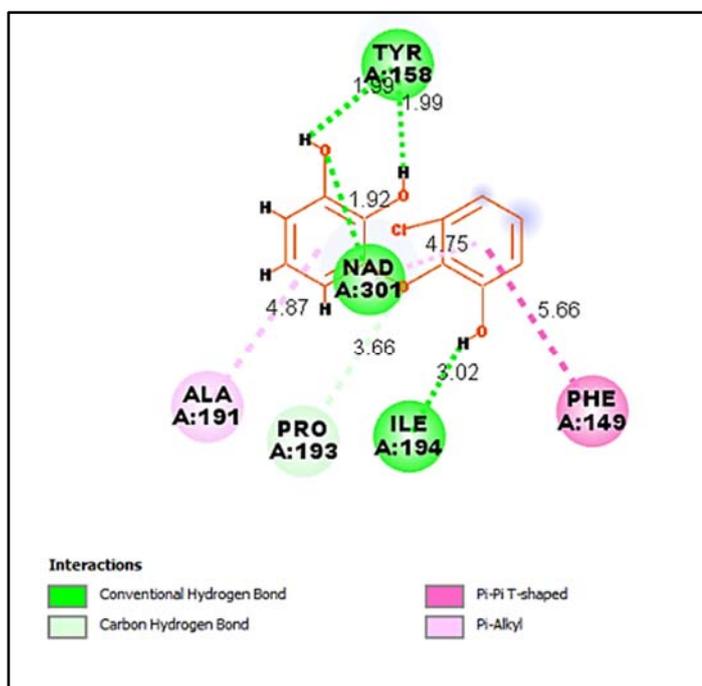


Figure 20 : Représentation 2D des interactions du composé S206 au sein du site actif avec le NAD

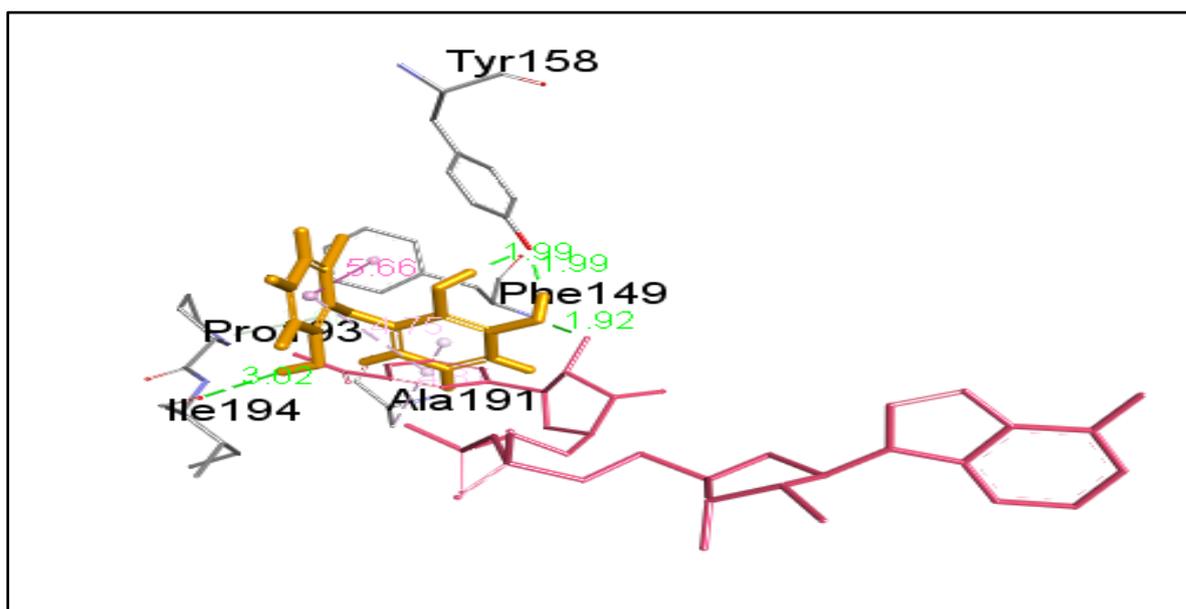


Figure 19 : Représentation 3D des interactions du composé S206 au sein du site actif

La figure 19 montre que le composé S206 forme 4 liaisons hydrogène avec le site actif de la protéine dont 2 sont formées entre 2 groupements hydroxyles du similaire S206 et le résidu TYR158 avec une distance de 1.99 Å, et la 3^{ème} entre un autre groupement hydroxyle du ligand et le résidu ILE194 avec une distance de 3.02 Å. La 4^{ème} liaison hydrogène est formée entre S206 et le NAD avec une distance de 1.92 Å. Enfin une interaction de type van der Waals a lieu entre le composé S206 et PRO193 avec une distance de 3.66 Å.

3.3.2 Etude des interactions du composé S109

Le composé S109 forme deux liaisons hydrogène avec le site actif de l'enzyme. La première est formée entre le groupement hydroxyle du composé et l'oxygène du résidu ILE194 avec une distance de 2.28 Å alors que la deuxième a lieu entre le composé S109 et le groupement hydroxyle du résidu TYR158 avec une distance de 2.76 Å. Une troisième liaison hydrogène est formée entre ce composé et le NAD avec une distance 1.40 Å. En outre, Le complexe est stabilisé par deux autres interactions de type hydrophobe sont formées entre l'oxygène du GLY192 et les groupes hydroxyles du S109 avec les distances 2.95 Å et 2.76 Å.

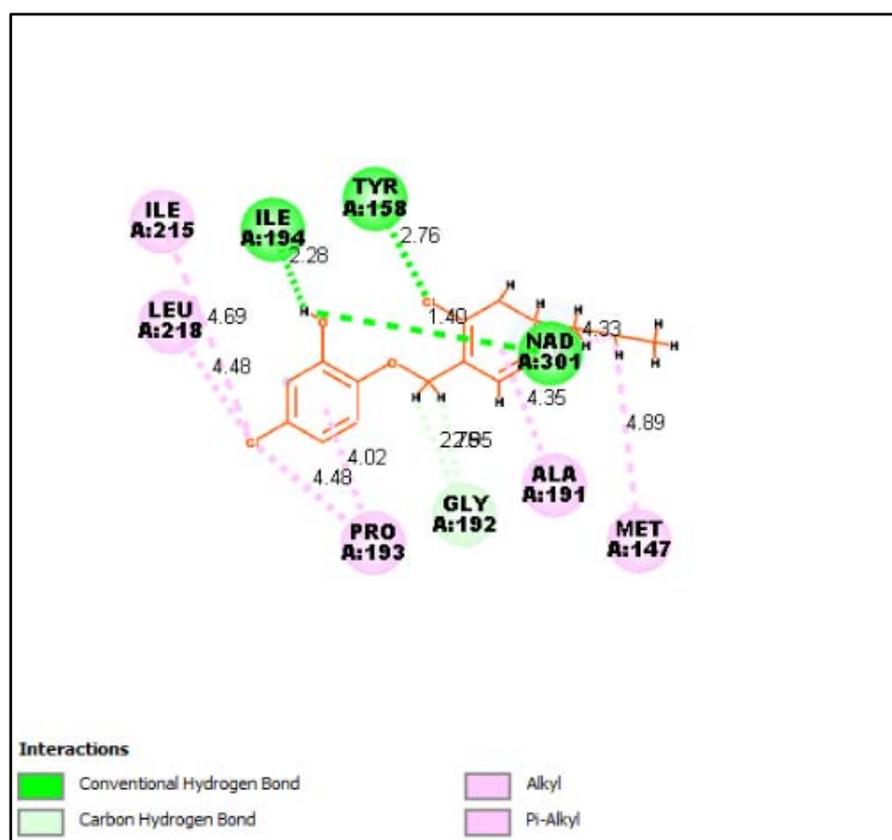


Figure 21 : Représentation 2D des interactions du composé S109 au sein du site actif avec le NAD

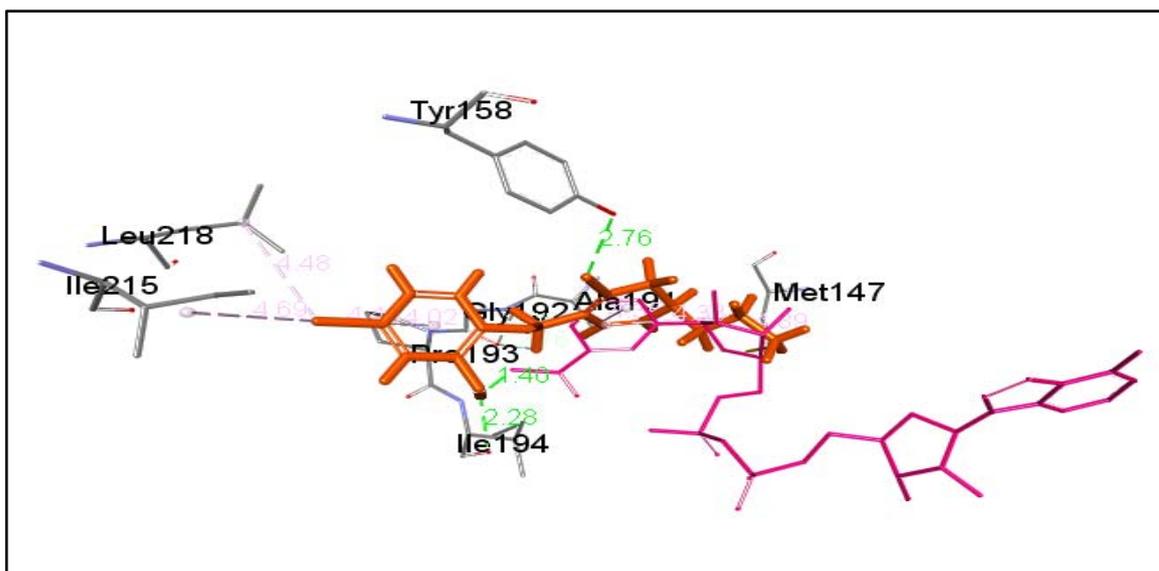


Figure 22 : Représentation 3D des interactions du composé S109 au sein du site actif

3.3.3 Etude des interactions du composé S804

La figure suivante montre que le composé S804 forme une interaction de type hydrophobe avec le résidu TYR158 avec une distance de 2.59 Å. Une autre interaction hydrophobique de type π - π stacking est formée entre les cycles aromatiques du composé S804 et le résidu PHE149 avec une distance de 4.04 Å.

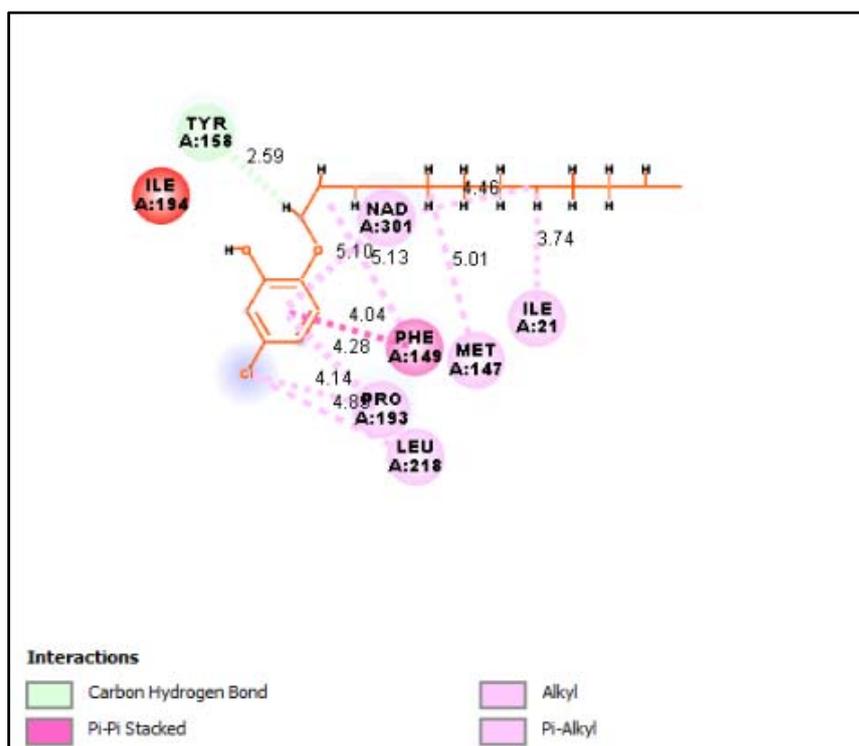


Figure 23 : Représentation 2D des interactions du composé S804 au sein du site actif avec le NAD

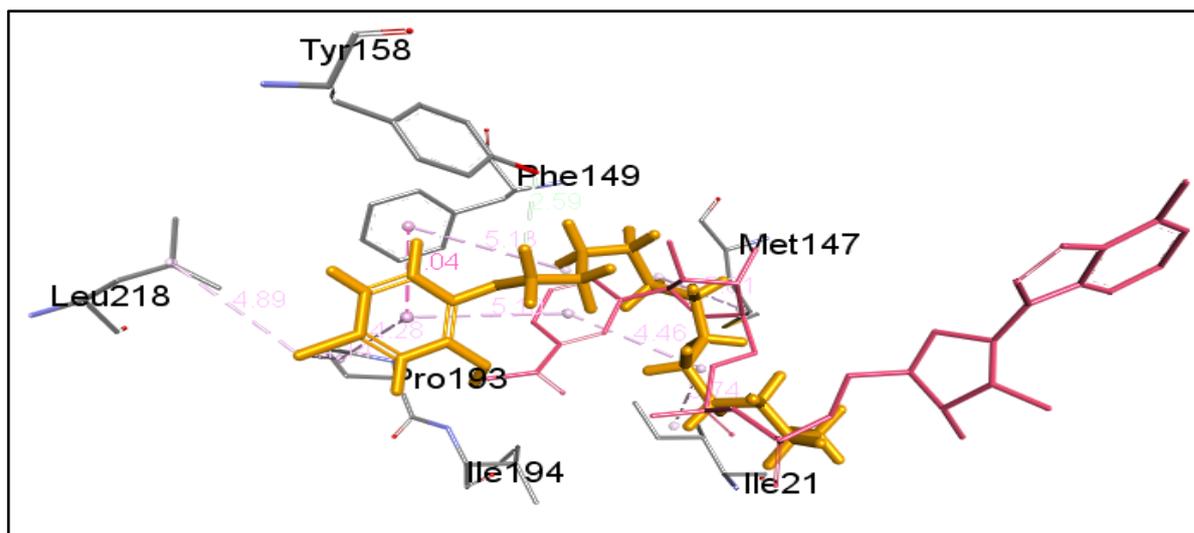


Figure 24 : Représentation 3D des interactions du composé S804 au sein du site actif

3.2 Prédiction des propriétés ADME

Les propriétés ADME des 3 meilleurs similaires (S206, S109 et S804) ont été calculées par le serveur SwissADME en comparaison avec la molécule de référence, le triclosan.

Dans un premier temps, nous avons évalué les propriétés physicochimiques (Tableau 6).

Tableau 6 : Propriétés physicochimiques des similaires S206, S109, S804 et TCL

Propriétés	S206	S109	S804	TCL
Formule	$C_{12}H_9ClO_4$	$C_{16}H_{18}Cl_2O_2$	$C_{18}H_{29}ClO_2$	$C_{12}H_7Cl_3O_2$
PM (g/mol) Poids moléculaire	252.65 g/mol	313.22 g/mol	312.87 g/mol	289.54 g/mol
nLF nombre de liaisons flexibles	2	5	12	2
nON nombre d'accepteur d'hydrogène	4	2	2	2
nOHNH nombre de donneurs d'hydrogène	3	1	1	1
Log P	2.53	4.55	5.93	4.32
TPSA Å ²	69.92 Å ²	29.46 Å ²	29.46 Å ²	29.46 Å ²

Règle de Lipinski	Oui	Oui	Oui	Oui
Règle de Veber	Oui	Oui	Non	Oui
Solubilité dans l'eau	Soluble	Moyennement soluble	Peu soluble	Moyennement soluble
Accessibilité à la synthèse	2.24	3.92	2.75	2.19

Ces résultats montrent que les 2 composés S206 et S109 comme le TCL répondent favorablement à la règle de Lipinski et Veber témoignant de leur possibilité d'être administrés par voie orale. Il en va autrement pour le composé S804 qui déroge à la règle de Veber en présentant un nombre de liaisons flexibles (nLF) supérieur à 10. Ce dernier se révèle moins soluble que le TCL et les 2 autres similaires S206 et S109. En revanche les 3 similaires et le TCL présentent de très faibles valeurs d'accessibilité à la synthèse (S209 = 2.24 ; S109 = 3.92 et S804 = 2.75) dont la difficulté va crescendo de 1 (très facile à synthétiser) à 10 (très difficile à synthétiser).

Afin d'avoir une vision la plus exhaustive possible sur les propriétés ADME des 3 similaires S209, S109 et S804, il était nécessaire d'évaluer, dans un deuxième temps, leurs propriétés pharmacocinétiques (Tableau 7).

Tableau 7 : Propriétés pharmacocinétiques des similaires S206, S109, S804 et TCL

Propriétés	S206	S109	S804	TCL
GI absorption	Elevé	Elevé	Elevé	Elevé
BBB perméabilité	Oui	Oui	Non	Oui
CYP1A2 inhibition	Oui	Oui	Oui	Oui
CYP2C19 inhibition	Oui	Oui	Non	Oui
CYP2C9 inhibition	Oui	Oui	Oui	Oui
CYP2D6 inhibition	Non	Non	Oui	Non
CYP3A4 inhibition	Oui	Oui	Non	Non

Les résultats montrent que les 3 composés comme le TCL ont une absorption gastro-intestinale élevée leur permettant de traverser facilement le tractus gastro-intestinal pour

atteindre la circulation générale. Par ailleurs les composés S206, S109 et le TCL peuvent franchir la barrière hématoencéphalique et engendrer des dommages au niveau du système nerveux et ce contrairement au similaire S804 qui lui est incapable de franchir cette barrière ce qui le place à l'avant-garde en tant qu'inhibiteur potentiel de l'InhA. Concernant l'inhibition du cytochrome P450, on constate que parmi les 5 CYPs étudiés, les 2 similaires S209 et S109 inhibent chacun 4 isoformes alors que le similaire S804 n'en inhibe que 3. Par ailleurs, il est utile de souligner que ce composé, comme le TCL, est le seul qui n'inhibe pas le CYP3A4 lequel joue un rôle important dans la métabolisation des xénobiotiques et médicaments au niveau du foie. Ceci témoigne une fois encore en faveur du similaire S804 en tant qu'inhibiteur potentiel de l'InhA. Cependant il reste à régler le problème des 3 CYPs 1A2, 2C9 et 2D6 dont l'inhibition peut être levée par optimisation de sa structure lors de la synthèse.

Conclusion générale

Notre travail consiste à proposer de nouveaux inhibiteurs de l'enzyme InhA qui est une cible thérapeutique potentielle pour le traitement de la tuberculose qui soient plus efficaces que l'inhibiteur de référence, le triclosan (TCL), et ce en faisant appel aux méthodes de simulation informatique des interactions protéine-ligand par docking moléculaire avec Surflex et de prédiction des propriétés ADME avec SwissADME.

Nous avons d'abord testé la fiabilité du logiciel Surflex en utilisant le test RMSD qui consiste à calculer la distance entre la pose du ligand générée par le logiciel et sa pose expérimentale de 100 complexes tirés arbitrairement de la PDB. Les résultats montrent que 86% des valeurs RMSD sont inférieures à 2 Å. Ce test est suivi par une analyse visuelle de quelques complexes pris au hasard mais dont les RMSD sont inférieurs à 2 Å pour confirmer la superposition du ligand expérimental et du ligand calculé par docking moléculaire avec Surflex. A partir de ces résultats nous avons pu conclure que Surflex est un programme de docking moléculaire performant qu'on peut utiliser en toute confiance pour simuler les interactions entre l'enzyme InhA et ses inhibiteurs.

Afin de rechercher de nouveaux inhibiteurs plus efficaces que le TCL, nous avons utilisé la chimiothèque PubChem où, à partir de la structure de base de ce dernier, 1114 composés ont été téléchargés avec un taux de similarité de 83% en vue de réaliser le docking moléculaire avec l'enzyme InhA par Surflex. Parmi les 1114 composés, 591 composés ont présenté un score d'affinité supérieur à celui de notre ligand de référence, le TCL dont le score est de 1.28. Dans ce travail, nous nous sommes limités aux 3 similaires ayant enregistré les meilleurs scores d'affinité (S206 = 4,3 ; S109 = 4,16 et S804 = 3,89) pour lesquels nous avons réalisé simultanément une analyse détaillée de leurs interactions avec le site actif de l'InhA en utilisant le programme de visualisation Discovery studio ainsi qu'une évaluation de leurs propriétés ADME avec le serveur SwissADME. La différence d'affinité observée entre les 3 composés a pu être expliquée par le nombre et la qualité des interactions mises en jeu par chaque similaire avec le site actif de l'enzyme.

Concernant les propriétés physicochimiques, il ressort que les similaires S206 et S109 répondent favorablement à la règle de Lipinski et Veber et ce contrairement au composé S804 dont le nombre de liaisons flexibles (supérieur à 10) est en violation avec la règle de Veber. De plus ce composé se révèle moins soluble que les autres similaires. En revanche ce composé se distingue par de meilleures caractéristiques pharmacocinétiques que les 2 similaires S206 et

S109 en présentant notamment une bonne absorption gastro-intestinale, ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique et n'inhibe pas le CYP3A4.

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

Références bibliographiques

- [1] A. Sethi, K. Joshi, K. Sasikala, et M. Alvala, « Molecular Docking in Modern Drug Discovery: Principles and Recent Applications », *Drug Discovery and Development - New Advances*, 2020, doi: 10.5772/intechopen.85991.
- [2] L. Hoffer. Développement et validation du logiciel S4MPLE : Application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du Fragment-Based Drug design. Thèse de doctorat d'université : chimoinformatique. Strasbourg : Université de Strasbourg. France. 2013. 149p.
- [3] D. Duhovny, R. Nussinov et H.J. Wolfson. Efficient unbound docking of rigid molecules, chapter of Algorithms in Bioinformatics, 2002, Volume 2452, DOI: 10.1007/3-540-45784-4_14
- [4] K. BOUSSOIRE. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs pour le traitement de tuberculose. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master, Chimie Organique. UNIVERSITÉ IBN-KHALDOUN - TIARET-2020. 65p.
- [5] F. BROSSIER. Mécanismes d'action et de résistance de l'isoniazide, un antituberculeux de première ligne. *Journal des Anti-infectieux*, Vol. 13, n° 4, Pages: 217-227. 2011.
- [6] J. Jennifer, Linderman, E. Denise et Kirschner. In silico models of M. tuberculosis infection provide a route to new therapies, *Drug Discovery Today: Disease Models*, Volume 15, Pages 37-41. 2015.
- [7] S. CHETTY. New InhA Inhibitors Based on Expanded Triclosan and Di-Triclosan Analogues to Develop a New Treatment for Tuberculosis. Vol. 14, n° 4. 2021.
- [8] F. BOULAHBAL et P. CHAULET. La tuberculose en Afrique épidémiologie et Mesures de lutte. *Med Trop* 2004 ; 64 : 224-228.
- [9] Henri-pierre MALLET et Jean-marc SEGALIN. PROGRAMME DE LUTTE CONTRE LA TUBERCULOSE EN POLYNESIE FRANÇAISE, Guide pratique à l'intention des professionnels de santé. 3ème édition – Juillet 2011.
- [10] C. BILLY et C. PERRONNE. Aspects cliniques et thérapeutiques de la tuberculose chez l'enfant et l'adulte. *Encycl Méd Chir, Mal Inf*. Mai 2004 ; 1(2) : 81-98.
- [11] D.A ENARSON, H.L RIEDER, T. ARNADOTTIR et TREBUCQ A. Prise en charge de la tuberculose Guide pour les pays à faibles revenus. 2000.
- [12] A. Ilgazli, H. Boyaci, I. Basyigit et F. Yildiz. Extrapulmonary tuberculosis: clinical and epidemiologic spectrum of 636 cases. *Arch Med Res*. 2004 Sep-Oct;35(5):435-41. doi: 10.1016/j.arcmed.2004.05.008. PMID: 15610915.

- [13] JP. Lanoix, Y. Douadi, A. Borel, C. Andrejak, Y. El Samad et JP. Ducroix. Traitement de la tuberculose ganglionnaire : des recommandations à la pratique. EMC. 2011 ; 41: 9-87.
- [14] A. Dékou¹, P.G. Konan¹, B. Kouamél, G.A. Ouegnin¹, N. C. Ackoundou², H.V. Achi³, B. Doukouré⁴, C. Vodi¹, A. Fofana¹, K. Manzan¹ et M.A. Djédjé¹. L'apport de l'imagerie dans le diagnostic de la tuberculose uro-génitale (TUG) : Une analyse de 4 observations et revue de la littérature. African Journal of Urology 1110-5704. Vol. 15, No. 3, 2009 220-226.
- [15] S. Zayet, A. Berriche, L. Ammari, M. Razgallah, R. Abdelmalek, M. Khrouf, B. Kilani et HT. Benaissa. Caractéristiques épidémiocliniques de la tuberculose génitale chez la femme tunisienne: une série de 47 cas [Epidemioclinical features of genital tuberculosis among Tunisian women: a series of 47 cases]. Pan Afr Med J. 2018 May 29; 30:71.
- [16] PN. Koffi, O. Ouambi, N. El Fatemi et R. El Maaquili. Tuberculome cérébral un challenge diagnostique : à propos d'un cas et mise au point [Cerebral tuberculoma a diagnostic challenge : case study and update]. Pan Afr Med J. 2019 Apr 10; 32:176.
- [17] R. Dafri, F. Imani. Tuberculose abdominale. Encyclopédie Médico-Chirurgicale. Editions Scientifiques et médicales. Elsevier SAS, Paris, Radiodiagnostic Appareil digestif, 33-010-A-30,2001 :12p.
- [18] W. Ketata, W.K. Rekik, H. Ayadi et S. Kammou. Les tuberculoses extrapulmonaires. Revue générale. 2014; 71: 83-92.
- [19] S. Toujani, N. Ben Salah, J. Cherif, M. Mjid, Y. Ouahchy, H. Zakhama, J. Daghfous, M. Beji, N. Mehiri-Ben Rhouma et B. Louzir. La primo-infection et la tuberculose pulmonaire. Revue de Pneumologie Clinique. Volume 71, Issues 2–3. 2015. Pages 73-82. ISSN 0761-8417.
- [20] E. Ben Jemia, Y. Aloulou, H. Ourtani, Y. Ben Attig, J. Ben Ammar, M.S. Boudaya, H. Zaibi et H. Aouina. Tuberculose multifocale versus tuberculose pulmonaire : quelles particularités ? Revue des Maladies Respiratoires Actualités. Volume 15, Issue 1. 2023. Page 270. ISSN 1877-1203.
- [21] A. DOUMBIA. Place De la tuberculose dans le service de Médecine Interne du CHU du Point G de 2006 à 2010. MEMOIRE de fin D'étude en vue de l'obtention du certificat d'Études Spécialisées CES en Médecine interne. Université des Sciences, des Techniques et des technologies de Bamako (USTTB), Mali. 2013. 100p.
- [22] N.H. RATOvonIRINA. Etudes descriptive, épidémiologique, moléculaire et spatiale des souches Mycobacterium tuberculosis circulant à Antananarivo, Madagascar. Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay et de l'Université d'Antananarivo, préparée à

- l'Université Paris Sud 11 École doctorale n°577, Structure et dynamique des systèmes vivants Spécialité de doctorat : Sciences de la vie et de la santé. 2017. 171p.
- [23] K. Adonisie. Etude bibliographique de la tuberculose au Mali de 1981 à 2003. Thèse en médecine. Université de Bamako. 2004.
- [24] M. MADIGAN. et J. MARTINKO. Biologie des micro-organismes. 11ème Ed. Brock. 2006. p 864-866.
- [25] J.P Flandrois. Mycobacterium tuberculosis. Bactériologie médicale collection Azay presse universitaire de Lyon. 1997.
- [26] P. SINGLETON. Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6ème Ed. Dunod. Paris. 2005. p 323,324.
- [27] V.P BODONIRINA. Place de l'examen des crachats dans le diagnostic de tuberculose pulmonaire au CSBII Ekar Imady. Thèse de doctorat en médecine, Université d'Antananarivo. 2012. N°8359. 127 p.
- [28] PRESCOTT, HAARLEY, KLEIN, WILLEY, SHEWOOD et WOOLVERTON (2010) Microbiologie. 3ème Ed. Boeck. p 951-954.
- [29] M. Madigan et J. Martinko. Maladies infectieuses à transmission interhumaine. In: Biologie des micro-organismes. Pearson. France. 2007 ; 393-864.
- [30] L. Leminor et M. Véron. Bactériologie médicale 2ème ed. Flammarion médecine sciences. 1989.
- [31] H. Bousseboua. Element de Microbiologie. Glossaire, Algérie, 2005 ; 299.
- [32] Deschaseaux C. Epidémiologie moléculaire de la tuberculose : Etude des souches de Mycobacterium tuberculosis par la technique IS611 O-RFLP. Université Henri Poincare, Nancy 1. 2005. 120 p.
- [33] M. Bouziani. Les pathologies infectieuses : aspects épidémiologiques et prophylactique .Edition : Dar el Gharb. Algerie, 2002. p : 9-106.
- [34] W.Y Ayele, S.D Neill, J. Zinsstag, M.G Weiss et I. Pavlik. Bovine tuberculosis: an old disease but a new threat to Africa. 2004. Int J Tuberc Lung Dis 8:924- 937.
- [35] C. Fordham von Reyn et J. Vuola. New vaccines for the prevention of tuberculosis. Clinical Infectious Diseases. 2002. Vol 35. P: 465-474.
- [36] WHO. 2015. Global Tuberculosis report 2015.
- [37] NCCLS. (2003). Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardia, and other aerobic actinomycetes ; apporved standard. NCCLS, Wayne, Pennsylvania. Vol 23.
- [38] N. Ait-Khaled et E. Donald. Bactériologie de la tuberculose In : Tuberculose manuel pour les étudiants en médecine. France. 1999.

- [39] K. Aouam, A. Chaabane, C. Loussaïef, F. Ben Romdhane, N.-A. Boughattas et M. Chakroun. Les effets indésirables des antituberculeux : épidémiologie, mécanismes et conduite à tenir. *Médecine et Maladies Infectieuses*. Volume 37, Issue 5. 2007. Pages 253-261.
- [40] H. Bouheraoua. La tuberculose en 2011-2012 dans le service de médecine de l'établissement public de santé national de fresnes (epsnf). Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine. Université paris diderot - paris 7 faculté de médecine. 2013. 127p.
- [41] M.H Hazbõn, M.I Del Valle, M. Guerrero et al. Role of embB codon 306 mutations in *Mycobacterium tuberculosis* revisited: a novel association with broad drugresistance and IS6110 clustering rather than ethambutol resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2005. Vol 49. P: 3794-3802.
- [42] JJ. Linderman, DE. Kirschner. *In silico* models of *M. tuberculosis* infection provide a route to new therapies. *Drug Discov Today Dis Models*. 2015. Spring; 15:37-41.
- [43] X. He, A. Alian et PR. Ortiz de Montellano. Inhibition of the *Mycobacterium tuberculosis* enoyl acyl carrier protein reductase InhA by arylamides. *Bioorg Med Chem*. 2007 Nov 1;15(21):6649-58.
- [44] *Revue médecine/sciences*. (1994). Comment les mycobactéries résistent à l'isoniazide. n° 5 vol. 10. Page 598.
- [45] H. Marrakchi, G. Lanéelle1, A. Quémard. 2000. InhA, a target of the antituberculous drug isoniazid, is involved in a mycobacterial fatty acid elongation system, FAS-II. *Microbiology society, journal micro*. Vol 146, n° 2, page 289.
- [46] A. Chollet, L. Maveyraud, C. Lherbet, V. Bernardes-Génisson, An overview on crystal structures of InhA protein: Apo-form, in complex with its natural ligands and inhibitors, *European Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 146, 2018, Pages 318-343.
- [47] D, A. Rozwarski, C. Vilchêze, M. Sugantino, R. Bittman, J, C. Sacchettini. (1999). Crystal Structure of the *Mycobacterium tuberculosis* Enoyl-ACP Reductase, InhA, in Complex with NAD⁺ and a C16 Fatty Acyl Substrate. *Journal of biological biochemistry*. VOLUME 274, ISSUE 22, P15582-15589.
- [48] Sacchettini, James (New Rochelle, NY) 1999 INHA crystals and three dimensional structure United States Albert Einstein College of Medicine of Yeshiva University (Bronx, NY) 5882878.
- [49] Cohen, Elisângela & Machado, Karina & Cohen, Marcelo & Norberto de Souza, Osmar. (2011). Effect of the explicit flexibility of the InhA enzyme from *Mycobacterium*

- tuberculosis in molecular docking simulations. BMC genomics. 12 Suppl 4. S7. 10.1186/1471-2164-12-S4-S7.
- [50] Aurélien Chollet, Laurent Maveyraud, Christian Lherbet, Vania Bernardes-Génisson, An overview on crystal structures of InhA protein: Apo-form, in complex with its natural ligands and inhibitors, European Journal of Medicinal Chemistry, Volume 146, 2018, Pages 318-343.
- [51] Şengül Dilem Doğan, Miyase Gözde Gündüz, Hilal Doğan, Vagolu Siva Krishna, Christian Lherbet, Dharmarajan Sriram, Design and synthesis of thiourea-based derivatives as Mycobacterium tuberculosis growth and enoyl acyl carrier protein reductase (InhA) inhibitors, European Journal of Medicinal Chemistry, Volume 199, 2020, 112402.
- [52] Flint L, Korkegian A, Parish T. InhA inhibitors have activity against non-replicating Mycobacterium tuberculosis. PLoS One. 2020. Nov 17; 15(11).
- [53] J Suarez, K Rangelova, AA Jarzecki, J Manzerova, V Krymov, X Zhao, S Yu, L Metlitsky, GJ Gerfen et RS Magliozzo, « *An oxyferrous heme/protein-based radical intermediate is catalytically competent in the catalase reaction of Mycobacterium tuberculosis catalase-peroxidase (KatG)* », *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 284, n° 11, 2009, p. 7017-7029
- [54] Vosátka R, Krátký M, Vinšová J. Triclosan and its derivatives as antimycobacterial active agents. Eur J Pharm Sci. 2018 Mar 1 ; 114:318-331.
- [55] Sapan L. Parikh, Guoping Xiao, and Peter J. Tonge. Inhibition of InhA, the Enoyl Reductase from Mycobacterium tuberculosis, by Triclosan and Isoniazid .*Biochemistry* **2000** 39 (26), 7645-7650.
- [56] Sliwoski G, Kothiwale S, Meiler J, Lowe EW Jr. Computational methods in drug discovery. Pharmacol Rev. 2013 Dec 31; 66(1):334-95.
- [57] Pinzi L, Rastelli G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. Int J Mol Sci. 2019 Sep 4; 20(18):4331. doi: 10.3390/ijms20184331. PMID: 31487867; PMCID: PMC6769923.
- [58] Arrault A. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de doctorat d'université : Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. Orléans : Université d'Orléans. France. 2007. 176p.
- [59] Ferreira LG, Dos Santos RN, Oliva G, Andricopulo AD. Molecular docking and structure-based drug design strategies. Molecules. 2015 Jul 22; 20(7):13384-421.
- [60] Kontoyianni M. Docking and Virtual Screening in Drug Discovery. Methods Mol Biol. 2017 ; 1647:255-266.

- [61] F. Abboud, I. Selmi. 2022. Etude par modélisation moléculaire des propriétés cytotoxiques de certains dérivés de 1,2-dithiole-3-thione. MÉMOIRE DE MASTER, Chimie pharmaceutique. Université Mohamed Khider de Biskra, Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie. 85 pages.
- [62] DEKKICHE Zakia, BENAICHE Soulef. Modélisation par Docking moléculaire de l'interaction Enzyme-Inhibiteur : Cas de la Tyrosine kinase-JAK2 en tant-que cible thérapeutique impliquée dans les pathologies du sang. Mémoire de master : biochimie appliqué. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2018. P 93.
- [63] Kufareva I, Abagyan R. Methods of protein structure comparison. *Methods Mol Biol.* 2012; 857:231-57.
- [64] Sebastian Raschka. 2014. Molecular docking, estimating free energies of binding, and AutoDock's semi-empirical force field. *Articles, autodock_energycomps.*
- [65] Ramírez D, Caballero J. Is It Reliable to Take the Molecular Docking Top Scoring Position as the Best Solution without Considering Available Structural Data? *Molecules.* 2018 Apr 28;23(5):1038.
- [66] Merzoug. A, « Recherche de nouvelles molécules bioactives par criblage virtuel et applications à l'inhibition de la peptide déformylase », Thèse de Doctorat en science, Constantine : Université Mentouri Constantine, 2018, 189 p.
- [67] Munos, B. Lessons from 60 years of pharmaceutical innovation. *Nat. Rev. Drug Discovery,* 2009, 959-968.
- [68] L. Hoffer, « Développement et validation du logiciel S4MPLE : application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du fragment-based drug design », phdthesis, Université de Strasbourg, 2013.
- [69] BOUCHAGRA.S « Modélisation des interactions protéine-petites molécules: étude de la relation structure – fonction dans le cas des lipases » Thèse de doctorat en Sciences : Chimie Organique et Bioorganique : Université Badji Mokhtar Annaba, 2018. 145 p.
- [70] S. Kawai et al., « Van der Waals interactions and the limits of isolated atom models at interfaces », *Nat Commun,* vol. 7, p. 11559, mai 2016, doi: 10.1038/ncomms11559.
- [71] Mokrani, E. H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Thèse de magister d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. p 75.
- [72] Martin L. Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif : une application sur la protéine kinase

- FAK. Thèse de doctorat d'université : Bioinformatique. Montpellier : Université Montpellier 2. France. (2006). 149p.
- [73] R. P. D. Bank, « RCSB PDB: About RCSB PDB: Enabling Breakthroughs in Scientific and Biomedical Research and Education ». <https://www.rcsb.org/pages/about-us/index> (consulté le juin 08, 2021).
- [74] Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. (2007). 90p.
- [75] Taylor R. D., Jewsbury P. J., Essex J. W. 2003. FDS: flexible ligand and receptor docking with a continuum model and soft-core energy function. *J. Comput. Chem.* 24(13), 1637-1656.
- [76] A. CHIKHI. Calculs et modelisations des interactions peptide deformylase – substances antibacteriennes à l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moleculaire 2007. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat d'état en microbiologie. Université Mentouri Constantine. 126 pages.
- [77] S. Dutta et al., « Data Deposition and Annotation at the Worldwide Protein Data Bank », *Mol Biotechnol*, vol. 42, no 1, p. 1-13, 2009.
- [78] S. Kim et al., « Literature information in PubChem: associations between PubChem records and scientific articles », *J Cheminform*, vol. 8, no 1, p. 32, 2016.
- [79] Site web du serveur : <http://www.swissadme.ch/>.
- [80] Rodriguez F., Saffon N., Sammartino J.C., Degiacomi G., Pasca M.R., Lherbet C. First triclosan-based macrocyclic inhibitors of InhA enzyme. *Bioorganic Chem.* 2020; 95:103498.
- [81] Lipinski C, Lombardo A. F, Domini B. W, Feney P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 1997; 23: 3-25.
- [82] Amélie Mathis. Le rôle des cytochromes P450 dans les interactions médicamenteuses et environnementales rencontrées à l'officine. Médecine humaine et pathologie. 2012. (hal-01898529).
- [83] Teniou S. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Thèse de magister d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. 2012. 75 p.

Annexes

Annexe 1 : Tableau RMSD de 100 complexes.

Code PROT	Code LIG	RMSD	Code PROT	Code LIG	RMSD
1FKO	EFZ	0.33	3QTQ	X35	2.095
1GZ8	MBP	1.757	3QTU	X44	3.054
1H35	R01	0.500	3RAL	04Z	1.257
1HNI	AAA	1.152	3THB	3TA	2.898
1HNV	TBO	1.447	3TRS	DMS	0.041
1IKV	EFZ	1.402	3ULI	1N3	1.876
1TKT	H12	1.38	3WI2	P98	1.602
1TL1	H18	1.504	4ACH	KDI	2.402
1TV6	CP9	1.583	4BCG	T3C	1.320
1VRT	NVP	1.487	4DMY	0LC	0.645
1VRU	AAP	1.658	4EA3	0NN	1.625
2ACK	EDR	1.221	4EDZ	0O5	1.153
2AUX	CT1	1.648	4EG5	0OU	1.234
2B5J	3AC	2.147	4EHR	0Q5	2.679
2BAN	357	1.487	4EWO	996	0.632
2BE2	R22	1.565	4EXG	916	1.926
2E2O	BCG	1.786	4EY7	so4	1.580
2H3D	NMN	1.031	4IGS	64I	0.190
2P6E	MYA	1.608	4JIR	EPR	1.740
2PDB	ZST	1.376	4MLP	2CX	1.860
2RF2	MRX	1.472	4MRW	MRW	0.077
2TCL	RO4	1.391	4OOU	TRS	1.179
2VG5	NNC	1.542	4PNC	7NP	0.054
3AH2	NGA	0.783	4R68	W31	1.648
3AIQ	HBO	1.025	4XRX	42V	2.794
3D7D	FBD	1.317	4ZKI	ADP	1.745
3HYT	AGO	2.199	5FI7	5XZ	1.216
3IMD	FYQ	1.531	5HLP	65A	1.211
3IMJ	AYI	1.472	5IKQ	JMS	0.774
3IN7	AYQ	1.284	5IKR	ID8	0.611
3K37	BCZ	0.987	5PZQ	93V	1.671
3K6L	2BB	1.492	5QCN	BVM	1.951
3LFQ	A28	2.099	5TFT	P6U	0.927
3M6P	BB2	1.640	5UT3	IK1	1.740
3M6R	BB2	1.226	5W8H	9Y1	0.105
3MDD	FAD	2.033	5WEV	9ZS	1.816

Code PROT	Code LIG	RMSD
5ZAN	9A6	1.899
6CZV	FOY	1.226
6FAF	D3B	1.396
6FAG	EON	1.990
6FUL	PG0	1.039
6G8F	K0I	0.614
6HDQ	FZE	2.034
6I2A	M77	0.493
6M07	BWO	2.318
6MSK	JY4	0.065
6OA0	M1D	1.812
6OHS	NJY	0.273
6SUK	FT8	0.727
6Y00	O5T	2.436
7CWF	GJR	1.164
7FD6	4QU	1.747
7LMK	ZHY	1.835
7M6M	TCI	1.377
7WMZ	NAI	1.204
7X81	9LC	2.109
7X86	A3I	1.723
8G0R	YHF	1.780
9AAT	PMP	0.780
9HVP	0 E9	1.629
9LDB	OXM	0.900
9MHT	SAH	0.187
9NSE	ISU	0.777

Annexe 2 : score de 1114 similaires obtenus suite au docking.

Similaires	PubChem CID	Score	Similaires	PubChem CID	Score
S1	168033768	-26,2	S45	159383251	-23,05
S2	168033726	-11,26	S46	158959770	-13274,1
S3	168033695	-14,65	S47	158937481	-28,16
S4	165675276	-18,28	S48	158565143	-28,83
S5	165638349	-9,21	S49	158418125	-26,8
S6	165089236	-18,13	S50	158285813	-8,56
S7	165026237	-17,59	S51	158280305	-15,52
S8	164568982	-10,57	S52	158268700	0,62
S9	164050789	-9,52	S53	158227999	-9,13
S10	163986661	-14,36	S54	157918066	1,76
S11	163964056	-17,48	S55	157747335	-48,66
S12	163946748	-11,57	S56	157391163	-17,25
S13	163550333	-7,96	S57	157264116	2,82
S14	163550332	-7,35	S58	157218213	-33,69
S15	163201488	2,74	S59	157216846	-37,71
S16	163075802	1,39	S60	157212708	-46,57
S17	163022090	1,96	S61	157141890	-16,5
S18	162718444	-9,73	S62	156686350	-20,48
S19	162412224	2,56	S63	156686348	-14,98
S20	162345361	1,01	S64	156686344	0,91
S21	162345200	1,82	S65	156403671	2,87
S22	162345199	2,26	S66	156097868	2,33
S23	162345191	0,55	S67	155928763	1,85
S24	162328435	-23,01	S68	155928762	1,97
S25	162324109	-27,58	S69	155928761	1,18
S26	162104874	-10,94	S70	155683250	3,36
S27	162102454	-9,13	S71	155547444	1,65
S28	162062711	-23,2	S72	155539259	1,96
S29	162016517	-8,17	S73	154478683	2,8
S30	161958069	-14,92	S74	154389039	0,96
S31	161752747	2,99	S75	154386048	1,87
S32	161668090	-14,03	S76	154381402	0,07
S33	161500525	-16,02	S77	154341595	1,16
S34	161415182	-22,73	S78	154322466	1,39
S35	161350492	-17,62	S79	154315915	1,11
S36	161309915	-21,09	S80	154250597	1,44
S37	161278685	-19,31	S81	154233353	0,51
S38	161156022	-12	S82	154230063	2,62
S39	160811929	-8,17	S83	154195261	1,64
S40	160138801	-14,4	S84	154181838	2,74
S41	160116095	-17,04	S85	154160766	0,35
S42	160098005	-19,43	S86	154156172	2,95
S43	159949349	-12,42	S87	154118113	0,95
S44	159933879	-20,61	S88	154099857	1,68

S89	154094551	1,33	S136	141766236	1,13
S90	153982772	3,02	S137	141727260	1,52
S91	153977873	3,62	S138	141701505	-6,51
S92	153794854	1,94	S139	141611500	-6,4
S93	153775297	2,17	S140	141539639	2,18
S94	153766382	1,88	S141	141524044	1,75
S95	153744686	3,58	S142	141462712	1,41
S96	153734479	2,03	S143	141384456	1,73
S97	152271757	0,54	S144	141307298	2,15
S98	150954592	1,55	S145	141307295	2,32
S99	150427243	2,17	S146	141261306	-16,84
S100	150174018	2,71	S147	141219871	2,43
S101	148900271	-10,7	S148	141155745	2,2
S102	147332533	-12,4	S149	141111797	0,44
S103	147243631	1,36	S150	141069961	1,89
S104	145949874	2,89	S151	141014847	2,23
S105	145806348	1,68	S152	141002395	2,33
S106	145803565	1,87	S153	140980799	2,96
S107	145706435	1,7	S154	140980428	2,71
S108	144677834	-6,23	S155	140719414	2,06
S109	144534329	4,16	S156	140719413	0,67
S110	144318390	-7,95	S157	140501763	-27,91
S111	144318386	1,66	S158	140460091	0,48
S112	144318385	-23,94	S159	140342215	-6,9
S113	144318384	-8,09	S160	140132729	1,94
S114	144000595	2,07	S161	139969477	2,57
S115	143869425	-10,41	S162	139941970	2,18
S116	143869424	-9,78	S163	139941832	1,78
S117	143677582	0,21	S164	139941807	1,8
S118	143604663	1,03	S165	139941703	1,3
S119	143604662	-4,02	S166	139940744	3,11
S120	143577418	1,91	S167	139940738	1,93
S121	143328449	1,51	S168	139940702	2,05
S122	142998912	2,5	S169	139940608	1,45
S123	142707849	1,92	S170	139940558	2,01
S124	142707839	0,9	S171	139940542	1,96
S125	142707838	1,9	S172	139928206	1,12
S126	142707835	0,86	S173	139767901	1,05
S127	142707834	1,84	S174	139767898	1,37
S128	142707833	1,75	S175	139627612	2,18
S129	142707826	1,18	S176	139627610	1,34
S130	142653766	2,95	S177	139627608	2,62
S131	142060604	2,25	S178	139191532	-26,31
S132	142013482	2,02	S179	138396115	2,99
S133	141959848	1,33	S180	137362153	1,71
S134	141796345	-9,42	S181	134824007	1,53
S135	141772876	2,43	S182	134588942	1,31

S183	134588875	1,72	S230	125465411	0,88
S184	134117503	1,24	S231	125465342	1,26
S185	134111097	2,36	S232	125116727	0,95
S186	134097601	1,89	S233	125116709	0,98
S187	132489936	1,36	S234	125116607	0,77
S188	132489935	0,88	S235	125116593	1,02
S189	132121240	1,83	S236	125116590	1,24
S190	131976749	1,82	S237	125116545	0,74
S191	131883364	-14,59	S238	125116509	0,6
S192	131857987	-8,91	S239	125116412	1,84
S193	131741682	-71,06	S240	125116397	1,05
S194	131168231	1,88	S241	125116329	2,3
S195	131149818	1,3	S242	125116319	0,39
S196	130154996	2,76	S243	125116109	2,55
S197	130058727	-11,76	S244	125116061	1,22
S198	130057875	0,72	S245	125116056	1,19
S199	130032480	1,38	S246	125115936	0,46
S200	129988634	2,07	S247	124705477	1,38
S201	129918458	1,75	S248	124566805	2,56
S202	129918274	1,63	S249	124566804	1,91
S203	129906301	3,07	S250	124168152	0,4
S204	129889919	-0,17	S251	123956230	2,53
S205	129884463	1,25	S252	123758822	0,95
S206	129865591	4,3	S253	123324354	2,56
S207	129856434	1,18	S254	123238739	1,71
S208	129853721	1,17	S255	122646985	2,28
S209	129853551	1,56	S256	122506975	-12,93
S210	129853550	1,36	S257	122233521	3,58
S211	129850525	2,1	S258	121237409	1,25
S212	129845931	3,12	S259	121228259	1,31
S213	129830166	2,52	S260	121228257	1,12
S214	129774980	1,17	S261	121228255	1,84
S215	129736346	2,47	S262	121228169	0,73
S216	129719072	2,68	S263	119016829	1,24
S217	129717640	2,27	S264	119012053	1,47
S218	129675697	0,88	S265	119011501	0,66
S219	129674411	1,41	S266	119004808	1,53
S220	129674110	-0,13	S267	119003677	1,91
S221	129673987	1,38	S268	118994466	1,94
S222	126498150	2,16	S269	118849027	0,68
S223	125483597	-10,53	S270	118841570	0,79
S224	125465688	1,23	S271	118835963	-0,15
S225	125465660	0,95	S272	118824687	0,51
S226	125465657	0,41	S273	118152558	1,82
S227	125465588	1,68	S274	118065993	1,27
S228	125465423	1,16	S275	117659435	2,48
S229	125465413	2,01	S276	117653098	2,29

S277	114495994	2,09	S324	99839856	1,27
S278	113729776	1,94	S325	93737474	1,83
S279	112828071	2,09	S326	92289684	2,11
S280	112788776	2,01	S327	92287995	2,09
S281	102732581	1,65	S328	92171595	1,86
S282	102732580	2,53	S329	92155007	1,84
S283	102732563	2,01	S330	92153965	1,84
S284	102732562	2,88	S331	92152488	1,98
S285	102732529	2,05	S332	92142933	1,82
S286	102732528	2,44	S333	92142932	2,17
S287	102732508	1,35	S334	92142931	2,37
S288	102732507	2,68	S335	92135079	1,18
S289	102732491	2,03	S336	92043150	0,65
S290	102732490	2,39	S337	91747426	0,19
S291	102732458	2,19	S338	91747423	0,21
S292	102580657	-8,2	S339	91747391	0,6
S293	102580656	-7,67	S340	91592131	0,89
S294	102580655	-7,67	S341	91303048	1,73
S295	102580654	-9,06	S342	91295715	-5,99
S296	102509232	-0,28	S343	91294138	1,69
S297	102485156	1,67	S344	91264846	2,74
S298	102366258	1,5	S345	91182342	2,48
S299	102237644	2,12	S346	91181319	1,87
S300	102217771	1,33	S347	91122080	3,19
S301	101466907	1,68	S348	91087668	1,25
S302	101466906	2,57	S349	90990686	1,74
S303	101466904	1,12	S350	90923374	1,72
S304	101429827	2,99	S351	90907380	1,25
S305	101402972	1,84	S352	90888655	2,51
S306	101402971	1,75	S353	90233750	-24,39
S307	101402970	1,56	S354	90233541	-36,74
S308	101252618	-2,81	S355	89796028	2,68
S309	101252617	-4,16	S356	89796023	1,94
S310	101252616	-7,52	S357	89795992	2,45
S311	101252614	-10,98	S358	89792664	1,85
S312	101247244	2,11	S359	89792659	2,29
S313	101103378	0,88	S360	89792657	2,95
S314	101103377	1,2	S361	89508507	0,69
S315	101103375	0,36	S362	89500268	1,23
S316	101103374	0,62	S363	89500136	2,06
S317	101086885	2,5	S364	89500033	2,02
S318	100963657	1,93	S365	89310193	1,1
S319	100954533	2,91	S366	89233171	2,85
S320	100914535	0,26	S367	89126271	2,44
S321	100914534	0,42	S368	88828050	1,34
S322	100914533	0,01	S369	88767698	2,5
S323	99839857	2,21	S370	88665241	1,93

S371	88484071	-20,34	S418	85785868	2,46
S372	88358443	-12,57	S419	85716795	2,37
S373	88294039	0,43	S420	85627795	0,96
S374	88293950	1,59	S421	85627793	1,45
S375	88267170	1,27	S422	85627786	1,9
S376	88266810	1,19	S423	85627772	1,96
S377	88266620	2,32	S424	84973035	2,81
S378	88266200	1,14	S425	84973034	2,39
S379	88175907	2,03	S426	84682276	2,24
S380	88175906	-10,41	S427	84682269	1,76
S381	88082853	1,16	S428	84679385	3,44
S382	88038755	-2,87	S429	84671106	1,12
S383	87813765	-9,64	S430	84671098	1,52
S384	87787903	-8,52	S431	84669653	1,29
S385	87610174	1,79	S432	84668558	2,93
S386	87392176	0,61	S433	84661733	1,56
S387	87376324	-16,29	S434	84655773	1,2
S388	87333778	1,5	S435	84655768	1,53
S389	87255639	2,09	S436	84655765	1,88
S390	87205408	-7,94	S437	84655759	1,89
S391	87201530	-9,31	S438	84142072	2,26
S392	86762177	1,48	S439	82267104	2,08
S393	86744142	-7,08	S440	82267072	1,74
S394	86576227	2,17	S441	82051207	1,48
S395	86576202	2	S442	78976744	1,86
S396	86215842	1,57	S443	78906171	0,79
S397	86208191	1,58	S444	77423927	2,41
S398	86188406	1,88	S445	76973291	2,99
S399	86170171	-23,93	S446	73947588	0,99
S400	86139119	0,71	S447	72941886	0,18
S401	86097244	1,09	S448	72941884	0,71
S402	86097242	0,99	S449	72941883	0,3
S403	86084988	1,77	S450	72941882	-0,01
S404	86070479	1,51	S451	72941869	1,06
S405	85973287	1,76	S452	72941868	1,78
S406	85973271	1,81	S453	72941867	1,16
S407	85973263	1,34	S454	72941866	1,06
S408	85957823	0,84	S455	72941865	0,93
S409	85957727	0,75	S456	72941857	0,86
S410	85860363	1,69	S457	72941853	1,49
S411	85842681	0,59	S458	72228339	2,04
S412	85841321	3,01	S459	72227283	2,75
S413	85840590	2,33	S460	72226873	2,49
S414	85796873	0,69	S461	72223672	2,42
S415	85796869	1,84	S462	72223639	1,29
S416	85796864	1,47	S463	72222964	1,74
S417	85794100	0,96	S464	72222825	2,66

S465	72222042	1,93	S512	69978752	1,9
S466	72221965	1,54	S513	69978356	-13,64
S467	72221922	1,26	S514	69978354	0,74
S468	72221765	1,28	S515	69975696	1,54
S469	72221743	1,59	S516	69963777	-15,32
S470	72221699	1,18	S517	69855098	1,27
S471	72221662	1,26	S518	69755621	-24,41
S472	71941436	2,54	S519	69729527	-8,46
S473	71895313	1,94	S520	69699269	2,28
S474	71716528	2,68	S521	69686382	-77,68
S475	71581338	1,75	S522	69685359	1,18
S476	71446197	1,02	S523	69330354	2
S477	71439536	1,86	S524	69329543	2,18
S478	71421412	-10,35	S525	69130964	2,64
S479	71415092	2,8	S526	69035028	1,76
S480	71415091	1,93	S527	68829664	-9,13
S481	71415090	2,42	S528	68795426	1,4
S482	71415089	2,7	S529	68788345	1
S483	71415087	1,35	S530	68788123	-0,24
S484	71391068	1,93	S531	68786538	0,67
S485	71384993	1,27	S532	68785684	1,68
S486	71384985	2,76	S533	68597112	1,56
S487	71372234	0,94	S534	68570278	-21,8
S488	71372233	0,36	S535	68552661	-10,04
S489	71367848	0,3	S536	68420804	1,83
S490	71335367	1,83	S537	68418405	2,5
S491	71268082	1,89	S538	68372481	2,9
S492	71143835	-71,64	S539	68372480	1,86
S493	70631368	1,67	S540	68307322	1,49
S494	70628635	-16,9	S541	68107656	-10,67
S495	70617570	2,01	S542	68107534	-9,32
S496	70562107	0,53	S543	68107532	1,91
S497	70562106	0,82	S544	68027752	2,78
S498	70475976	1,9	S545	67893511	1,87
S499	70475583	1,87	S546	67858178	-27,39
S500	70445497	1,52	S547	67744359	1,78
S501	70423235	2,63	S548	67744357	2,35
S502	70361228	2,51	S549	67743856	-9,48
S503	70310135	1,3	S550	67741638	-8,44
S504	70308896	0,78	S551	67724797	1,8
S505	70308416	1,45	S552	67724551	2,31
S506	70307339	1,11	S553	67724550	-10,45
S507	70265497	-6,66	S554	67630437	1,96
S508	70255327	-7,96	S555	67606152	1,24
S509	70192810	-197,7	S556	67606151	-17,81
S510	70129208	-24,25	S557	67576632	1,35
S511	69981165	-12,5	S558	67576565	-14,26

S559	67576532	2,1	S606	58654816	1,55
S560	67576522	1,88	S607	58604131	0,77
S561	67575826	2,16	S608	58592309	1,16
S562	67575785	1,94	S609	58592301	1,23
S563	67575747	2,14	S610	58341422	2,81
S564	67533473	-13,66	S611	58341420	1,28
S565	67438100	1,87	S612	58046341	1,69
S566	67346643	-11,11	S613	57894193	1,87
S567	67346638	1,74	S614	57894155	2,08
S568	67274818	1,06	S615	57695626	2,55
S569	67262921	2,24	S616	57695625	-7,62
S570	67258653	-9,71	S617	57667403	-15,35
S571	66885511	1,41	S618	57667391	1,74
S572	66685457	-7,99	S619	57667378	0,7
S573	66685129	-9	S620	57667375	0,74
S574	66642693	2,01	S621	57667367	0,87
S575	66601504	-8,77	S622	57445726	1,17
S576	65213845	2,78	S623	57361723	1,4
S577	62041724	2,43	S624	57184745	0,93
S578	61533819	-19,53	S625	57171535	1,59
S579	61533788	-20,43	S626	57166179	2,61
S580	61075164	1,28	S627	57126290	1,99
S581	60879739	1,65	S628	57119059	0,84
S582	60879151	0,8	S629	57117708	0,01
S583	60878982	2,01	S630	57087963	1,76
S584	60878025	2,32	S631	57080268	3,04
S585	60877843	1,82	S632	57036661	2,43
S586	60728681	2,19	S633	57014312	0,94
S587	60728407	2,05	S634	56995408	0,14
S588	60728105	2,03	S635	56985515	1,93
S589	60715010	1,35	S636	56980275	1,85
S590	60627314	0,96	S637	56974818	1,68
S591	60173044	2,14	S638	56926005	0,13
S592	60051032	0,97	S639	56637137	1,82
S593	59769751	1,85	S640	56630608	2,14
S594	59476098	1,09	S641	56626383	1,32
S595	59422928	0,42	S642	56625188	2,67
S596	59367866	1,42	S643	56620130	2,35
S597	59319916	2,1	S644	56616552	2,2
S598	59205674	1,93	S645	54533211	2,37
S599	58781791	1,29	S646	54521797	1,04
S600	58753996	1,95	S647	54396483	1,63
S601	58753983	2,14	S648	54395580	2,27
S602	58753757	2,34	S649	54332341	1,6
S603	58753679	1,83	S650	54317288	1,45
S604	58753671	1,62	S651	54304044	1,7
S605	58753619	2,2	S652	54302871	1,53

S653	54291489	1,53	S700	40549012	1,98
S654	54278840	1,9	S701	39420248	1,8
S655	54235788	0,88	S702	39420246	1,85
S656	54188810	1,9	S703	25271835	1,22
S657	54173894	1,02	S704	25134273	2,43
S658	54161536	1,43	S705	25065523	0,71
S659	54154302	1,48	S706	25023969	1,68
S660	54116966	0,71	S707	25023963	2,72
S661	54100245	1,09	S708	25023962	2,25
S662	54094569	0,59	S709	25023961	2,75
S663	54086688	1,88	S710	25023960	3,26
S664	53976026	1,75	S711	25023959	2,82
S665	53971478	1,9	S712	25023958	2,51
S666	53941383	0,43	S713	25023955	1,83
S667	53937273	1,17	S714	24962334	-7,36
S668	53874659	1,46	S715	24848164	-11,65
S669	53867701	3,34	S716	24821738	1,77
S670	53855707	0,68	S717	23700604	-7,74
S671	53787763	2,02	S718	23663694	-8,04
S672	53770227	1,63	S719	23662603	-8,52
S673	53769217	1,2	S720	23656591	2,13
S674	53764879	1,19	S721	23372337	-8,44
S675	53755882	0,43	S722	23364922	0,72
S676	53751783	1,15	S723	23322904	1,22
S677	53744656	2,03	S724	23282406	1,06
S678	53671417	1,14	S725	23274712	1,06
S679	53671189	1,13	S726	23274710	0,83
S680	53644337	1,77	S727	23274706	0,62
S681	53426528	0,18	S728	23203471	1,14
S682	53423004	0,71	S729	23163108	1,22
S683	52945578	2,14	S730	23055759	2,61
S684	52944405	1,5	S731	22947105	2,95
S685	50898342	-76,83	S732	22924853	1,22
S686	46941366	2,29	S733	22770159	2,75
S687	46849854	2,02	S734	22761252	1,84
S688	46193666	1,42	S735	22761243	1,08
S689	46193665	1,9	S736	22677544	1,01
S690	45093134	2,2	S737	22345063	2,15
S691	45040609	0,6	S738	22340835	-9,82
S692	45040608	2,16	S739	22159500	1,57
S693	44576993	1,31	S740	22027056	-9
S694	44405311	2,08	S741	21975971	2,4
S695	44154715	-0,06	S742	21941275	2,04
S696	44132000	0,89	S743	21896115	2,15
S697	44131671	1,87	S744	21842666	1,8
S698	44131670	1,85	S745	21650245	1,24
S699	44131483	0,94	S746	21642194	1,95

S747	21629287	1,28	S794	19933293	1,96
S748	21393096	1,46	S795	19898306	1,02
S749	21359009	2,68	S796	19869834	1,09
S750	21317645	1,65	S797	19843878	1,28
S751	21285385	-13,44	S798	19824326	1,77
S752	21278927	0,5	S799	19808418	1,3
S753	21272541	2,16	S800	19792251	1,87
S754	21272522	2,51	S801	19753595	3,41
S755	21272516	1,01	S802	19034580	1,71
S756	21272514	2,06	S803	19034578	1,82
S757	21272512	2,55	S804	19014207	3,89
S758	21221041	1,71	S805	19014200	2,38
S759	21161612	1,78	S806	19014187	2,36
S760	21122043	0,61	S807	19014136	-98,54
S761	21099545	1,62	S808	18935936	0,83
S762	20793402	1,34	S809	18927971	0,94
S763	20645736	2,76	S810	18913824	1,73
S764	20645735	1,53	S811	18695039	-6,66
S765	20645734	1,36	S812	18694998	1,98
S766	20574908	1,1	S813	18684757	2,82
S767	20574907	0,85	S814	18635766	2,45
S768	20555460	1,74	S815	18454987	1,77
S769	20541662	1,03	S816	18413505	-12,17
S770	20541660	1,87	S817	18381077	1,92
S771	20524189	2,96	S818	18362548	-17,2
S772	20474813	2,08	S819	17994679	1,99
S773	20385732	2,38	S820	17968895	1,62
S774	20340920	1,28	S821	17884918	1,75
S775	20309156	1,51	S822	17881426	1,13
S776	20309155	1,78	S823	17881403	1,5
S777	20309152	2,19	S824	17845313	1,85
S778	20309151	2,41	S825	17819783	1,72
S779	20268236	1,66	S826	17771092	1,63
S780	20267435	1,47	S827	17620926	1,44
S781	20267431	2,25	S828	16117954	-13,75
S782	20267427	0,93	S829	16088331	2,19
S783	20267420	2,37	S830	15897842	2,69
S784	20256093	0,7	S831	15861460	2,16
S785	20138492	1,1	S832	15764571	1,73
S786	20138483	1,43	S833	15682823	1,11
S787	20138481	2,25	S834	15621448	0,41
S788	20138466	2,18	S835	15483970	1,57
S789	20138460	2,18	S836	15406725	1,6
S790	20138448	2,16	S837	15406724	1,02
S791	20073412	1,52	S838	15299331	1,2
S792	20040466	1,12	S839	14935804	0,94
S793	20029653	1,7	S840	14935802	0,37

S841	14935798	1,07	S888	12502419	0,72
S842	14935795	1,13	S889	12468709	2,5
S843	14923284	-0,1	S890	12464523	0,9
S844	14923282	0,89	S891	12386541	2,16
S845	14923279	1,23	S892	12318264	1
S846	14923278	0,17	S893	12293218	1,73
S847	14923277	0,15	S894	12293194	2,02
S848	14923179	0,3	S895	12257124	2,02
S849	14923178	0,89	S896	12257122	1,55
S850	14923174	0,84	S897	12068224	2,36
S851	14896031	1,04	S898	12043306	1,77
S852	14818666	-0,32	S899	11659169	2,26
S853	14591774	1,73	S900	11528970	2,19
S854	14392135	1,42	S901	11348536	0,89
S855	14345695	2,53	S902	11300174	0,03
S856	14203029	1,33	S903	11207551	1,2
S857	14130307	0,13	S904	11143353	1,82
S858	13884452	2,93	S905	11002854	0,61
S859	13884445	2,47	S906	10925839	2,01
S860	13879728	2,4	S907	10727680	1,87
S861	13848581	1,38	S908	10401922	2,24
S862	13645892	1,51	S909	10073111	3,1
S863	13645889	2,56	S910	9929261	1,78
S864	13645887	3,54	S911	9843229	1,93
S865	13645780	1,74	S912	9822749	2,05
S866	13643992	0,59	S913	9801088	-12,22
S867	13643991	1,46	S914	6933639	1,8
S868	13529074	0,48	S915	6452320	2,36
S869	13529057	1,16	S916	6282740	1,43
S870	13529054	2,61	S917	5271320	1,9
S871	13529053	1,47	S918	5141819	1,43
S872	13529052	2,01	S919	5121102	2,15
S873	13266143	2,21	S920	4179243	1,73
S874	13071284	1,22	S921	4109156	3
S875	12989313	0,15	S922	3314072	0,8
S876	12940631	1,95	S923	3017252	1,84
S877	12905468	1,36	S924	3015664	1,21
S878	12867159	2,21	S925	2899362	1,75
S879	12804883	2,76	S926	2776994	0,55
S880	12796172	2,21	S927	2289114	0,73
S881	12774298	2,41	S928	2285776	0,99
S882	12774297	1,79	S929	2285580	1,67
S883	12774296	1,83	S930	2285578	1,4
S884	12774295	1,92	S931	2284850	0,92
S885	12767827	1,21	S932	2284386	1,05
S886	12766017	1,12	S933	2284370	0,77
S887	12578813	1,44	S934	2284322	0,88

S935	2284221	0,66	S982	158075	1,03
S936	2283898	0,97	S983	158074	0,21
S937	2283873	1,13	S984	158068	0,43
S938	2283866	0,72	S985	158067	1,65
S939	2283510	1,58	S986	158066	0,6
S940	2283384	0,59	S987	158065	0,99
S941	2283082	0,54	S988	158064	1,6
S942	2282957	1,6	S989	157005	1,65
S943	2282955	0,69	S990	157004	1,47
S944	2252031	0,98	S991	156914	1,44
S945	2251711	1,53	S992	156913	1,31
S946	2251687	0,61	S993	155141	1,67
S947	2251575	1,95	S994	147298	2,14
S948	640685	1,03	S995	138734	0,8
S949	627458	1,05	S996	135405	1,19
S950	625694	1,3	S997	134713	0,43
S951	614073	0,29	S998	134705	1,43
S952	588774	1,87	S999	134704	0,71
S953	475342	1,49	S1000	119954	1,08
S954	350983	1,79	S1001	115206	0,56
S955	312361	-31,19	S1002	107942	1,87
S956	312359	-30,23	S1003	107371	2,03
S957	258228	1,92	S1004	96343	1,49
S958	245862	1,55	S1005	95488	2,13
S959	242287	2,19	S1006	95341	1,45
S960	235019	2,59	S1007	94709	1,07
S961	188896	0,07	S1008	94679	1,88
S962	187307	3,21	S1009	94509	1,93
S963	187105	0,57	S1010	93566	1,24
S964	186546	2,07	S1011	93511	1,14
S965	186247	2,28	S1012	93509	1,24
S966	185060	1,04	S1013	93508	0,91
S967	184631	0,22	S1014	93507	1,29
S968	184112	0,14	S1015	93503	0,82
S969	184111	1,06	S1016	93494	0,73
S970	184110	0,74	S1017	93472	-0,01
S971	183886	0,27	S1018	93471	0,93
S972	183884	0,59	S1019	93470	1,11
S973	182383	0,95	S1020	93462	1,26
S974	182382	0,33	S1021	93421	1,49
S975	176900	2,22	S1022	93415	0,98
S976	176638	0,51	S1023	93345	1,4
S977	176637	0,72	S1024	92428	0,41
S978	176550	1,42	S1025	92412	0,71
S979	173961	1,89	S1026	92384	0,24
S980	165111	1,3	S1027	92379	1,26
S981	158147	1,36	S1028	92353	1,14

S1029	92339	1,82	S1076	42540	1,06
S1030	91654	0,26	S1077	42268	1,26
S1031	90650	0,9	S1078	42115	0,65
S1032	87732	0,99	S1079	41118	0,51
S1033	86393	1,2	S1080	41117	0,46
S1034	57257	0,83	S1081	40811	0,39
S1035	56826	0,72	S1082	40319	0,64
S1036	56162	0,68	S1083	39732	0,26
S1037	56161	0,87	S1084	39727	1,36
S1038	56062	0,22	S1085	38527	0,39
S1039	54848	0,09	S1086	38526	0
S1040	54847	0,94	S1087	38525	0,36
S1041	54846	0,76	S1088	38524	1,22
S1042	54845	0,32	S1089	38439	0,74
S1043	54844	0,32	S1090	38254	0,42
S1044	53582	0,99	S1091	38253	0,58
S1045	52504	-32,93	S1092	38252	1,02
S1046	51466	0,41	S1093	38251	0,25
S1047	51457	0,61	S1094	38193	0,62
S1048	51456	1,36	S1095	37924	1,52
S1049	51455	0,26	S1096	37270	0,14
S1050	51454	0,68	S1097	37207	0,68
S1051	51380	0,66	S1098	37091	0,82
S1052	51379	0,05	S1099	36934	0,13
S1053	51378	1,1	S1100	36613	0,33
S1054	51377	0,64	S1101	36474	0,01
S1055	51376	0,78	S1102	35762	0,95
S1056	51375	0,66	S1103	35761	-0,88
S1057	51374	0,47	S1104	35454	0,07
S1058	51373	0,71	S1105	34140	0,88
S1059	50627	0,91	S1106	29575	0,32
S1060	49803	0,21	S1107	28051	1,75
S1061	48890	0,44	S1108	28050	2,49
S1062	48889	0,04	S1109	26173	2,07
S1063	48888	0,88	S1110	23341	0,5
S1064	47423	0,55	S1111	18807	1,88
S1065	47367	0,33	S1112	17577	1,51
S1066	44603	0,53	S1113	8444	1,77
S1067	44070	0,59	S1114	5564	2,99
S1068	44069	0,66			
S1069	43711	2,07			
S1070	43407	1,12			
S1071	42836	0,55			
S1072	42671	0,55			
S1073	42670	0,42			
S1074	42669	0,1			
S1075	42668	0,72			

Résumé

Le docking moléculaire est une nouvelle approche *in silico* employées dans les stratégies de découverte de nouvelles molécules à visées thérapeutiques. Il permet de prédire la conformation la plus favorable d'un ligand au sein du site actif.

Dans notre travail, nous avons d'abord testé la fiabilité du logiciel du docking utilisé SURFLEX par le test RMSD, afin de l'utiliser pour rechercher de nouveaux inhibiteurs directs de la protéine inhA une cible thérapeutique pour le traitement de la tuberculose pulmonaire. Ensuite, nous avons effectué un criblage virtuel sur la protéine inhA de 1114 composés similaires au Triclosan avec un taux de similarité de 83%.

Les résultats du criblage montrent que 591 des composés ont présenté un score d'affinité supérieur à celui de notre ligand de référence, le TCL dont le score est de 1.28. Les composés S206, S109 et S804 ont les meilleurs scores d'affinité égale à 4.3, 4.16 et 3.89 respectivement.

Enfin, une étude des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques de ces 3 meilleurs composés a pu révéler de meilleures caractéristiques pharmacocinétiques pour le composé S804, contrairement aux propriétés physicochimiques.

Mots clés : Docking moléculaire, SURFLEX, Tuberculose pulmonaire, *Mycobacterium tuberculosis*, protéine inhA.

Abstract

Molecular docking is a new *in silico* approach used in therapeutic drug discovery strategies. It is used to predict the most favorable conformation of a ligand within the active site.

In our work, we first tested the reliability of the docking software used SURFLEX by the RMSD test, in order to use it to search for new direct inhibitors of the inhA protein, a therapeutic target for the treatment of pulmonary tuberculosis. Next, we performed a virtual screening on the inhA protein of 1114 compounds similar to Triclosan with a similarity rate of 83%.

The screening results showed that 591 of the compounds had a higher affinity score than our reference ligand, TCL, with a score of 1.28. Compounds S206, S109 and S804 had the highest affinity scores, equal to 4.3, 4.16 and 3.89 respectively.

Finally, a study of the physicochemical and pharmacokinetic properties of these 3 best compounds revealed better pharmacokinetic characteristics for compound S804, in contrast to the physicochemical properties.

Key words : Molecular docking, SURFLEX, Pulmonary tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, inhA protein.

ملخص

الإرساء الجزيئي طريقة جديدة *in silico* يستخدم في استراتيجيات اكتشاف جزيئات علاجية جديدة. متخصص في التنبؤ بالموقع الأكثر ملائمة للمثبط داخل مستقبله. في عملنا، اخترنا أولاً موثوقية برنامج الإرساء المستخدم SURFLEX بواسطة اختبار RMSD، من أجل استخدامه للبحث عن مثبتات مباشرة جديدة للبروتين inhA كهدف علاجي لعلاج السل الرئوي. بعد ذلك، أجرينا فحصاً افتراضياً على بروتين inhA لـ 1114 مركباً يشبه Triclosan بمعدل تشابه 83%. تظهر نتائج الفحص أن 591 من المركبات لديها درجة تقارب أعلى من المثبط المرجعي لدينا، TCL التي تقدر ب 1.28. تظهر المركبات S206, S109, و S804 أعلى درجات التقارب التي تقدر ب 4.3 و 4.16 و 3.89 على التوالي. أخيراً، كشفت دراسة الخصائص الفيزيائية الكيميائية و الصيدلانية لأفضل ثلاث مركبات على ميزات صيدلانية جيدة بالنسبة للمركب S804 على عكس الخصائص الفيزيائية الكيميائية.

الكلمات المفتاحية : الإرساء الجزيئي، SURFLEX، السل الرئوي،
Mycobacterium tuberculosis، البروتين inhA.

Présenté et soutenu par : - AZIOUNE Malek Rayene.

Date de soutenance : 22/06/2023

- TEBIB Hiba.

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

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

Recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la protéine inhA pour le traitement de la tuberculose pulmonaire

Résumé :

Le docking moléculaire est une nouvelle approche *in silico* employées dans les stratégies de découverte de nouvelles molécules à visées thérapeutiques. Il permet de prédire la conformation la plus favorable d'un ligand au sein du site actif.

Dans notre travail, nous avons d'abord testé la fiabilité du logiciel du docking utilisé SURFLEX par le test RMSD, afin de l'utiliser pour rechercher de nouveaux inhibiteurs directs de la protéine inhA une cible thérapeutique pour le traitement de la tuberculose pulmonaire. Ensuite, nous avons effectué un criblage virtuel sur la protéine inhA de 1114 composés similaires au Triclosan avec un taux de similarité de 83%.

Les résultats du criblage montrent que 591 des composés ont présenté un score d'affinité supérieur à celui de notre ligand de référence, le TCL dont le score est de 1.28. Les composés S206, S109 et S804 ont les meilleurs scores d'affinité égale à 4.3, 4.16 et 3.89 respectivement.

Enfin, une étude des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques de ces 3 meilleurs composés a pu révéler de meilleures caractéristiques pharmacocinétiques pour le composé S804, contrairement aux propriétés physicochimiques.

Mots clés : Docking moléculaire, SURFLEX, Tuberculose pulmonaire, *Mycobacterium tuberculosis*, protéine inhA.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie Appliquée

Jury d'évaluation :

Président du jury : CHIKHI Abdelouaheb (Professeur à UFM Constantine 1).

Rapporteur : BENSEGUENI Abderrahmane (Professeur à UFM Constantine 1).

Examineur : MOKRANI E.H. (Maitre de conférences A à UFM Constantine 1).

Année universitaire : 2022/2023