

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

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



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

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs du quorum sensing pour atténuer la virulence de *P. aeruginosa*

Présenté par : MOKRANE Hana

Le 18/06/2023

SIA Oussama

Jury d'évaluation :

Encadrant : GUENDOUZE A. Maitre de conférences B - Université Frères Mentouri, Constantine 1

Président : CHIKHI A. Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1

Examineur : MOKRANI E. H. Maitre de conférences A - Université Frères Mentouri, Constantine 1

Année universitaire
2022 - 2023

Remerciements

Nous tenons tout d'abord, à remercier « *ALLAH* » qui nous a donné le courage, la patience, la volonté et la force d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre encadrante **M^{elle} GUENDOUZE A.** Maitre de Conférences B à l'université Frères Mentouri Constantine 1, pour son soutien, son expertise et ses précieux conseils tout au long de ce projet. Sa disponibilité, son enthousiasme et son dévouement ont grandement contribué à notre apprentissage et à la réussite de notre travail.

Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance envers les membres du jury, **Mr. CHIKHI A.** Professeur à l'université Frères Mentouri Constantine 1. Pour avoir accepté de consacrer son temps et son expertise à l'évaluation de notre mémoire, nous sommes très honorés de l'avoir comme président du jury de notre mémoire.

Nous remercions vivement **Mr. MOKRANI E. H.** Maitre de conférences A à l'université Frères Mentouri Constantine 1. Pour avoir accepté de juger ce travail. Nous sommes honorés de le compter parmi les membres de ce jury.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de mon mémoire de fin d'étude.

Nous tenons également à remercier l'ensemble du personnel enseignant et administratif de l'établissement pour leur soutien et leur contribution à notre parcours universitaire.

Dédicace

À

mon cher père, qui m'a toujours soutenu dans mes études et qui continue de me guider même en son absence. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être c'est grâce à toi que je me suis arrivé ici. J'espère que tu es fier de moi papa.

À ma raison de vivre ma mère, qui a été ma plus grande supportrice et qui a toujours cru en moi. Tes encouragements inconditionnels m'ont permis de poursuivre mes rêves avec détermination.

À ma grande famille, qui a été un soutien constant tout au long de ce parcours. Votre amour, vos encouragements, votre confiance en moi et surtout vos douaa ont été des sources de motivation inépuisables.

À mon binôme, avec qui j'ai partagé cette aventure de recherche passionnante. Ta collaboration, ton soutien et ton amitié ont été inestimables. Ensemble, nous avons relevé des défis et atteint des objectifs remarquables.

À mes amis proches Raouf, Ramzi, Aymen, Walid, Lydia, Amani et Amira qui ont été là pour moi à chaque étape de ce parcours. Votre soutien moral, vos encouragements et votre présence ont été essentiels pour traverser les moments difficiles et célébrer les réussites

Merci à tous ceux qui ont contribué à ma formation et à la réalisation de ce mémoire. Vos influences positives resteront gravées dans ma mémoire pour toujours.

Oussama

Dédicace

À

vec tous mes sentiments de respect et l'expérience de ma reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie à ma maman, mon paradis, la prunelle de mes yeux, la source de ma joie et de mon bonheur. Tu es ma lune et le fil d'espoir qui illumine mon chemin, ma moitié.

À celui qui m'a fait devenir une femme, ma source de vie, d'amour et d'affection, à mon soutien qui a toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager, à mon roi, mon papa.

À mon frère Abed Rahman pour l'amour qu'il me réserve.

À mes sœurs Ouissal et Chahinez, qui n'ont jamais cessé de me conseiller, d'encourager et de soutenir tout au long de mes études.

À mon adorable petite sœur Anfel, qui apporte toujours joie et bonheur à toute la famille.

À ma chère amie chouchou.

Sans oublier mon binôme Oussama, pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

À tous mes amis et collègues de la promotion de master Biochimie.

À tous mes enseignants durant ces années d'études.

Et enfin, à moi-même,

Hana

Liste des abréviations

AHL : Acylhomosérine lactones.

ADMET : Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination et Toxicité.

BBB: Perméabilité hémato encéphalique.

CYP: Cytochrome P450

FDA : Food and Drug Administration.

HAQ : Hydroxyalkyliquequinoléine.

Herg : Human Ether-à-go-go Related Gene.

IA: Autoinducteurs.

GI: Gastro intestinal.

Log P : Coefficient de Partage Eau/Octanol.

MIC : Concentration minimale inhibitrice.

PQS : *Pseudomonas* quinolone signal.

QS : Quorum sensing.

QSI : Inhibiteurs de quorum sensing.

RMSD : Root Mean Square Deviation.

TPSA : Surface Polaire.

Liste des figures

Figure 1 : Régulation de la virulence et interactions entre les deux systèmes de QS las et Rhl chez <i>P. aeruginosa</i>	6
Figure 2 : Structure chimique du Chrysophanol.....	
Figure 3 : Structure chimique du Rhein.....	12
Figure 4 : Docking moléculaire.....	14
Figure 5 : L'interface graphique OpenBabel.....	19
Figure 6 : L'interface graphique FlexX.....	19
Figure 7 : L'interface graphique du Discovery Studio Visualize.....	20
Figure 8 : L'interface graphique de SwissADME.....	21
Figure 9 : L'interface d'accueil de PDB.....	22
Figure 10 : Interface d'accueil de PubChem.....	22
Figure 11 : L'interface d'accueil de pkCSM.....	23
Figure 12 : Résultat du test RMSD exprimés en pourcentage (%).....	31
Figure 13 : Représentation des interactions LasR-Chrysophanol.....	34
Figure 14 : Représentation des interactions LasR-S674.....	35
Figure 15 : Représentation des interactions du complexe LasR-S140.....	36
Figure 16 : Représentation des interactions du complexe 4JVD et Rhein.....	37
Figure 17 : Représentation des interactions du complexe PqsR-S531.....	38
Figure 18 : Représentation des interactions du complexe PqsR-S798.....	39

Liste des tableaux

Tableau 1 : Adresse des principaux programmes de Docking moléculaire	17
Tableau 2 : Propriétés des microordinateurs utilisés	18
Tableau 3 : Code PDB des complexes " LasR/inhibiteur ", " Pqrs/inhibiteur " avec leur résolution.....	25
Tableau 4 : Analyse visuelle de la superposition du ligand des complexes 7LIM et 3HPF...	32
Tableau 5 : Propriétés physicochimiques de la Ciprofloxacine, du Chrysophanol et des composés S674, et S140.	40
Tableau 6 : Propriétés pharmacocinétique de la Ciprofloxacine, du Chrysophanol et composés S674, et S140.	41
Tableau 7 : Propriétés physicochimiques de la Tobramycine, du Rhein et des composés S531, et S798.	42
Tableau 8 : Propriétés pharmacocinétique de la Tobramycine, du Rhein et des composés S531, et S798.	43
Tableau 9 : Propriétés toxicinétique	44

Table des matières

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Revue bibliographique

Chapitre I: *Pseudomonas aeruginosa* & *Quorum sensing*

1. Caractéristiques et habitats	3
2. Rôle de <i>P. aeruginosa</i> dans les infections humaines	3
3. Formation de biofilm	4
3.1. Définition	4
3.2. <i>P. aeruginosa</i> et la formation de biofilm.....	4
4. <i>Quorum sensing</i> chez <i>P. aeruginosa</i>	4
4.1. Définition	4
4.2. Rôle du QS.....	5
4.3. Mécanismes moléculaires du QS chez <i>P. aeruginosa</i>	5
4.3.1. Système Las	5
4.3.2. Système Rhl	5
4.3.3. Système PQS.....	6
5. Résistance de <i>P. aeruginosa</i> aux antibiotiques	7
5.1. Mécanismes de résistance	7
6. Antibiotiques antipseudomonas	8
6.1. Doripénème.....	8
6.2. POL7001	8
6.3. Ciprofloxacine.....	8
7. Inhibiteurs naturels de QS (QSI).....	8

Chapitre II: Généralités sur le Chrysophanol & le Rhein

1. Chrysophanol	10
1.1. Source	10
1.2. Structure.....	11
1.3. Pharmacologie.....	11
2. Rhein.....	12
2.1. Source	12
2.2. Structure.....	12
2.3. Pharmacologie.....	13

Chapitre III: Docking moléculaire

1. Introduction.....	14
----------------------	----

2.	Principe du docking moléculaire	14
3.	Évolution des méthodes du docking moléculaire	15
3.1.	Docking rigide	15
3.2.	Docking semi-flexible.....	15
3.3.	Docking flexible.....	15
4.	Outils du Docking moléculaire	15
4.1.	Récepteur	15
4.2.	Ligands.....	16
5.	Programmes de Docking.....	16
5.1.	Programme FlexX.....	17

Partie pratique

Matériel et méthodes

1.	Matériel.....	18
1.1.	Micro-ordinateurs	18
1.2.	Programmes	18
1.2.1.	OpenBable.....	18
1.2.2.	FlexX.....	19
1.2.3.	Discovery Studio Visualizer.....	20
1.2.4.	SwissADME	20
1.3.	Banques de données.....	21
1.3.1.	PDB.....	21
1.3.2.	PubChem.....	22
1.3.3.	PkCSM.....	23
2.	Méthodes.....	23
2.1.	Tests de fiabilité du programme de docking	23
2.1.1.	Test RMSD.....	24
2.1.2.	Analyse visuelle	24
2.2.	Choix de la cible	24
2.3.	Choix des ligands.....	25
2.4.	Docking des similaires.....	25
2.5.	Protocole de docking par FlexX	26
2.5.1.	Téléchargement du complexe protéine-ligand.....	26
2.5.2.	Préparation des protéines	26
2.5.3.	Arrimage d'un ligand dans le site d'interaction.....	26

2.5.4. Visualisation des résultats	27
2.6. Prédiction des propriétés ADME	27
2.6.1. Propriétés physico-chimiques	27
2.6.2. Propriétés pharmacocinétiques	28
2.7. Prédiction des propriétés toxicocinétiques.....	29
Résultats et discussion	
1. Fiabilité du programme FlexX.....	31
1.1. Test RMSD.....	31
1.2. Analyse visuelle	31
2. LasR-inhibiteurs.....	32
2.1. Préparation de la protéine LasR.....	32
2.2. Étude des interactions LasR-Chrysophanol.....	33
2.3. Criblage virtuel d'une collection de similaires du chrysophanol.....	34
2.4. Étude des interactions des meilleurs similaires du chrysophanol vis-à-vis LasR....	34
2.4.1. Interaction LasR-S674	34
2.4.2. Interaction LasR- S140	35
3. PqsR-inhibiteurs.....	36
3.1. Préparation de la protéine PqsR.....	36
3.2. Etude des interactions PqsR-Rhein.....	36
3.3. Criblage virtuel d'une collection de similaire de Rhein	37
3.4. Étude des interactions des meilleurs similaires vis-à-vis l'enzyme.....	37
3.4.1. Interaction PqsR-S531	37
4. Prédiction des propriétés ADMET	39
Conclusion	45

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Introduction générale

La conception d'un nouveau médicament est un processus extrêmement complexe et coûteux, jouant un rôle crucial dans les sciences médicales modernes en matière de prévention, de traitement des maladies et de protection de la santé publique. Les approches utilisées pour la conception d'un médicament peuvent varier en termes de méthodologie employée pour obtenir un produit acceptable et commercialisable. De nos jours, grâce au développement des outils informatiques, l'identification et le développement de molécules présentant une activité biologique recherchée reposent de plus en plus sur des approches permettant de prédire l'affinité d'un ligand envers une cible thérapeutique d'intérêt. Les résultats les plus prometteurs sont ensuite vérifiés *in vitro* puis *in vivo*, dans des cellules voire des organismes modèles (Arrault, 2007).

Dans ce contexte, *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie pathogène à Gram négatif représente un défi majeur dans le domaine médical. Elle est responsable d'infections nosocomiales graves chez les patients immunodéprimés, tels que ceux atteints de mucoviscidose ou de brûlures étendues. De plus, sa capacité à former des biofilms et à développer une résistance aux antibiotiques complique davantage son traitement (Skariyachan et al., 2018).

La prévalence élevée de la multirésistance aux antibiotiques chez *P. aeruginosa* et le manque de perspectives de développement de nouveaux antibiotiques nécessitent l'exploration de nouvelles voies thérapeutiques. Parmi celles-ci, le quorum sensing (QS) est un mécanisme de communication entre les bactéries utilisé pour réguler la production de facteurs de virulence et la formation de biofilms. Le système de QS de *P. aeruginosa* repose sur la production et la détection de molécules de signalisation appelées autoinducteurs, permettant aux bactéries de surveiller la densité de population environnante (Mion, 2019). L'inhibition du quorum sensing offre une approche prometteuse pour affaiblir la virulence des bactéries pathogènes et réduire leur résistance aux traitements (LaSarre & Federle, 2013).

L'objectif principal de cette étude est d'explorer les possibilités offertes par le docking moléculaire dans l'identification de nouveaux inhibiteurs naturels du *quorum sensing* chez *P. aeruginosa*, en vue de lutter contre les infections causées par cette bactérie. En utilisant cette approche innovante, nous espérons contribuer à la recherche sur de nouvelles thérapies ciblées et ouvrir des perspectives prometteuses pour le développement de médicaments plus efficaces contre *P. aeruginosa*.

Le présent travail est structuré en trois parties distinctes. La première partie consiste en une revue bibliographique qui aborde, dans un premier temps, la présentation de la bactérie, ainsi que les concepts généraux liés à la formation des biofilms, au quorum sensing, ainsi qu'à son rôle et à son mécanisme chez cette bactérie. Ensuite, nous examinons la résistance de la bactérie aux antibiotiques. Enfin, nous explorons les nouveaux inhibiteurs de la bactérie et du système de *quorum sensing*.

La deuxième partie de ce mémoire se concentre sur la description le matériel et les méthodes utilisés dans le but de réaliser notre objectif de recherche.

La troisième partie est dédiée à la présentation des différents résultats obtenus au cours de cette étude, ainsi qu'à leur interprétation.

Enfin, la conclusion générale synthétise l'ensemble des résultats obtenus dans cette étude et met en évidence les perspectives de recherche qui émergent de ces travaux.

Revue bibliographique

Chapitre I :

Pseudomonas aeruginosa & Quorum sensing

1. Caractéristiques et habitats

Pseudomonas aeruginosa, une bactérie Gram-négative aérobie, non sporulé en forme de bâtonnet.

Fréquemment présente dans l'environnement, elle est couramment retrouvée dans des sources telles que les plantes, les fruits, le sol et les milieux aquatiques tels que les rivières, les lacs et les piscines. Dans certaines situations spécifiques *P. aeruginosa* peut devenir un agent pathogène opportuniste, entraînant des infections graves chez l'homme (Mielko et al., 2019).

Le génome de *P. aeruginosa* est caractérisé par sa taille relativement importante, allant de 5,5 à 7 millions de paires de bases (Mbp), ce qui le distingue des autres bactéries séquencées telles que *Bacillus subtilis* (4,2 Mbp), *Escherichia coli* (4,6 Mbp) et *Mycobacterium tuberculosis* (4,4 Mbp). Ce génome contient une abondance de gènes qui codent pour des enzymes régulatrices essentielles impliquées dans divers processus tels que le métabolisme, le transport et l'efflux de composés organiques. Cette capacité accrue de codage génétique confère à *P. aeruginosa* une grande flexibilité métabolique et une remarquable adaptabilité aux changements environnementaux (Pang et al., 2019).

2. Rôle de *P. aeruginosa* dans les infections humaines

P. aeruginosa est une bactérie opportuniste qui peut causer des infections graves chez les patients hospitalisés. Cette bactérie possède plusieurs propriétés pathogènes, notamment sa capsule, son exotoxine A et diverses protéases. Bien que les individus normaux portent rarement cette bactérie comme partie de leur flore, les patients atteints de brûlures, de cancer et après une intervention chirurgicale sont souvent colonisés et infectés par *P. aeruginosa*. (Neu, 1983). De plus, cette bactérie est fréquemment isolée dans les voies respiratoires chez les personnes immunodéprimées telles que la fibrose kystique. L'incidence de cette infection augmente avec l'âge et peut atteindre jusqu'à 80% chez les adultes (Bendiak & Ratjen, 2009). *P. aeruginosa* est également connue pour sa capacité à s'adapter et à survivre dans des conditions défavorables, ce qui contribue à sa prévalence et à sa persistance dans les milieux cliniques (Moradali et al., 2017).

3. Formation de biofilm

3.1. Définition

Les biofilms sont des communautés microbiennes qui se forment lorsqu'un groupe de micro-organismes s'attache à une surface et est enveloppé dans une matrice extracellulaire produite par ces micro-organismes eux-mêmes (Dufour et al., 2012). Les biofilms représentent la forme de vie microbienne prédominante dans de nombreux environnements. Ils se composent de cellules microbiennes qui sont solidement attachées les unes aux autres et à une surface, qu'elle soit vivante (comme les tissus) ou inerte (comme les implants médicaux). La présence d'une matrice extracellulaire confère aux biofilms une protection contre les agressions extérieures et leur permet de survivre dans des conditions environnementales souvent hostiles (Tremblay et al., 2014).

3.2. *P. aeruginosa* et la formation de biofilm

P. aeruginosa a la capacité de former des biofilms à la fois sur les tissus endommagés et les implants médicaux, en plus de se trouver sous forme de cellules planctoniques libres à l'intérieur de l'hôte (Tuon et al., 2022). Les biofilms représentent plus de 80% de toutes les infections microbiennes associées à des cathéters, des implants de corps étrangers, des infections des voies urinaires, la plaque dentaire et la gingivite. Ces infections sont généralement chroniques et persistantes. Les communautés bactériennes intégrées dans les biofilms présentent des phénotypes de croissance, d'expression génique et de communication cellulaire distincts par rapport à leurs homologues en forme de cellules planctoniques libres (Luo et al., 2017).

4. *Quorum sensing* chez *P. aeruginosa*

4.1. Définition

Le *quorum sensing* (QS) est un mécanisme de communication intercellulaire chez les bactéries qui implique la production, la détection et la réponse à des molécules de signalisation extracellulaires appelées autoinducteurs (AI) (Choudhary & Schmidt-Dannert, 2010). Ces (AI) s'accumulent dans l'environnement lorsque la densité de population bactérienne augmente, et les bactéries surveillent ces signaux pour suivre les variations de leur nombre de cellules et coordonner collectivement l'expression des gènes (Rutherford & Bassler, 2012).

Les molécules impliquées dans le système de communication (QS) ont la capacité de réguler l'expression des gènes non seulement chez les bactéries de la même espèce, mais aussi chez des bactéries appartenant à des espèces différentes. De plus, elles peuvent également influencer l'expression génique chez des organismes eucaryotes (Moghaddam, 2014).

En résumé, le QS permet aux bactéries de coordonner leurs actions en fonction de leur densité cellulaire, favorisant ainsi la coopération et l'adaptation collective dans des processus importants tels que la formation de biofilms et l'expression de facteurs de virulence (Rutherford & Bassler, 2012).

4.2. Rôle du QS

Environ 6 à 10 % du génome de la bactérie *P. aeruginosa* est régulé par le système QS (Kievit, 2009). De nombreux gènes influencés par le QS sont impliqués dans des processus cellulaires fondamentaux tels que la réplication de l'ADN, la transcription de l'ARN, la division cellulaire et la synthèse des acides aminés. D'autres gènes régulés par le QS jouent un rôle dans la virulence de la bactérie. De plus, les composants du QS peuvent agir comme des immunomodulateurs, affectant la réponse immunitaire de l'hôte (Le Berre et al., 2006).

4.3. Mécanismes moléculaires du QS chez *P. aeruginosa*

4.3.1. Système Las

Chez *P. aeruginosa*, le système de détection de quorum initial qui a été découvert est le système Las, ainsi nommé en raison de son rôle régulateur spécifique dans l'expression de l'élastase LasB (Le Berre et al., 2006).

Le gène *lasI* code pour une enzyme impliquée dans la synthèse de la N-(3-oxododécanyloxy)-L-homosérine lactone (3-oxo-C12-HSL), qui est une molécule de la classe des acylhomosérine lactones (AHL). Lorsque la concentration de 3-oxo-C12-HSL atteint un seuil critique, une molécule d'AHL se lie à deux protéines LasR, codées par le gène *LasR*. Le complexe formé par le C12-HSL et LasR agit comme un activateur transcriptionnel pour de nombreux gènes, tels que *lasA*, *lasB*, *aprA*, et d'autres (Schneider et al., 2005).

4.3.2. Système Rhl

Le deuxième système de détection de quorum découvert chez *P. aeruginosa* est connu sous le nom de système Rhl, il joue un rôle spécifique dans la régulation de la production de

rhamnolipides (Ruimy & Andremont, 2004). Le gène *RhlI* code pour une enzyme impliquée dans la synthèse de N-butyrylhomosérine lactone (C4-HSL). Lorsque la concentration de cette molécule atteint un seuil critique, une molécule de C4-HSL se lie à deux protéines *RhIR*, codées par le gène *RhIR*, formant un complexe activateur de la transcription de plusieurs gènes, dont l'opéron *RhlAB* nécessaire à la production de rhamnolipides, ainsi que les gènes *lasA*, *lasB*, *aprA* et *rhlI* (Fig.1). Cette activation coordonnée des gènes est essentielle pour la régulation du quorum sensing et de la production de rhamnolipides dans *P. aeruginosa* (Kievit, 2009).

Plusieurs études ont démontré une hiérarchie entre ces deux systèmes, où le système Las régule positivement l'expression du système *RhlI* (Moghaddam, 2014; Schneider et al., 2005).

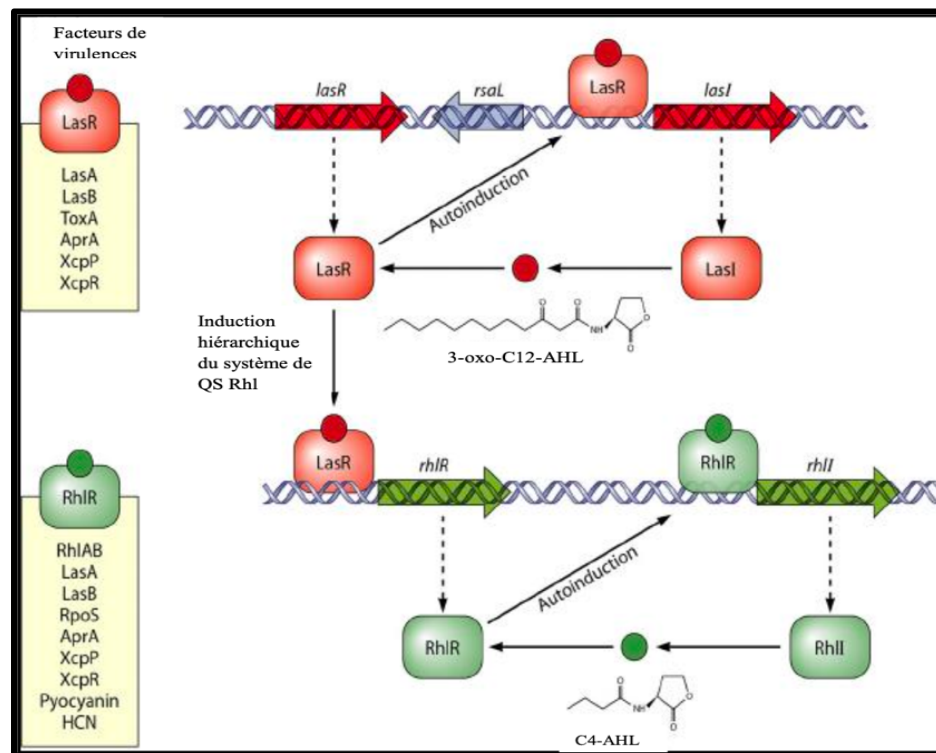


Figure 1 : Régulation de la virulence et interactions entre les deux systèmes de QS las et Rhl chez *P. aeruginosa* (Jimenez et al., 2012).

4.3.3. Système PQS

En 1999, les chercheurs ont découvert un troisième autoinducteur, très différent des deux précédents, appelé 2-heptyl-3-hydroxyquinolone ou PQS (Pseudomonas quinolone signal). La synthèse et la bioactivité du PQS dépendent respectivement des systèmes Las et Rhl. La transcription des gènes impliqués dans la synthèse du PQS est régulée positivement par LasR

et négativement par le système Rhl. Contrairement aux autres signaux, le PQS ne dépendrait pas de la densité bactérienne (Reen et al., 2011).

5. Résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques

P. aeruginosa développe principalement sa résistance aux médicaments grâce à une combinaison de mécanismes intrinsèques et acquis. Parmi ces mécanismes, la formation de biofilms favorise l'émergence de cellules persistantes qui présentent une résistance étendue aux médicaments (Lister et al., 2009). En conséquence, *P. aeruginosa* peut rapidement développer une résistance à différents types d'antibiotiques, tels que les aminoglycosides, les quinolones et les β -lactamines (Qin, S., Xiao, W., Zhou, 2022).

Ces mécanismes de résistance confèrent à *P. aeruginosa* une capacité élevée à échapper à l'action des antibiotiques, ce qui pose un défi important dans le traitement des infections causées par cette bactérie (Horcajada et al., 2019).

5.1. Mécanismes de résistance

Les mécanismes de résistance antimicrobienne chez *P. aeruginosa* peuvent être catégorisés en résistance intrinsèque aux antibiotiques (tels que la perméabilité réduite de la membrane externe, les systèmes d'efflux, les enzymes de modification ou d'inactivation des antibiotiques) et résistance acquise aux antibiotiques (incluant les mutations génétiques et l'acquisition de gènes de résistance) (Barbier & Wolff, 2010). De plus, la résistance adaptative aux antibiotiques peut se produire via le biofilm formé par la bactérie (Mérens et al., 2011).

Les bactéries développent des mécanismes de résistance aux antibiotiques tels que la modification des protéines de porine pour réduire la perméabilité membranaire et empêcher l'entrée des médicaments. Elles utilisent également des systèmes d'efflux actifs pour pomper les médicaments hors de la cellule. Les enzymes peuvent altérer la structure des médicaments ou modifier leur cible, les rendant inactifs ou inefficaces. De plus, les gènes de résistance aux antibiotiques peuvent être transférés entre différentes espèces bactériennes, favorisant ainsi leur propagation (Cockenpot, 2014). Par ailleurs, les molécules de signalisation de détection de quorum induisent la formation de biofilms qui agissent comme des barrières physiques, rendant les bactéries résistantes aux traitements antibiotiques (Mérens et al., 2011).

6. Antibiotiques antipseudomonas

Les infections à *P. aeruginosa* sont devenues de plus en plus difficiles à traiter en raison de l'émergence des souches multirésistantes. Les options thérapeutiques actuelles comprennent l'utilisation de combinaisons d'antibiotiques et le développement de nouveaux antibiotiques tels que le doripénème, plazomicine et POL7001.

6.1. Doripénème

Le doripénème est un carbapénème approuvé par la FDA pour le traitement des infections intra-abdominales compliquées et des infections des voies urinaires (Luyt & Chastre, 2009). Il présente une activité puissante contre *P. aeruginosa*, en particulier chez les patients atteints de mucoviscidose (Mushtaq et al., 2004).

6.2. POL7001

Il inhibe la synthèse de la membrane externe de *P. aeruginosa*, perturbant ainsi sa perméabilité membranaire et entraînant une accumulation de toxines intracellulaires (Pang et al., 2019). Il a montré une efficacité prometteuse dans des modèles murins de pneumonie à *P. aeruginosa* (Cigana et al., 2016).

6.3. Ciprofloxacine

La ciprofloxacine est un antibiotique largement utilisé contre *P. aeruginosa*, mais la résistance à ce médicament est en augmentation rapide en raison de son utilisation extensive (Soares et al., 2019). La résistance peut survenir par l'acquisition de mutations dans les gènes cibles de la ciprofloxacine ou les régulateurs des pompes d'efflux, ainsi que par la formation de biofilms qui protègent les bactéries (Follath et al., 1986).

7. Inhibiteurs naturels de QS (QSI)

Les inhibiteurs naturels du quorum sensing (QSI) réduisent la virulence des bactéries sans compromettre leur croissance, améliorant la sensibilité des biofilms bactériens aux traitements antibiotiques (Li et al., 2022). De nombreuses études ont mis en évidence l'activité inhibitrice de divers composés sur *P. aeruginosa* comme les flavonoïdes, les composés phénoliques présents dans de nombreux végétaux,

Les analogues de l'allicine et l'équisétinée sont des composés inhibiteurs de QS de *P. aeruginosa* (Pang et al., 2019). Des extraits de rhizomes de TemuIreng (*Curcuma aeruginosa*)

ont été étudiés et ont montré la capacité de réduire les réponses de virulence de *P. aeruginosa*, telles que la production de protéases et la formation de biofilms contrôlée par le QS (Li et al., 2022).

Les flavonoïdes comme la quercétine et la naringénine agissent sur le système Las, inhibant les circuits de QS et la formation de biofilms (Li et al., 2022). Des dérivés d'acide ellagique, l'acide tannique et l'acide rosmarinique ciblent le système Rhl et suppriment les facteurs de virulence régulés par le QS (Zhao et al., 2020).

Des analogues de molécules de signalisation, tels que le mBTL, inhibent le récepteur RhlR et préviennent la formation de biofilms (Lee & Zhang, 2015)

Pour le système pqs, la stigmatelline Y et la wogonine perturbent la communication PQS-PqsR (Schütz & Empting, 2018). Le farnésol et le périllaldéhyde inhibent également le système pqs en interférant avec la synthèse de facteurs de virulence (Taylor et al., 2021).

Ces inhibiteurs naturels ouvrent de nouvelles perspectives dans le développement de stratégies antibactériennes ciblant le système de signalisation pqs de *P. aeruginosa*.

Chapitre II :
Généralités sur le
Chrysophanol & le Rhein

Dans le cadre de ce mémoire de fin d'étude, nous nous intéressons à deux molécules spécifiques : le Chrysophanol et le Rhein. Ces composés, d'origine naturelle, ont suscité un intérêt croissant en raison de leurs potentiels effets thérapeutiques. Le Chrysophanol est un dérivé de l'antraquinone trouvé principalement dans certaines espèces de champignons et d'herbes. Le Rhein, également connu sous le nom de rhéine, est un dérivé anthracénique présent dans diverses plantes médicinales, tandis que.

Ces molécules ont été étudiées en profondeur en raison de leurs activités biologiques potentiellement bénéfiques, notamment dans le domaine de la santé. Des recherches récentes ont suggéré que le Rhein et le Chrysophanol pourraient jouer un rôle prometteur en tant qu'inhibiteurs du quorum sensing,

1. Chrysophanol

Le chrysophanol est un dérivé 1,8-Dihydroxy-3-méthyl-antraquinone. Ce composé est largement distribué dans plusieurs organismes, y compris les plantes, les microbes et les insectes.

Le chrysophanol a été rapporté pour la première fois à partir de *Rheum rhabarbarum*, une plante herbacée vivace appartenant à la famille des Polygonaceae (Tutin and Clewer 1911).

1.1. Source

Le chrysophanol est une quinone aromatique tricyclique présente dans divers règnes (végétal, animal et microbien). Il a été identifié dans 14 genres appartenant à différentes familles et plus de 65 espèces, réparties dans diverses parties des plantes telles que les feuilles, les racines, les gousses de rhizome, les fleurs et l'écorce (S. Malik et al. 2010). Les espèces du genre Cassia de la famille des Fabaceae, sont connues pour contenir du chrysophanol. Les genres Rumex et Rheum de la famille des Polygonaceae sont également d'importantes sources de chrysophanol, principalement dans leurs racines et rhizomes (Vasas, Orbán-Gyapai, and Hohmann 2015).

Le chrysophanol est une anthraquinone présente dans divers champignons, mais rarement trouvé dans les champignons endosymbiotiques marins provenant d'organismes et de plantes (Liu et al. 2007). Sept familles de champignons ont été identifiées comme contenant du chrysophanol, notamment Pleosporaceae, Dothideomycetes, Trichocomaceae, Cortinariaceae, Didymellaceae, Montagnulaceae et Hypocreaceae (Donnelly and Sheridan 1986).

1.2. Structure

Sur le plan structural, le chrysophanol est composé d'un noyau anthracénique, qui est une structure aromatique constituée de trois cycles benzéniques fusionnés. Ce noyau anthracénique est substitué par deux groupes fonctionnels : un groupe hydroxy (-OH) en position 1 et un groupe méthyle (-CH₃) en position 8. Ainsi, la formule brute du chrysophanol est C₁₅H₁₀O₄. La présence du groupe hydroxy (-OH) lui confère des propriétés hydrophiles, ce qui signifie qu'il est soluble dans l'eau. Cela peut être attribué à la formation de liaisons hydrogène avec les molécules d'eau. Le groupe méthyle (-CH₃) en position 8 peut jouer un rôle dans l'activité biologique du chrysophanol, car il peut être impliqué dans des interactions avec des récepteurs ou d'autres molécules cellulaires (S. Wu 2020).

Ces caractéristiques structurales sont importantes pour comprendre les propriétés physico-chimiques et biologiques du chrysophanol.

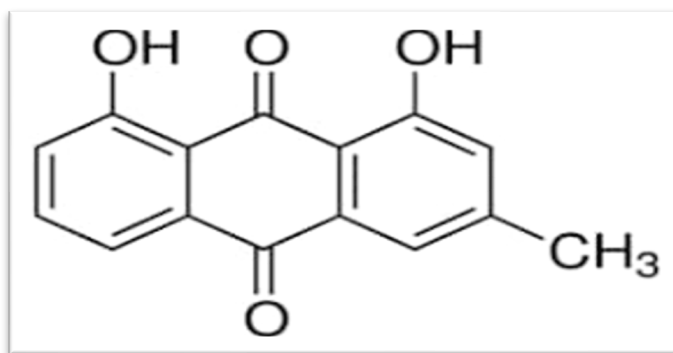


Figure 2 : Structure chimique du Chrysophanol.

1.3. Pharmacologie

Les anthraquinones, y compris le chrysophanol, sont connues depuis longtemps pour leurs propriétés en tant que colorants naturels et agents thérapeutiques. Ils ont démontré une gamme de propriétés pharmacologiques, telles que des effets antioxydants, anti-ulcéreux, anti-inflammatoires, anticancéreux (Lu et al. 2010), neuroprotecteurs, anti-âge, protecteurs pulmonaires et hépatoprotecteurs (Diaz-Muñoz et al. 2018). Des études sur la structure des anthraquinones ont suggéré que le chrysophanol, avec son groupe méthyle en position 3 et deux groupes hydroxyles en position 1 et 8, est responsable de ses effets anticancéreux (Omur et al. 2016).

Le chrysophanol a été étudié en tant qu'agent antibactérien potentiel contre certains agents pathogènes humains (E. M. Malik and Müller 2016). Cependant, les résultats concernant ses valeurs de concentration minimale inhibitrice (MIC) contre *Escherichia coli* sont

contradictoires, nécessitant ainsi des études supplémentaires pour confirmer ces résultats (Singh et al. 2017). De plus, le biofilm bactérien, qui agit comme une couche protectrice contre la pénétration des antibiotiques, représente un défi dans le traitement des infections. Récemment, l'activité antibiofilm du chrysophanol à une concentration de 200 μM a été observée contre *P. aeruginosa* et *Stenotrophomonas maltophilia* (Tremblay, Hathroubi, and Jacques 2014). Cependant, l'effet du chrysophanol sur les facteurs de virulence bactériens et les pompes d'efflux n'a pas été examiné et nécessite donc davantage de recherches.

2. Rhein

Le Rhein est un composé chimique, également connu sous le nom d'émodine-8-O-glucoside, qui est un métabolite secondaire appartenant à la famille des anthraquinones. Il est principalement présent dans certaines plantes médicinales, notamment la rhubarbe chinoise (*Rheum palmatum*). Le Rhein a été étudié pour ses propriétés pharmacologiques potentielles, y compris ses effets antimicrobiens (Guidi et al. 2016).

2.1. Source

Le Rhein est un métabolite naturel présent dans diverses plantes, notamment celles de la famille des Polygonaceae. Il est souvent extrait des racines et des écorces de plantes médicinales telles que la rhubarbe chinoise (*Rheum officinale*) et le séné (*Cassia angustifolia*). Ces plantes sont utilisées depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour leurs propriétés laxatives, anti-inflammatoires et diurétiques (Peters and Moore 2008). L'écorce des racines de rhubarbe chinoise est généralement séchée et broyée pour obtenir une poudre riche en anthraquinones, notamment en rhéine (Layek et al. 2008).

2.2. Structure

La structure chimique de la rhéine est caractérisée par un noyau anthracénique avec deux groupes hydroxyles (-OH) en position 4 et 5, ainsi que deux groupes cétoniques (-C=O) en position 9 et 10. Cette structure confère au rhéine ses propriétés biologiques et ses activités pharmacologiques potentielles (Yang et al. 2011).

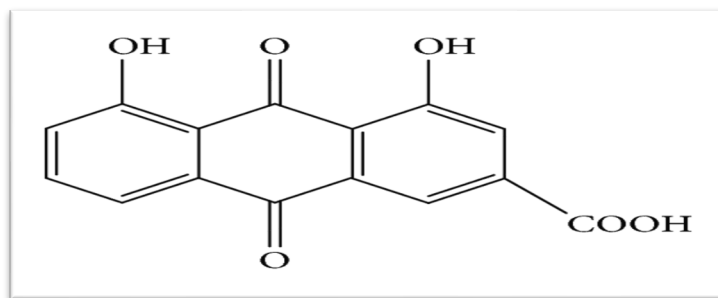


Figure 3: Structure chimique du Rheine.

2.3. Pharmacologie

Sur le plan pharmacologique, le Rhein a été étudié pour ses diverses propriétés biologiques. Il a été identifié comme ayant des effets néphroprotecteurs (Peng et al. 2013), anti-inflammatoires, antitumoraux et antioxydants potentiels (Polimenakos et al. 2012).

Il a également été exploré pour son activité inhibitrice sur certaines enzymes impliquées dans des processus pathologiques, tels que les enzymes impliquées dans la régulation de la coagulation sanguine. De plus, le rhéine présente une certaine activité inhibitrice sur la croissance de *P. aeruginosa*, une bactérie pathogène opportuniste impliquée dans de nombreuses infections nosocomiales et associée à une résistance aux antibiotiques (Zheng et al. 2017).

Des études ont montré que le rheim est capable d'inhiber le quorum sensing chez différentes souches bactériennes. En perturbant cette communication, le rheim peut réduire la virulence des bactéries et leur capacité à former des biofilms, ce qui peut être bénéfique pour le traitement des infections bactériennes (Peerzada, Kanhed, and Desai 2022).

Le Rhein a démontré des propriétés antibactériennes contre différentes souches bactériennes. Il a été étudié principalement pour son activité contre les bactéries pathogènes telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Helicobacter pylori*. Le rheim peut interférer avec la croissance et la multiplication des bactéries, ce qui en fait un agent potentiel pour le développement de nouveaux antibiotiques.

Chapitre III :

Docking moléculaire

1. Introduction

Le docking moléculaire est une méthode de simulation informatique qui permet de prédire l'interaction entre deux molécules, généralement une petite molécule (le ligand) et une macromolécule (la cible), telles que des protéines. Cette méthode est utilisée dans différents domaines de recherche, notamment la découverte de médicaments, la biochimie structurale et la biologie moléculaire (Li et al., 2019).

L'historique et le développement du docking moléculaire remontent aux années 1980, lorsque les premières tentatives ont été faites pour modéliser l'interaction entre les protéines et les ligands. Depuis lors, le docking moléculaire est devenu une méthode de plus en plus sophistiquée et fiable, grâce à l'amélioration des techniques de modélisation et à l'augmentation de la puissance de calcul des ordinateurs (Díaz-Real et al., 2018).

2. Principe du docking moléculaire

Le docking moléculaire est une méthode qui consiste à positionner une petite molécule appelée ligand dans un site de liaison actif d'une macromolécule, telle qu'une protéine cible, en utilisant une représentation en trois dimensions. Le but est de trouver une configuration spatiale optimale pour le complexe ligand-cible qui favorise une interaction stable et spécifique entre les deux molécules.

Le processus de docking moléculaire se compose de deux phases principales. Tout d'abord, la phase de **docking** qui implique la génération et l'exploration de toutes les conformations possibles entre la protéine cible et le ligand. Ensuite, la phase de **scoring** qui consiste à évaluer numériquement chaque conformation générée pour identifier celle qui représente le mode d'interaction optimal entre le ligand et le récepteur. Le scoring permet de déterminer une fonction de score pour chaque ligand par rapport à son récepteur, qui est utilisée pour prédire la force de liaison entre les deux molécules et ainsi prédire l'affinité du ligand pour la protéine cible (Halperin et al., 2002; Schulz-Gasch & Stahl, 2004).

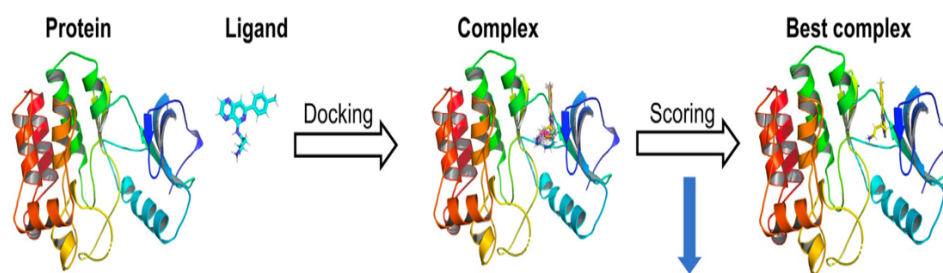


Figure 4 : Docking moléculaire.

3. Évolution des méthodes du docking moléculaire

L'évolution des méthodes de docking moléculaire est un domaine de recherche en constante évolution depuis les années 1970. Au fil du temps, de nombreuses méthodes ont été développées, chacune ayant ses avantages et ses limites (Sun et al., 2009).

On peut classer les méthodes de docking en fonction de la manière dont elles prennent en compte la flexibilité du ligand, en trois catégories.

3.1. Docking rigide

Cette première catégorie de méthodes de docking considère que la protéine et le ligand sont complètement rigides, ce qui signifie que seuls les degrés de liberté de translation et de rotation du ligand par rapport au récepteur sont pris en compte. Ce type, basé sur le concept « Clé-serrure » est le docking le plus simple et rapide (McLaughlin et al., 2008).

3.2. Docking semi-flexible

C'est une technique de simulation de docking moléculaire qui prend en compte la flexibilité partielle du ligand pendant la liaison. Cette méthode permet à certaines parties du ligand de bouger pour s'adapter à la protéine cible, tandis que d'autres parties restent fixes. En comparaison avec le docking rigide, cette approche permet d'obtenir des résultats plus précis en prenant en compte les mouvements flexibles des atomes dans la structure moléculaire (Rampioni et al., 2019).

3.3. Docking flexible

Il est généralement utilisé pour étudier avec précision l'interaction entre les molécules. Il permet à tous les atomes des molécules de bouger pour s'adapter mutuellement, offrant ainsi une approche plus précise et réaliste pour étudier les interactions moléculaires. Le processus de ce type est trop compliqué (Barbosa et al., 2015).

4. Outils du Docking moléculaire

4.1. Récepteur

Avant de réaliser un docking moléculaire, il est important de disposer de la structure tridimensionnelle du récepteur, qui est une protéine capable de se lier spécifiquement et de manière réversible à un ligand. La banque de données Protein Data Bank (PDB) est une source gratuite et accessible de structures 3D de différentes protéines, qui peut être utilisée pour identifier et sélectionner des récepteurs appropriés pour l'étude du docking moléculaire. La

disponibilité de la structure tridimensionnelle des protéines est un élément essentiel à prendre en compte avant de réaliser un docking moléculaire. Ces structures sont disponibles via la banque de données Protein Data Bank (PDB).

Le récepteur est souvent représenté sous forme de modèle 3D, généralement obtenu à partir de structures de protéines cristallisées ou de simulations de dynamique moléculaire. Les modèles peuvent également être améliorés en utilisant des techniques de modélisation moléculaire telles que l'optimisation de l'énergie ou le remodelage de boucles (Grosdidier, 2015).

4.2. Ligands

Le ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule cible (le récepteur) pour induire un effet thérapeutique souhaité. Comme pour le récepteur, la structure 3D du ligand est nécessaire pour effectuer le docking moléculaire. Il existe deux moyens pour obtenir la structure 3D du ligand : le premier consiste à utiliser des ligands obtenus à travers la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer sous différents formats (pdb, mol, mol2...etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl. Le deuxième moyen consiste à consulter des banques de données de ligands (chimiothèques), qui répertorient un nombre considérable de structures 3D de molécules prêtes pour le docking. Parmi les chimiothèques les plus utilisées, nous pouvons citer : PubChem, Zinc, la Chimiothèque Nationale Française....etc. (Raheja et al., 2016; Rudnitskaya et al., 2010; Stefaniu et al., 2019).

5. Programmes de Docking

Il existe de nombreux programmes de docking disponibles, chacun avec ses propres fonctionnalités et avantages. Certains des programmes les plus populaires sont **AutoDock**, **DOCK**, **GOLD**, **Glide**, **FlexX**, **Surflex-Dock**, **Glide**, et **Fred**. Ces programmes présentent des algorithmes de recherche et des fonctions de score variés (Sousa et al., 2006).

Tableau 1: Adresse des principaux programmes de Docking moléculaire (Taylor et al., 2003).

Nom	Éditeur	Site Internet
Autodock	Scripps	https://autodock.scripps.edu/download-autodock4/
Dock	UCSF	https://dock.compbio.ucsf.edu
Gold	CCDC	https://www.ccdc.cam.ac.uk/solutions/software/gold/
FlexX	BioSolveIT	https://www.biosolveit.de/FlexX/
Surflex-Dock	Biopharmics	https://www.biopharmics.com/solutions/
Glide	Schrödinger	https://www.schrodinger.com/products/glide
Fred	OpenEyes	https://www.eyesopen.com/oedocking

5.1. Programme FlexX

FlexX est un logiciel de docking moléculaire développé par la société allemande BioSolveIT GmbH. Il utilise une approche hybride de docking rigide/semi-flexible pour permettre aux ligands de s'adapter à la conformation du récepteur.

FlexX utilise une fonction d'évaluation de scoring rapide pour filtrer les poses de docking les plus probables, qui sont ensuite affinées par une optimisation de gradient. Le logiciel prend en compte les interactions électrostatiques, les interactions hydrophobes et les ponts hydrogène pour prédire les poses de docking les plus probables (Mansfield, 2001).

FlexX est capable de gérer des ligands linéaires, cycliques et des peptides, ainsi que des protéines flexibles et des métaux. Le logiciel a été utilisé avec succès dans plusieurs études de docking moléculaire, en particulier dans la découverte de nouveaux médicaments (Mansfield, 2001).

Matériels et méthodes

1. Matériel

Nous avons employé divers programmes et outils informatiques pour mener à bien notre recherche.

1.1. Micro-ordinateurs

Dans cette étude, nous avons travaillé sur trois ordinateurs portables dont les caractéristiques sont rassemblées dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Propriétés des microordinateurs utilisés.

	Micro-ordinateur 1	Micro-ordinateur 3
NOM	Dell Latitude 3189	Dell Latitude E7250
Mémoire (RAM)	8 Go	4 Go
Type de Système	Système D'exploration (64 bits)	Système D'exploration (64 bits)
Processeur	Intel@1.10GHz	Intel@2.30GHz
Système D'exploration	Windows10 Professionnel	Windows10 Professionnel

1.2. Programmes

Nous avons eu recours à plusieurs programmes informatiques dans le cadre de cette étude.

1.2.1. OpenBable

OpenBabel est un logiciel libre qui est largement utilisé pour des applications de bio-informatique. Nous avons utilisé la version 2.0.2 d'OpenBabel pour convertir les différents fichiers d'un format à un autre, ce qui s'est avéré très utile pour notre étude

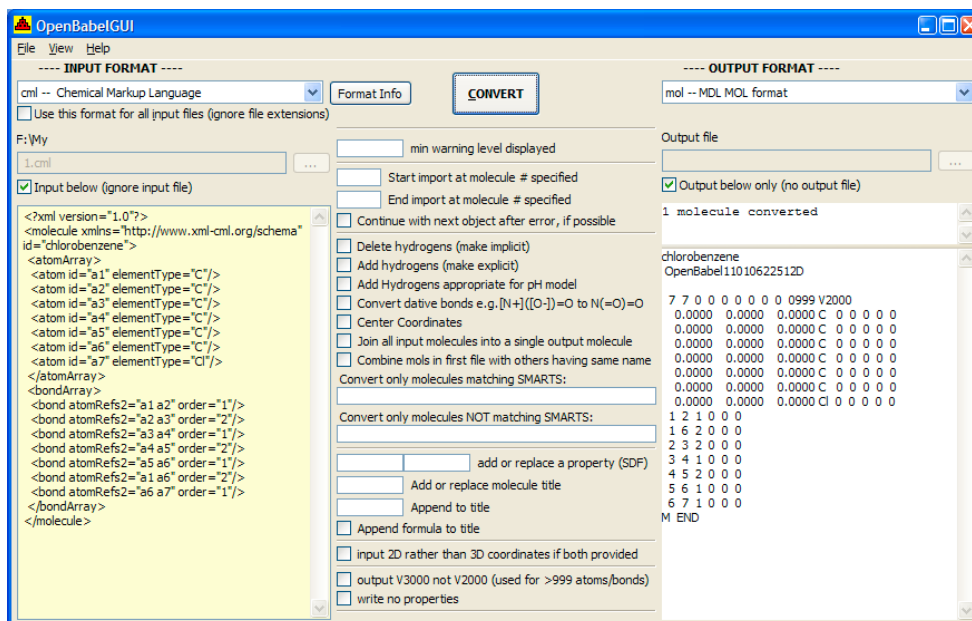


Figure 5 : L'interface graphique OpenBabel

1.2.2. FlexX

FlexX est un logiciel de docking moléculaire basé sur une méthode de recherche heuristique. Il permet de prédire comment une molécule, appelée ligand, va se lier à une protéine cible en explorant différents modes de liaison et en évaluant l'affinité de chaque pose. FlexX est largement utilisé en bio-informatique pour la conception de nouveaux médicaments, la prédiction des interactions moléculaires et l'étude des structures protéiques. La version 2.1.6 de FlexX a été utilisée dans notre étude pour l'arrimage moléculaire.

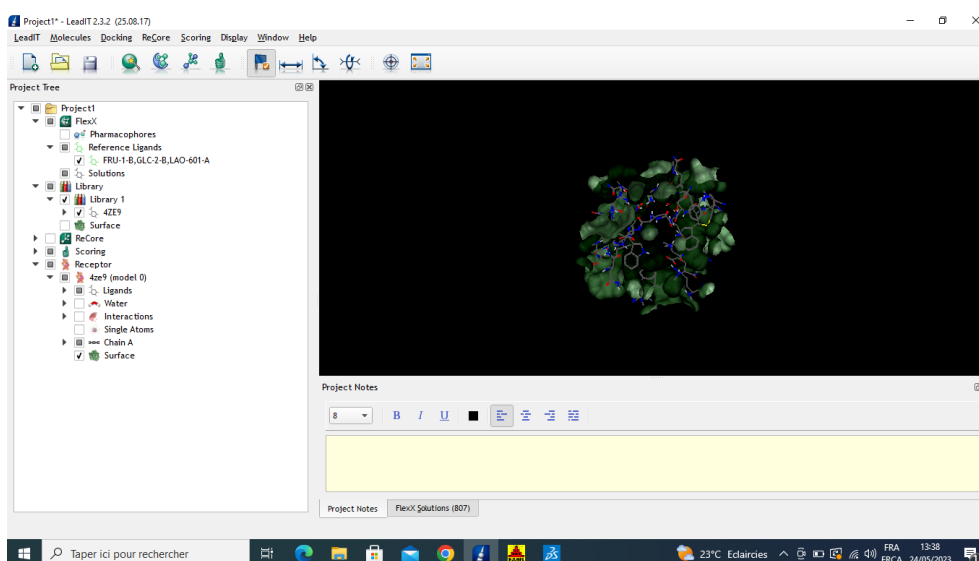


Figure 6: L'interface graphique de FlexX

1.2.3. Discovery Studio Visualizer

Discovery Studio Visualizer est un logiciel de visualisation moléculaire utilisé pour visualiser et analyser des structures moléculaires en 3D. Ce logiciel prend en charge de nombreux formats de fichiers de structures moléculaires couramment utilisés tels que les fichiers PDB, MOL, SDF, et XYZ.

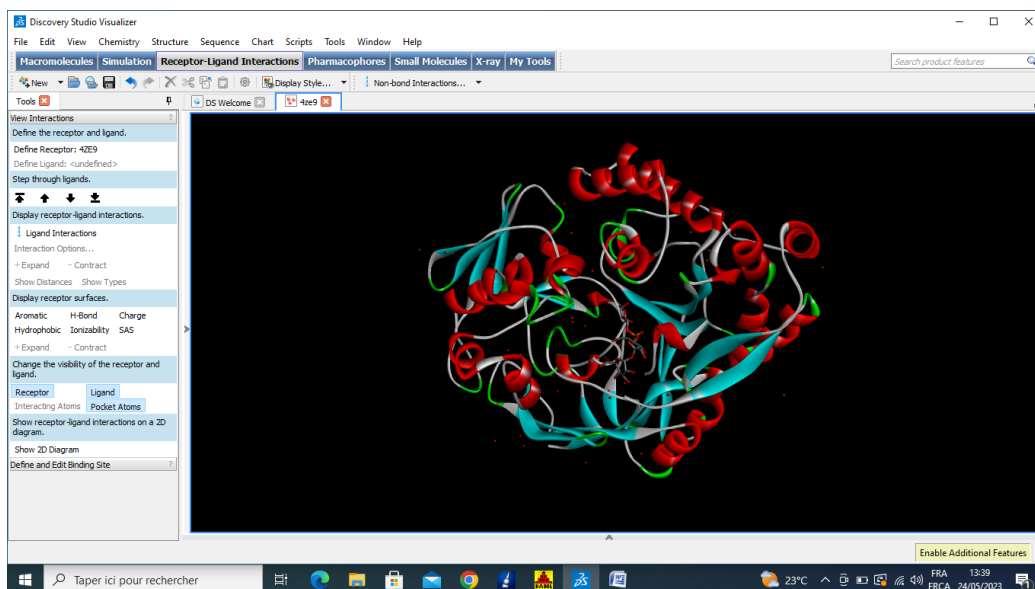


Figure 7 : L'interface graphique du Discovery Studio Visualizer.

1.2.4. SwissADME

SwissADME est un site web utilisé pour prédire les propriétés pharmaceutiques et pharmacocinétiques des petites molécules. Il fournit une analyse complète de différents paramètres, tels que la solubilité, la perméabilité, la biodisponibilité, la toxicité, et la capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique. SwissADME permet aux chercheurs de prédire rapidement les propriétés de leurs molécules et d'évaluer leur potentiel pour devenir des médicaments efficaces.

Nous avons utilisé ce serveur pour la prédiction des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des inhibiteurs développés.

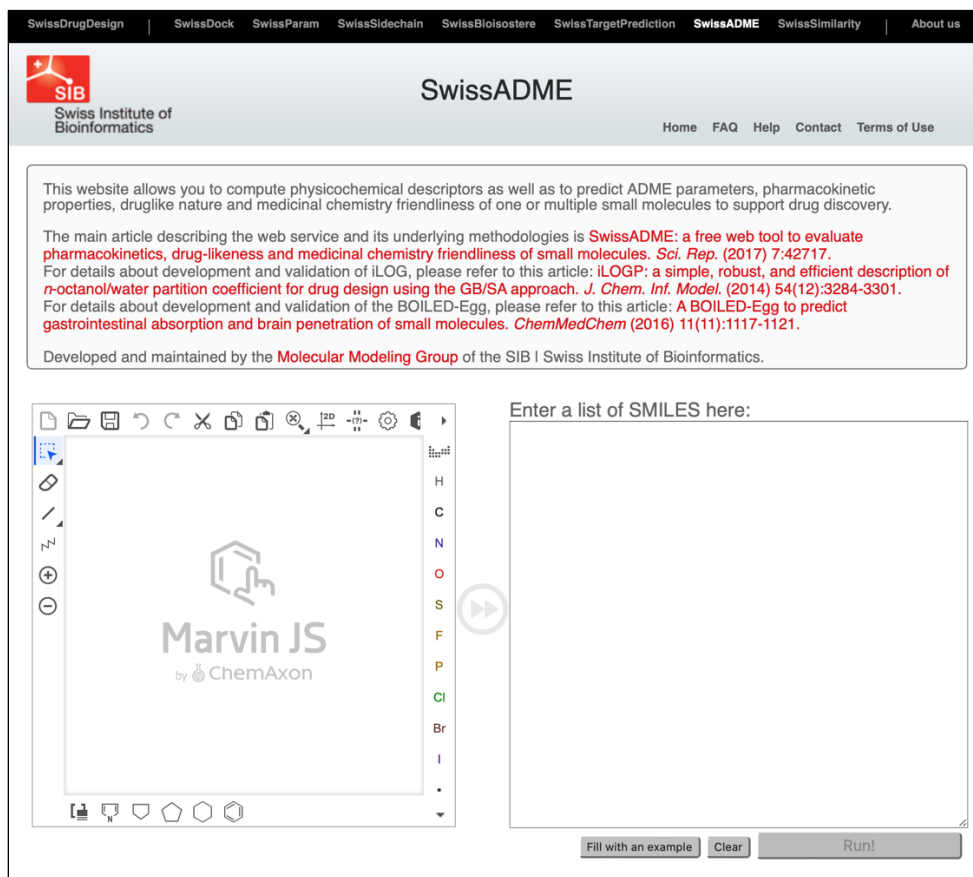


Figure 8 : L'interface graphique de SwissADME.

1.3. Banques de données

1.3.1. PDB

La banque de données PDB (Protein Data Bank) est une banque de données publique de structures moléculaires de macromolécules biologiques, telles que des protéines, des acides nucléiques et des complexes de protéines-ligands. Elle stocke des informations sur les coordonnées atomiques précises de ces molécules, obtenues par des techniques expérimentales telles que la cristallographie aux rayons X ou la RMN.

Grâce à cette banque de données, nous avons pu accéder à la structure tridimensionnelle de notre molécule cible ainsi que les structures des complexes protéine-ligand utilisés pour vérifier leur fiabilité par le biais de l'analyse du RMSD.

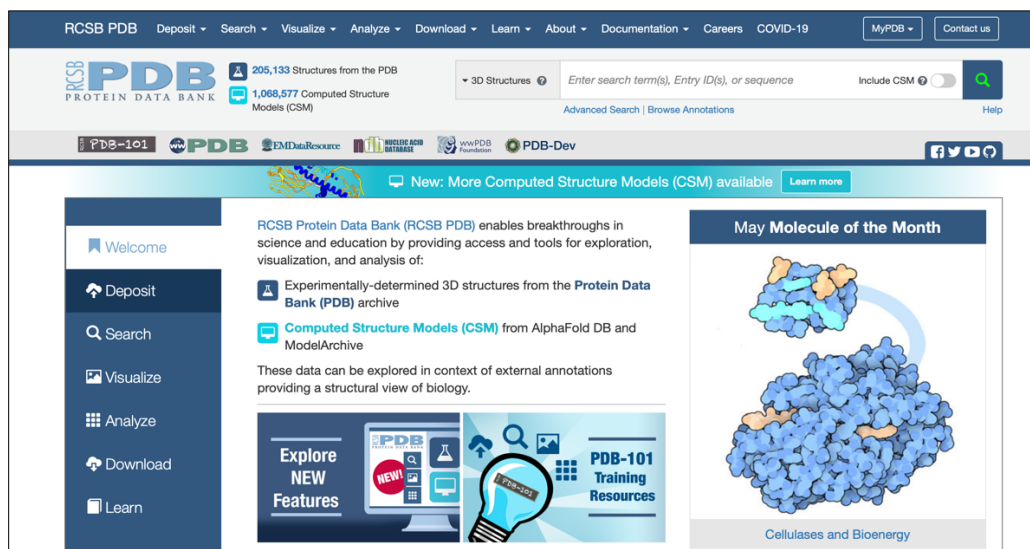


Figure 9 : L'interface d'accueil de PDB.

1.3.2. PubChem

PubChem est une banque de données en ligne de molécules chimiques, gérée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI) des États-Unis. Elle répertorie des millions de composés chimiques avec une variété de données sur leur structure, leur propriété et leur activité biologique, ainsi que leur utilisation en recherche et développement de médicaments.

Elle a été utilisée pour le téléchargement des similaires de l'inhibiteur de la protéine cible.

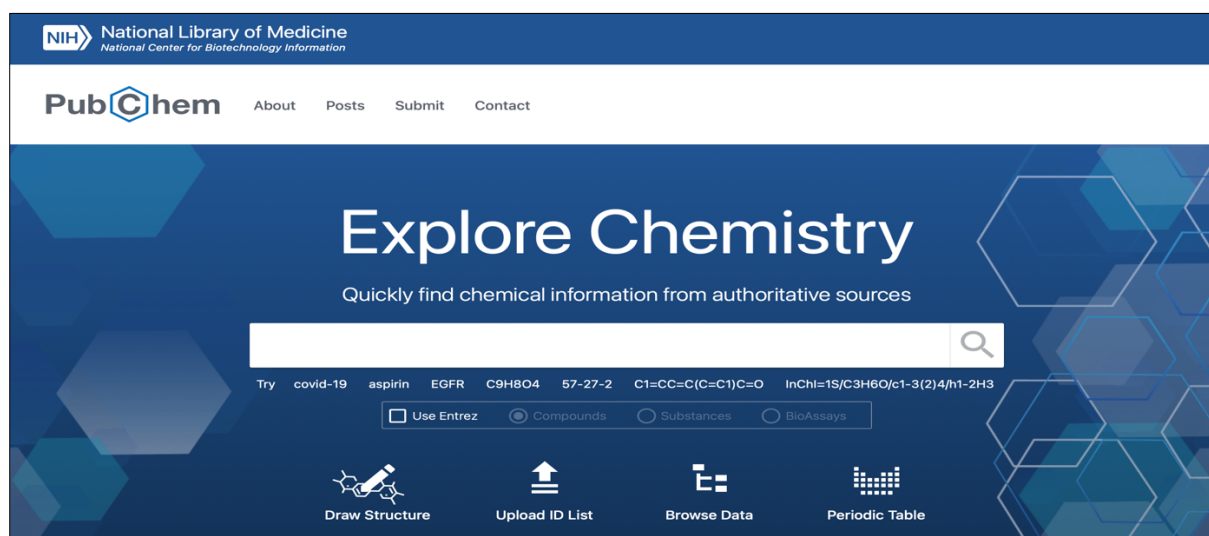


Figure 10 : Interface d'accueil de PubChem.

1.3.3. PkCSM

Le pkCSM est un outil Web gratuit qui fournit des modèles prédictifs rapides pour les propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et de toxicité potentielle d'un composé. En utilisant ce serveur, nous pouvons prédire les propriétés ADMET (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité) des inhibiteurs en cours de développement.

Il convient de noter que les prédictions d'outils *in silico* tels que pkCSM sont basées sur des modèles statistiques et des bases de données existantes, et qu'elles ne remplacent pas les études expérimentales approfondies. Cependant, elles peuvent constituer une première étape utile dans le processus de développement de médicaments en fournissant des indications préliminaires sur les propriétés des composés.

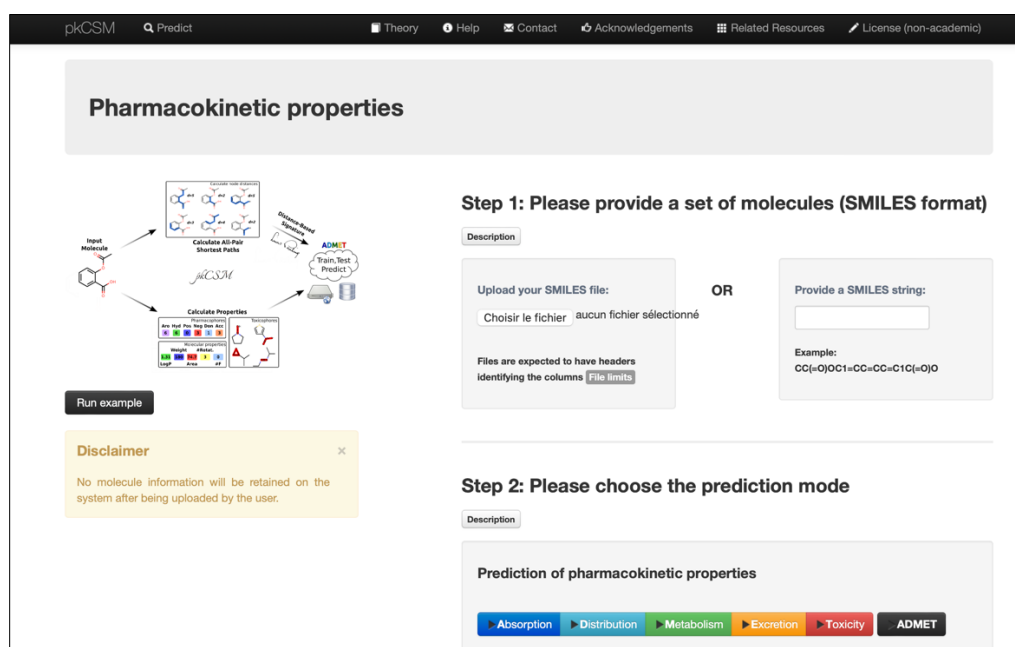


Figure 11 : L'interface d'accueil de pkCSM.

2. Méthodes

2.1. Tests de fiabilité du programme de docking

Avant de commencer l'étude de docking moléculaire, il est nécessaire de vérifier la fiabilité du programme FlexX par le test RMSD.

2.1.1. Test RMSD

Le test RMSD (Root Mean Square Deviation) est une mesure de la distance entre deux structures moléculaires. Il est couramment utilisé pour évaluer la précision des prédictions de docking moléculaire, en comparant la conformation prédite du ligand à celle observée dans la structure cristallographique expérimentale. Le RMSD est calculé en superposant les positions atomiques des deux structures. Une valeur de RMSD plus faible indique une meilleure correspondance entre les deux structures et donc une meilleure précision de la méthode de docking moléculaire.

Les experts considèrent que les protocoles de docking les plus performants produisent des valeurs de RMSD inférieures à 2 Å. Toutefois, si la valeur de RMSD dépasse ce seuil, la précision du positionnement est considérée comme mauvaise, ce qui conduit à l'invalidation du protocole.

Dans notre étude, nous avons effectué un test de fiabilité du programme FlexX en utilisant le test RMSD sur 100 complexes protéine-ligand sélectionnés de manière arbitraire à partir de la base de données PDB.

2.1.2. Analyse visuelle

Après le test RMSD, l'analyse visuelle vient en complément pour vérifier la validité des simulations. Cette étape nous permet de comparer visuellement la superposition du modèle de chaque ligand simulé par rapport à sa pose de référence.

2.2. Choix de la cible

Nous avons choisi comme cible deux protéines liées au QS chez notre bactérie *P. aeruginosa* qui sont le LasR et PqsR. La structure 3D des protéines est disponible via la banque de données PDB. Cette dernière nous a proposé plusieurs complexes de structures cristallographiques de ces protéines. Neuf complexes, leurs codes pdb ainsi que leur résolution sont représentés dans le tableau suivant

Tableau 3 : Code PDB des complexes " LasR/inhibiteur ", " Pqsr/inhibiteur " avec leur résolution.

protéine	Code PDB	Code ligand	Résolution (Å)
LasR	3IX3	OHN	1.40
	6D6B	FXS	1.70
	6D6D	FY7	1.70
	2UV0	OHN	1.80
	6D6A	FXD	1.90
	6MVM	K4G	1.90
	6MVN	3M5	2.20
Pqsr	4JVD	NNQ	2.95
	6YZ3	Q25	3.00

Nous avons choisi de nous concentrer sur le complexe 3IX3 de LasR, co-cristallisé avec l'inhibiteur portant le code OHN et le complexe 4JVD de Pqsr co-cristallisé avec l'inhibiteur NNQ, car ils ont la plus petite résolution de (1.40 Å) et (2.95 Å) parmi toutes celles proposé par la PDB. Ces complexes ont été téléchargés sous format pdb.

2.3. Choix des ligands

Concernant le choix des inhibiteurs on a choisis des inhibiteurs naturels qui sont le chrysophanol pour le code 3IX3 et le Rhein pour le 4JVD

Le chrysophanol est un composé naturel dérivé d'un groupe d'anthraquinones présent dans certaines plantes, notamment dans la rhubarbe chinoise. Il possède des propriétés anti-inflammatoires, antifongiques, antitumorales et antioxydantes.

Le Rhein est un composé naturel connu pour ses propriétés anti-inflammatoires, diurétiques, laxatives et antimicrobiennes.

Ces deux inhibiteurs ont été utilisés comme ligands de référence pour le docking moléculaire avec le programme FlexX.

2.4. Docking des similaires

A l'aide du programme Chem3D. Ce dernier nous a permis de télécharger plus de 1256 similaires du chrysophanol et plus de 892 similaires du Rhein en format 3D.

2.5. Protocole de docking par FlexX

2.5.1. Téléchargement du complexe protéine-ligand

La première étape consiste à sélectionner le complexe LasR-ligand et Pqrs-ligand à partir du bureau de l'ordinateur après leurs téléchargements à partir de la PDB. Le complexe apparaît sur l'interface graphique de FlexX.

2.5.2. Préparation des protéines

Afin de préparer la protéine pour un éventuel docking moléculaire, il est nécessaire de sélectionner au préalable la chaîne qui doit servir à cet effet. Dans notre cas, la protéine 4JVD ne disposant que d'une seule chaîne A, et la protéine 3IX3 qui dispose de deux chaînes A et B, nous avons sélectionné la chaîne A sur les deux enzymes pour réaliser cette opération.

Le logiciel FlexX utilise, par défaut- une distance de 6,5 angströms pour déterminer les atomes de la protéine et les atomes du ligand de référence qui se trouvent en liaison. En d'autres termes, cette distance est utilisée pour identifier les interactions potentielles entre les deux molécules.

2.5.3. Arrimage d'un ligand dans le site d'interaction

Pour réaliser cette opération, il est nécessaire de suivre les différentes étapes suivantes :

- Choix de l'option « docking » qui existe dans le logiciel. FlexX
- Sélection du ligand
- Lancement de l'opération de docking moléculaire

Le docking par FlexX se fait par une fragmentation puis reconstruction du ligand afin de prédire la meilleure interaction du ligand avec le site actif de l'enzyme.

FlexX utilise la fonction FlexX-score, qui se base sur la fonction de Böhm, pour évaluer et classer les ligands en fonction de leur affinité avec le récepteur. Cette fonction de score prend en compte divers paramètres tels que les interactions stériques, électrostatiques et hydrophobes entre les atomes du ligand et du récepteur. En évaluant ces paramètres, FlexX-score permet d'estimer l'énergie libre de liaison entre le ligand et le récepteur, ce qui peut être utilisé pour prédire l'affinité relative de différents ligands pour le même site actif. En fin de compte, cette

approche permet de hiérarchiser les ligands en fonction de leur potentiel pour une utilisation en tant que médicaments ou outils de recherche.

2.5.4. Visualisation des résultats

Une fois l'opération de docking moléculaire terminée, FlexX présente les résultats sous forme d'un tableau qui classe les différentes poses du ligand étudié par ordre décroissant d'énergie d'interaction. Ce tableau permet de visualiser en détail les énergies d'interaction de chaque pose de ligand ainsi que les différentes interactions entre le ligand et l'enzyme. En outre, FlexX fournit également une représentation schématique des différentes interactions qui se forment entre le ligand et l'enzyme, ce qui peut nous aider à mieux comprendre les interactions moléculaires en jeu.

2.6. Prédiction des propriétés ADME

La prédiction des propriétés ADMET est une méthode qui permet de prédire les propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques d'une molécule. Le terme ADMET est un acronyme pour Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité.

L'analyse ADMET peut être utilisée à divers stades de développement d'un médicament, depuis la conception initiale d'une molécule jusqu'à sa phase d'essais cliniques. Cette analyse fournit des informations qui aident les chercheurs à évaluer le potentiel thérapeutique et les risques pour la santé d'une molécule.

Dans ce travail nous avons utilisé le serveur SwissADME pour prédire les propriétés pharmacocinétiques et physico-chimiques des composés ayant montré les meilleures énergies d'interaction, prédits par docking moléculaire.

2.6.1. Propriétés physico-chimiques

➤ Règle de Lipinski

La règle de Lipinski, également connue sous le nom de règle des cinq, est une méthode largement utilisée pour prédire la capacité d'une molécule à devenir un médicament efficace. Cette règle est basée sur cinq critères physico-chimiques clés pour la biodisponibilité d'un médicament. Les critères incluent :

- Le poids moléculaire de la molécule doit être inférieur à 500 Dalton.

- Le coefficient de partition octanol-eau (log P) de la molécule doit être inférieur à 5.
- Le nombre d'accepteurs de liaison hydrogène ne doit pas dépasser 10.
- Le nombre de donneurs de liaison hydrogène ne doit pas dépasser 5.
- Le nombre de liaisons flexibles ne doit pas dépasser 15.

➤ Règle de Veber

Dans le but de parvenir à un objectif similaire, Veber et ses collaborateurs ont étendu la règle de Lipinski en introduisant deux nouvelles contraintes. Ils ont ajouté une limite sur la surface polaire totale (TPSA) de la molécule, qui doit être inférieure à 140 Å², ainsi qu'une limite sur le nombre de liaisons pouvant tourner librement autour de leur axe, qui doit être inférieur ou égal à 10. Ces contraintes supplémentaires sont destinées à améliorer la prédiction de la biodisponibilité orale des molécules candidates pour le développement de médicaments.

➤ Solubilité dans l'eau

La solubilité dans l'eau d'une substance est sa capacité à se dissoudre de manière homogène dans l'eau. Cette caractéristique est importante en chimie et en pharmacologie car elle peut affecter l'absorption, l'efficacité et la toxicité des composés. Les substances ayant une forte solubilité dans l'eau sont privilégiées pour le développement de médicaments car elles peuvent être administrées par voie orale et facilement absorbées par l'organisme.

➤ Accessibilité à la synthèse

Le processus d'évaluation de l'accessibilité synthétique d'un candidat médicament consiste à évaluer la facilité de synthèse des composés chimiques. Cette étape est cruciale dans la recherche et le développement de molécules thérapeutiques, indépendamment de la méthode utilisée pour les identifier. Il utilise une échelle de notation de 1 à 10 pour évaluer l'accessibilité synthétique des molécules, où 1 correspond à une synthèse facile et 10 à une synthèse très difficile.

2.6.2. Propriétés pharmacocinétiques

➤ Absorption gastro-intestinal (GI)

Lorsqu'un médicament est administré par voie orale, il doit traverser la barrière digestive pour être absorbé. Ce passage peut se faire par simple diffusion passive ou impliquer des processus plus complexes impliquant des transporteurs qui facilitent ou au contraire limitent l'absorption du médicament.

➤ **Perméabilité hémato-encéphalique (BBB)**

La capacité de nos meilleurs inhibiteurs à traverser la barrière hémato-encéphalique a été simulé par le serveur SwissADME. Cette caractéristique est critique non seulement pour les médicaments psychotropes qui doivent cibler le système nerveux central, mais aussi pour les médicaments qui sont destinés à agir sur des organes périphériques et ne doivent pas traverser cette barrière pour éviter tout effet indésirable sur le cerveau.

➤ **Inhibition des cytochromes P450**

Les cytochromes P450 sont des enzymes hépatiques qui jouent un rôle important dans la métabolisation des substrats endogènes et exogènes, notamment des médicaments. Les principaux CYP impliqués dans le métabolisme des médicaments sont le CYP1A2, le CYP2C9, le CYP2C19, le CYP2D6 et le CYP3A4. Cependant, certains médicaments peuvent inhiber ces enzymes en se liant à leur site actif et ainsi altérer leur capacité à métaboliser les autres médicaments. Par conséquent, il est préférable de privilégier les médicaments qui ne sont pas des inhibiteurs des cytochromes P450.

2.7. Prédiction des propriétés toxicocinétiques

Les composés les plus prometteurs ont été soumis à une étape de filtrage supplémentaire en utilisant l'outil pkCSM pour prédire leurs propriétés toxicocinétiques. Ces propriétés comprennent :

➤ **Test d'Ames**

Le test d'Ames est une méthode couramment employée pour évaluer la capacité d'un composé à provoquer des mutations en utilisant des bactéries. Un résultat positif indique que le composé est mutagène, ce qui signifie qu'il peut agir comme un agent cancérigène. Ce modèle prédictif a été élaboré à partir des données de plus de 8000 tests d'Ames effectués sur divers composés.

➤ **Hépatotoxicité**

Les dommages hépatiques causés par les médicaments représentent une préoccupation majeure en termes de sécurité lors du développement de médicaments et constituent une cause importante d'échec dans ce domaine. Ce prédicteur a été élaboré en se basant sur les effets indésirables liés au foie observés chez l'homme pour 531 composés différents. Un composé

était considéré comme hépatotoxique s'il présentait au moins un événement pathologique ou physiologique lié au foie, ayant une forte corrélation avec une perturbation de la fonction hépatique normale.

➤ **L'inhibition de l'HERG I et II**

Le gène Human Ether-à-go-go-Related Gene (hERG) code pour une protéine qui agit en tant que canal ionique, permettant la sortie du potassium de la cellule. L'inhibition de ces canaux potassiques, régis par ce gène, constitue la principale cause du développement du syndrome du QT long acquis, qui entraîne des arythmies ventriculaires potentiellement mortelles. L'inhibition des canaux hERG a conduit au retrait de nombreux composés du marché pharmaceutique. Ces prédicteurs ont été construits en utilisant des informations sur l'inhibition des canaux hERG I et II pour respectivement 368 et 806 composés.

➤ **Sensibilisation cutanée**

La sensibilisation cutanée est un effet indésirable potentiel associé à l'application de produits sur la peau. Il est important d'évaluer la capacité d'un composé, susceptible d'entrer en contact avec la peau, à provoquer une dermatite de contact allergique, afin d'assurer la sécurité. Ce prédicteur a été développé en utilisant un ensemble de 254 composés qui ont été évalués pour leur capacité à induire une sensibilisation cutanée.

Résultats et discussion

1. Fiabilité du programme FlexX

1.1. Test RMSD

Nous avons effectué des tests RMSD sur 100 complexes protéine-ligand choisis au hasard à partir de la PDB. Les résultats de ce test sont représentés dans la figure 12.

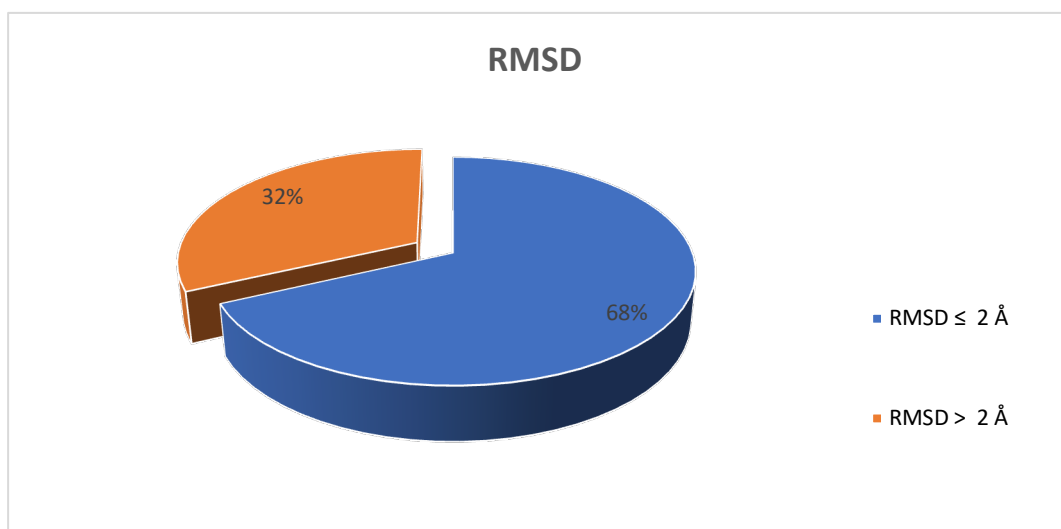


Figure 12 : Résultat du test RMSD exprimés en pourcentage (%)

D'après cette figure, nous constatons que 68% des valeurs RMSD obtenues avec FlexX sont inférieures à 2 Å. Un programme de docking moléculaire est considéré comme fiable s'il peut générer un modèle dont la valeur RMSD par rapport à la structure cristallographique ne dépasse pas 2 Å. Ces résultats témoignent de la fiabilité du programme FlexX, qui peut être utilisé avec un risque d'erreur relativement faible pour prédire l'emplacement correct d'un ligand dans son site actif.

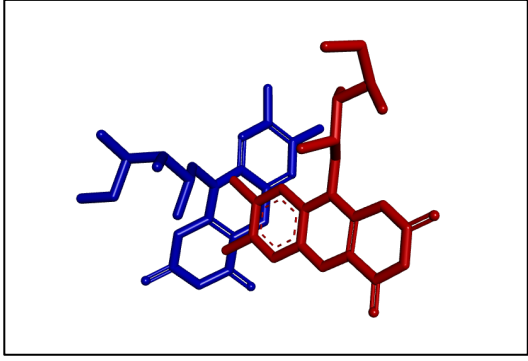
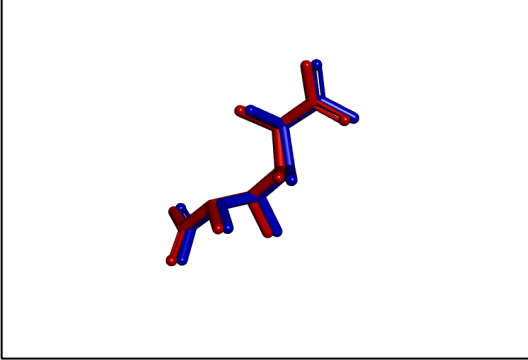
Nos résultats sont en accord avec les travaux de (Merzoug et al., 2016) qui ont trouvé que 90,09 % des RMSD sont ≤ 2 Å. Nous pouvons ainsi conclure que FlexX est un programme de docking moléculaire performant.

1.2. Analyse visuelle

Il est important de compléter le test RMSD par une étape de visualisation. Pour cela, nous avons sélectionné deux complexes pour cette étape : le premier avec une valeur RMSD supérieure à 2Å et le deuxième avec une valeur inférieure à 2Å. Les résultats de cette visualisation sont présentés dans le tableau 4, où on note l'absence d'une superposition et le

grand décalage entre le ligand expérimental coloré en rouge du complexe 7LIM et le ligand théorique, reflètent le RMSD élevé de ce complexe d'une valeur de (7,4801Å). Cependant, l'existence d'une superposition idéale entre le ligand rouge du complexe 3HPF et celui prédit par le logiciel coloré en bleu. Ceci est en accord avec la valeur numérique RMSD, qui est faible (0,3804Å).

Tableau 4 : Analyse visuelle de la superposition du ligand des complexes 7LIM et 3HPF.

Code PDB	Code ligand	RMSD (Å)	Analyse visuelle
7LIM	RBF301	7,4801	
3HPF	GAE411	0,3804	

2. LasR-inhibiteurs

2.1. Préparation de la protéine LasR

Dans ce travail, nous avons sélectionné la structure tridimensionnelle de la molécule N-3-OXO-DODECANOYL-L-HOMOSERINE LACTONE (OHN) présente dans le site de liaison avec LasR. Le complexe formé par ces deux composés est disponible dans la PDB sous

le code 3IX3. Pour débiter notre étude, nous avons identifié le site de liaison avec LasR en utilisant le programme FlexX. Cette étape était essentielle et nous avons utilisé le OHN car la liaison de ce ligand à la protéine a été confirmée expérimentalement, ce qui nous permet de définir précisément le site de liaison de cette protéine.

2.2. Étude des interactions LasR-Chrysophanol

Après avoir réussi à déterminer le site de liaison avec succès en utilisant le OHN, nous avons envisagé de remplacer cet inhibiteur par une alternative afin de découvrir des inhibiteurs plus puissants. Dans cette optique, une proposition a été faite pour explorer l'utilisation du chrysophanol. Le docking de cette molécule dans le site de liaison de LasR avec FlexX donne lieu à un score $-29,0359$ kJ/mol.

Nous avons pu observer le nombre et le type de liaisons impliquées dans l'interaction entre la Chrysophanol et le LasR. En effet, nous avons constaté la présence de quatre liaisons hydrogène. Deux d'entre elles sont formées par la fonction hydroxyle de Hoh453 et deux fonctions cétone du chrysophanol. De plus, une liaison hydrogène est formée entre la fonction cétone du Chrysophanol et la fonction hydroxyle de Ser129, ainsi qu'une liaison hydrogène entre la fonction cétone de l'inhibiteur et la fonction amine de Trp60.

En outre, en plus de ces liaisons hydrogènes, le complexe est stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobes impliquant les résidus suivants : Asp73, Ser129, Val76, Tyr64, Thr75, Leu36, Phe101, Trp88, Tyr56, Leu110 (voir la Figure 13).

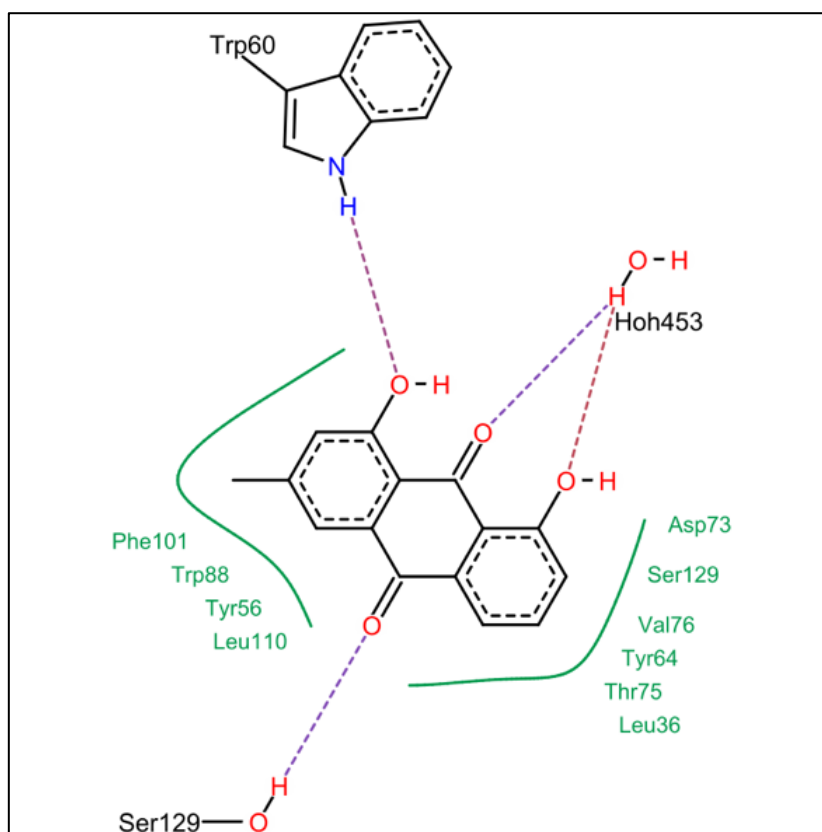


Figure 13 : Représentation des interactions LasR-Chrysophanol.

2.3. Criblage virtuel d'une collection de similaires du chrysophanol

Dans le but de découvrir de nouveaux inhibiteurs plus puissants et sélectifs de la protéine LasR, nous avons pris le composé Chrysophanol comme structure de départ pour le criblage d'une collection de similaires chimiques via la banque de données PubChem avec un taux de similarité de 90 %. Cette dernière nous a proposé une collection de 1256 similaires chimiques. Le criblage virtuel de cette collection de similaires chimiques envers le site actif étudié fait ressortir 929 composés ayant une énergie d'interaction bien meilleure que celle du composé de départ qui, à titre de rappel, égale à $-29,0357$ kJ/mol. Les composés S674 et S140 se présentent comme meilleurs inhibiteurs de la LasR avec des scores respectifs de $-40,7240$ kJ/mol et $-38,9258$ kJ/mol.

2.4. Étude des interactions des meilleurs similaires du chrysophanol vis-à-vis LasR

2.4.1. Interaction LasR-S674

Le composé S674 s'est révélé être un meilleur inhibiteur de LasR avec une énergie d'interaction de $-40,7240$ kJ/mol. Cela s'explique par la présence de quatre liaisons hydrogène, dont deux avec Ser129, une avec Thr75 et une autre avec une molécule d'eau. De plus, il est

important de souligner l'importance des interactions hydrophobes qui contribuent à la stabilité du complexe LasR-S674. Ces interactions impliquent les résidus suivants : Tyr64, Ala70, Phe101, Leu110, Tyr47, Leu36, Ile52, Asp73, Val76, Tyr56, Trp60, Ser129 et Trp88 de l'enzyme (voir la Figure 14).

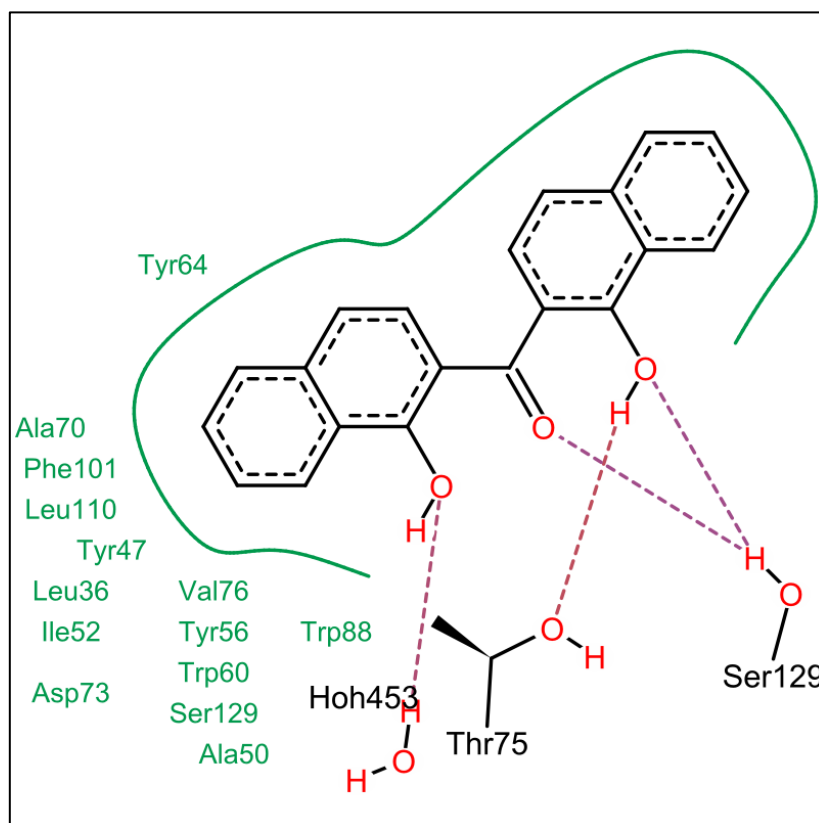


Figure 14 : Représentation des interactions LasR-S674.

2.4.2. Interaction LasR- S140

Le composé S140, à l'instar du composé S674, forme 3 liaisons hydrogènes avec le site actif étudié. Ces liaisons sont constatées avec les résidus suivants : 2 avec Ser129 et une liaison avec Thr75. Le complexe LasR-S140 est également stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobes impliquant les résidus Ile52, Leu36, Tyr64, Phe101, Ala70, Tyr47, Trp60, leu110, val76, tyr56, Trp88 (voir la Figure 15).

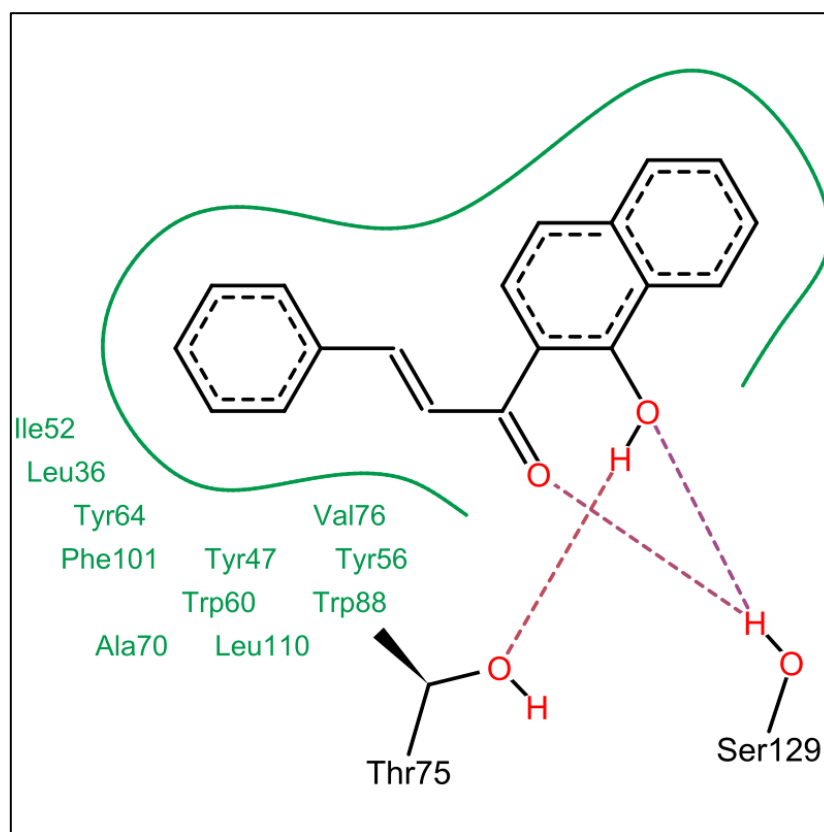


Figure 15 : Représentation des interactions du complexe LasR-S140.

3. PqsR-inhibiteurs

3.1. Préparation de la protéine PqsR

Pour commencer cette partie, nous avons utilisé le programme FlexX pour identifier le site de liaison de PqsR. Cette étape était cruciale, et nous avons spécifiquement utilisé le NNQ (2-nonylquinolin-4(1H)-one) car sa liaison expérimentale avec la protéine PqsR a été confirmée par cristallographie et enregistrée sous le code PDB 4JVD. Ceci nous a permis de déterminer avec précision le site de liaison de cette protéine.

3.2. Etude des interactions PqsR-Rhein

Nous avons proposé le Rhein comme inhibiteur naturel de la PqsR obtenu dans cette étude avec un score -23.7644 kJ/mol. Comme le montre (figure). Ce score s'explique par la présence de 3 liaisons hydrogènes avec Thr265, Leu207 et Leu197. On note également l'importance des interactions hydrophobiques qui participent à la stabilité du complexe PqsR-Rhein. Ces interactions font intervenir les résidus : Thr265, Pro238, Ala102, Ala168, Leu197, Phe221, Leu208 et Ile236 (voir la Figure 16).

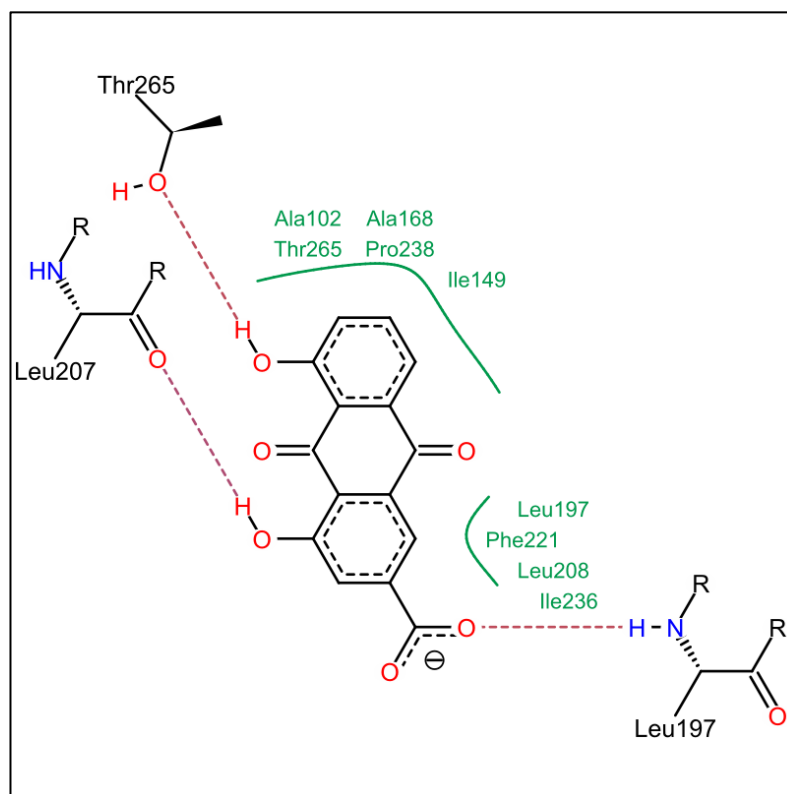


Figure 16 : Représentation des interactions du complexe 4JVD-Rhein.

3.3. Criblage virtuel d'une collection de similaire de Rhein

Afin de proposer de nouveaux inhibiteurs plus puissants et sélectifs de la PqsR, le composé Rhein a été pris comme structure de départ pour le criblage d'une collection de similaires chimiques via la banque de données PubChem. Avec un taux de similarité de 90 % cette dernière nous a proposé une collection de 957 similaires chimique. Le criblage virtuel de cette collection de similaires chimiques envers le site actif étudié fait ressortir 898 composés ayant une énergie d'interaction bien meilleure que celle du composé de départ qui, à titre de rappel, égale à -23,7644 kJ/mol. Les composés S531 et S798 se présentent comme meilleurs inhibiteurs de la LasR avec des scores respectifs de -30.7309 kJ/mol , -29.0802 kJ/mol.

3.4. Étude des interactions des meilleurs similaires vis-à-vis l'enzyme

3.4.1. Interaction PqsR-S531

Le composé S531 se présente comme meilleur inhibiteur de la PqsR obtenu dans cette étude avec un score de -30.7309 kJ/mol. Ce score s'explique par la présence de 5 liaisons hydrogènes dont deux avec Ile236, deux avec Gln194 et l'autre avec Leu197. On note

également l'importance des interactions hydrophobiques qui participent à la stabilité du complexe PqsR-S531. Ces interactions font intervenir les résidus Ile263, Leu207, Leu208, Ile236, Phe221, Met224 et leu197 (voir la Figure 17).

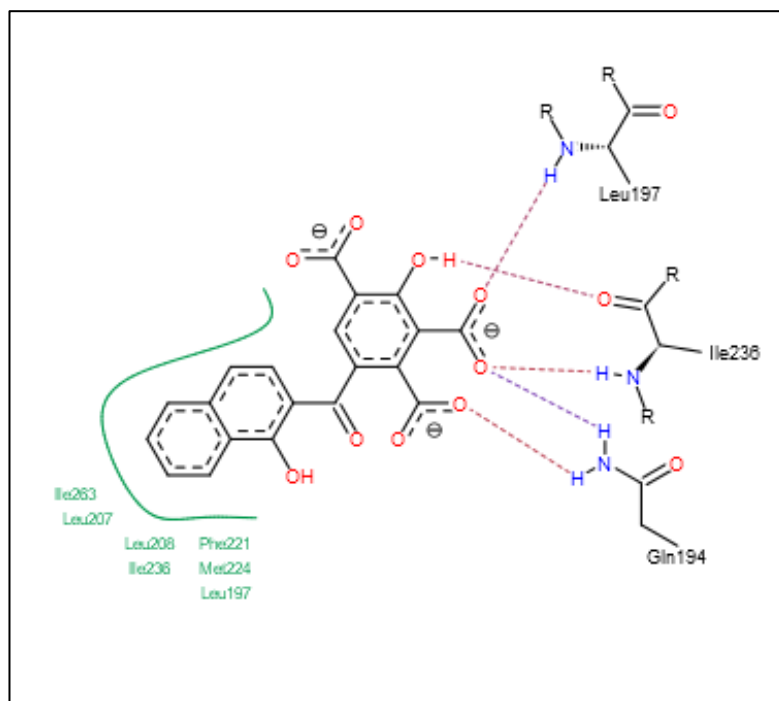


Figure 17 : Représentation des interactions du complexe PqsR-S531.

3.4.2. Interaction-S798

Le composé S798, à l'instar du composé S531, forme 6 liaisons hydrogènes avec le site actif étudié. Ces liaisons sont constatées avec les résidus suivants : deux avec Leu197, une liaison avec Ile236 et une avec Leu207 et deux liaisons une avec Arg209 et l'autre avec Gln194. Le complexe PqsR-S798 est également stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobiques impliquant les résidus : Phe221, Ala237, Ile236, Ile149 et Leu208 (voir la Figure 18).

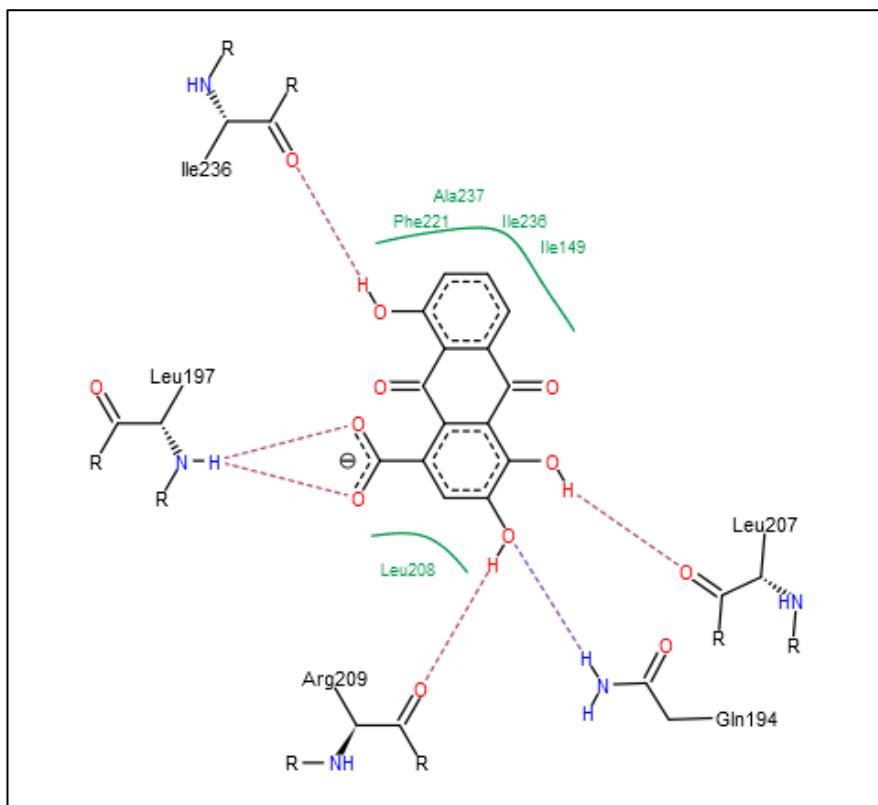


Figure 18 : Représentation des interactions du complexe PqsR-S798.

4. Prédiction des propriétés ADMET

Pour valider le comportement moléculaire des inhibiteurs proposés, une étude prédictive des propriétés pharmacocinétiques et physicochimiques a été effectuée. Ces propriétés ont été évaluées et prédites en utilisant le serveur SwissADME, et pkcsm permettant ainsi une comparaison entre les différents inhibiteurs avec les paramètres médicamenteux d'un standard choisi la Ciprofloxacine est un médicament utilisé pour traiter les infections bactériennes et déjà commercialiser sous le nom de Ciflox. Ainsi un autre standard choisi Tobramycine qui est souvent utilisé pour traiter les infections à *P. aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose et déjà commercialiser sous le nom de Nebcine.

Tableau 5 : Propriétés physicochimiques de la Ciprofloxacine, du Chrysophanol et des composés S674 , et S140.

	Chrysophanol	Ciprofloxacine	S674	S140
Proprietes	10208	2764	154391521	5348770
Formule	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	C ₂₁ H ₁₄ O ₃	C ₁₉ H ₁₄ O ₂
PM	254.24 g/mol	331.34 g/mol	314.33 g/mol	274.31 g/mol
Nombre de liaisons flexibles	0	3	2	3
Nombre d'accepteur D'hydrogen	4	5	3	2
Nombre de donneur de H	2	2	3	1
Log P	2.38	1.10	4.13	4.09
TPSA Å²	74.60 Å ²	74.57 Å ²	57.53 Å ²	37.30 Å ²
Regle de Lipinski	Oui	Oui	Oui	Oui
Regle de veber	Oui	Oui	Oui	Oui
Solubulite dans l'eau	Modérément soluble	Soluble	Peu soluble	Peu soluble
Accebilite a la synthese	2.47	2.51	1.93	2.61

Tableau 6 : Propriétés pharmacocinétique de la Ciprofloxacine, du Chrysophanol et composés S674, et S140.

	Chrysophanol	Ciprofloxacine	S674	S140
Proprietes	10208	2764	154391521	5348770
Gi absorption	Haut	Haut	Haut	Haut
Bbb permeabilite	Oui	Non	Oui	Oui
CYP1A2 inhibition	Oui	Non	Oui	Oui
CYP2C19 inhibitor	Non	Non	Oui	Oui
CYP2C9 inhibitor	Non	Non	Non	Oui
CYP2D6 inhibitor	Non	Non	Oui	Non
CYP3A4 inhibitor	Oui	Non	Non	Non

A partir de ces deux tableaux, On observe que les trois composés **Chrysophanol**, **S674** et **S140** ainsi que le standard respectent les règles de Lipinski et Veber en répandant parfaitement à leurs paramètres, ce qui indique que ces composés peuvent être administrés par voie orale sans engendrer des problèmes. En outre, le critère d'accessibilité à la synthèse des trois substances et de la Ciprofloxacine évalué en chiffre allant de 1 (facile à synthétiser) jusqu'à 10 (difficile à synthétiser) a été validé, plus que leur solubilité dans l'eau et leur perméabilité gastro-intestinal (GI absorption) révèlent qu'ils peuvent traverser facilement le tractus gastro-intestinal pour atteindre la circulation sanguine. A l'inverse de la Ciprofloxacine qui présente une similarité maximale avec les propriétés ADME du standard, Le **Chrysophanol**, **S674** et **S140** se diffèrent au niveau de trois critères pharmacocinétiques cruciaux, dont le premier est la barrière hémato-encéphalique que le **Chrysophanol**, **S674** et **S140** peuvent franchir ce qui met en place la présence des effets indésirables au niveau du

système nerveux central. Aussi l'inhibition des deux CYP450 par Chrysophanol, CYP1A2 et CYP3A4, le S674 inhibe trois CYP450 le CYP1A2, CYP2C19 et le CYP2D6 et le similaire S140 inhibe trois CYP450 le CYP1A2, CYP2C19 et le CYP2C9. Cela peut indiquer la possibilité d'avoir des interactions et des complications médicamenteuses défavorables.

Tableau 7 : Propriétés physicochimiques de la Tobramycine, du Rhein et des composés S531, et S798

	Rhein	Tobramycine	S531	S798
Proprietes	10168	36294	71493722	153731672
Formule	C15H8O6	C18H37N5O9	C20H12O9	C15H8O7
PM	284,22 g/mol	467.51 g/mol	396.30 g/mol	300.22 g/mol
Nombre de liaisons flexibles	1	6	5	1
Nombre d'accepteur D'hydrogen	6	14	9	7
Nombre de donneur de H	3	10	5	4
Log P	1.47	-4.55	1.95	1.24
TPSA Å²	111,90 Å ²	268.17 Å ²	169.43 Å ²	132.13 Å ²
Regle de Lipinski	Oui	Oui	Oui	Oui
Regle de veber	Oui	Oui	Non	Oui
Solubulite dans l'eau	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
Accebilite a la synthese	2.58	6,42	2.92	2.67

Tableau 8 : Propriétés pharmacocinétique de la Tobramycine, du Rhein et des composés S531, et S798.

	Rhein	Tobramycine	S531	S798
Proprietes	10168	36294	71493722	15373672
Gi absorption	Haut	Bas	Faible	Haut
Bbb permeabilite	Non	Non	Non	Non
CYP1A2 inhibition	Non	Non	Non	Non
CYP2C19 inhibitor	Non	Non	Non	Non
CYP2C9 inhibitor	Non	Non	Non	Non
CYP2D6 inhibitor	Non	Non	Non	Non
CYP3A4 inhibitor	Non	Non	Non	Oui

Il ressort de ces deux tableaux, que le composé **S798** et **Rhein**, ainsi que le standard respectent les règles de Lipinski et Veber en répondant parfaitement à leurs paramètres, ce qui indique que ces composés peuvent être administrés par voie orale sans engendrer des problèmes, contrairement le composé **S531** se différencie au niveau de la règle de Veber, cela signifie qu'il présente des caractéristiques qui le rendent potentiellement moins favorable du point de vue de l'absorption orale et de la biodisponibilité. De plus, l'évaluation de l'accessibilité à la synthèse des deux substances, ainsi que de la Tobramycine, sur une échelle de 1 (facile à synthétiser) à 10 (difficile à synthétiser), a été validée. Leur solubilité dans l'eau et leur perméabilité gastro-intestinale (absorption gastro-intestinale) indiquent qu'ils peuvent aisément traverser le tractus gastro-intestinal pour atteindre la circulation sanguine. En examinant le tableau X, nous pouvons également déduire certaines propriétés pharmacocinétiques. Par exemple, ces composés candidats ne possèdent pas la capacité de franchir la barrière hémato-

encéphalique, ce qui est favorable, car leur action doit se limiter à l'intestin plutôt qu'au système nerveux, conformément aux critères standards. De plus, le premier similaire n'a pas démontré un effet inhibiteur sur le cytochrome P450 et ses isomères. Cela suggère qu'ils ne devraient pas causer d'interactions médicamenteuses, car les CYP450 sont responsables du métabolisme de la plupart des médicaments au niveau du foie. A propos du deuxième similaire **S798** se différencie au niveau de l'isomère CYP3A4 de CYP450.

Tableau 9: Propriétés toxicologiques.

Propriétés	Chrysophanol	S674	S140	Rhein	S531	S798
AMES TOXICITY	Yes	Non	Non	Non	Non	Non
hERG I inhibitor	Non	Non	Non	Non	Non	Non
hERG II inhibitor	Non	Yes	Yes	Non	Non	Non
Hepatotoxicity	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Skin Sensitisation	Non	Non	Non	Non	Non	Non

Les résultats de ce tableau montrent que le **Chrysophanol** possède, selon le test d'AMES, un pouvoir mutagène potentiel contrairement à ses similaires **S674**, **S140** et le **Rhein** et ces similaires **S531**, **S798** qui ne possèdent pas un pouvoir mutagène. Nous avons constaté que les deux composés **S674** et **S140** ont un risque d'inhiber le gène hERG 2. L'inhibition de ce dernier provoque principalement des problèmes cardiaques. Cependant, les composés étudiés ne présentent aucun effet hépatotoxique ou sensibilisation cutanée.

Conclusion

Notre travail avait pour objectif principal d'acquérir des compétences en simulation informatique, plus spécifiquement en docking moléculaire par FlexX. L'objectif était de proposer de nouveaux inhibiteurs ciblant les protéines LasR et PqsR, afin de perturber les processus de communication cellulaire du *P. aeruginosa*. La conception rationnelle de ces inhibiteurs revêt une importance capitale dans la lutte contre les infections causées par cette bactérie, surtout en raison de l'émergence de souches résistantes aux antibiotiques conventionnels.

Afin de vérifier la fiabilité du programme FlexX, nous avons réalisé plusieurs tests pour évaluer sa performance. Le test RMSD sur 100 complexes choisis aléatoirement dans la PDB a démontré la précision du programme FlexX, avec 68% des complexes présentant une déviation inférieure à 2 Å. Cette faible différence entre la conformation prédite par FlexX et celle de référence souligne la capacité du programme à prédire avec précision l'emplacement d'un ligand dans son récepteur. De plus, une analyse visuelle de la superposition du ligand simulé par FlexX avec celui présent dans la PDB a confirmé la fiabilité du programme, renforçant notre confiance en la qualité et la précision des prédictions réalisées par FlexX. FlexX s'avère être un outil puissant et fiable pour la recherche d'inhibiteurs ciblant les protéines LasR et PqsR.

Dans le cadre de notre recherche de nouveaux inhibiteurs puissants du QS, nous avons entrepris une sélection et une évaluation de plusieurs molécules. Tout d'abord, nous avons choisi une collection de plus de 1000 composés chimiques similaires au chrysophanol, une molécule de référence. En utilisant des études de docking moléculaire et un criblage virtuel sur le site actif de la protéine LasR, nous avons identifié 339 composés présentant un score d'affinité supérieur à celui de la chrysophanol (-29.0359 KJ/mol). Parmi eux, les composés S674 et S140 ont présenté les meilleurs scores respectivement avec -40.7240 KJ/mol et -38.9259 KJ/mol, indiquant leur capacité à se lier de manière spécifique et forte aux sites actifs des protéines cibles.

Ensuite, nous avons sélectionné une collection de plus de 967 composés chimiques similaires au Rhein, un métabolite naturel présent dans diverses plantes. En réalisant un criblage virtuel de cette collection sur le site actif de la protéine PqsR, nous avons identifié 345 composés avec un score supérieur à celui du Rhein (23.7644 KJ/mol). Les composés S531 et S798 ont présenté les meilleurs scores respectivement avec -30.7309 KJ/mol et 29.0802 KJ/mol. Ces résultats suggèrent que ces composés pourraient être prometteurs pour le développement de nouveaux inhibiteurs du QS.

La visualisation des interactions moléculaires entre les inhibiteurs que nous avons proposés, à savoir S674 et S140 les similaires du chrysophanol, ainsi que S531 et S798 sémilaires du Rhein, au sein de la cavité catalytique des protéines LasR et PqsR, permet de comprendre comment ces inhibiteurs assurent leur activité inhibitrice. En effet, ces composés sont capables de former des liaisons hydrogène avec les résidus clés des cibles, ce qui leur confère une stabilité accrue au sein du site actif.

Enfin, l'analyse des propriétés physico-chimiques, pharmacocinétiques et toxicocinétiques des composés étudiés suggère que les inhibiteurs similaires du Rhein présentent des propriétés ADMET favorables, contrairement aux similaires du chrysophanol. Ces résultats laissent entrevoir la possibilité que les composés du premier inhibiteur puissent constituer de nouveaux inhibiteurs théoriquement sélectifs pour la cible étudiée (PqsR).

Dans les perspectives d'avenir, il conviendrait de tester *in vitro* et/ou *in vivo* l'activité biologique des composés S674, S140, S531 et S798 pour compléter les résultats théoriques et vérifier l'efficacité de l'approche *in silico*.

Références bibliographiques

- Arrault, A. (2007). *Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma* [Université d'Orléans]. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00275585%0Ahttps://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00275585/document>
- Barbier, F., & Wolff, M. (2010). Multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Towards a therapeutic dead end? In *Medecine/Sciences* (Vol. 26, Issue 11, pp. 960–968). Editions EDK. <https://doi.org/10.1051/medsci/20102611960>
- Barbosa, T. D. M., Trad, R. J., Bajay, M. M., & Amaral, M. C. E. (2015). Microsatellite markers isolated from *Cabomba aquatica* s.l. (Cabombaceae) from an enriched genomic library. *Applications in Plant Sciences*, 3(11), 1500076. <https://doi.org/10.3732/apps.1500076>
- Bendiak, G. N., & Ratjen, F. (2009). The approach to *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 30(5), 587–595. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1238917>
- Choudhary, S., & Schmidt-Dannert, C. (2010). Applications of quorum sensing in biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86(5), 1267–1279. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2521-7>
- Cigana, C., Bernardini, F., Facchini, M., Alcalá-Franco, B., Riva, C., Fino, I. De, Rossi, A., Ranucci, S., Misson, P., Chevalier, E., Brodmann, M., Schmitt, M., Wach, A., Dale, G. E., Obrecht, D., & Bragonzi, A. (2016). Efficacy of the novel antibiotic POL7001 in preclinical models of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(8), 4991–5000. <https://doi.org/10.1128/AAC.00390-16>
- Cockenpot, L. (2014). *Mécanismes de résistance aux antibiotiques de Pseudomonas aeruginosa en motilité de type swarming et sa fonction écologique*.
- Díaz-Muñoz, G., Miranda, I. L., Sartori, S. K., de Rezende, D. C., & Diaz, M. A. N. (2018). Anthraquinones: An Overview. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 58, pp. 313–338). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64056-7.00011-8>
- Díaz-Real, J. A., Dubed-Bandomo, G. C., Galindo-de-la-Rosa, J., Arriaga, L. G., Ledesma-García, J., & Alonso-Vante, N. (2018). Impact of the anodization time on the photocatalytic activity of TiO₂ nanotubes. In *Beilstein Journal of Nanotechnology* (Vol. 9, Issue 1, pp. 2628–2643). Beilstein-Institut Zur Forderung der Chemischen Wissenschaften. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.244>
- Donnelly, D. M. X., & Sheridan, M. H. (1986). Anthraquinones from *Trichoderma polysporum*. *Phytochemistry*, 25(10), 2303–2304. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)81684-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)81684-2)
- Dufour, D., Leung, V., & Lévesque, C. M. (2012). *Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance*.

- Follath, F., Bindschedler, M., Wenk, M., Frei, R., Stalder, H., & Reber, H. (1986). Use of Ciprofloxacin in the Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections. In *Eur. J. Clin. Microbiol* (Vol. 5, Issue 2, pp. 236–240).
- Grosdidier, A. (2015). *Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives*. UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER, Grenoble.
- Guidi, S., Noè, M., Riello, P., Perosa, A., & Selva, M. (2016). Towards a rational design of a continuous-flow method for the acetalization of crude glycerol: Scope and limitations of commercial amberlyst 36 and AIF3· 3H₂O as model catalysts. *Molecules*, 21(5). <https://doi.org/10.3390/molecules21050657>
- Halperin, I., Ma, B., Wolfson, H., & Nussinov, R. (2002). Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. In *Proteins: Structure, Function and Genetics* (Vol. 47, Issue 4, pp. 409–443). <https://doi.org/10.1002/prot.10115>
- Horcajada, J. P., Montero, M., Oliver, A., Sorlí, L., Luque, S., Gómez-Zorrilla, S., Benito, N., & Grau, S. (2019). Epidemiology and treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(4). <https://doi.org/10.1128/CMR.00031-19>
- Jimenez, P. N., Koch, G., Thompson, J. A., Xavier, K. B., Cool, R. H., & Quax, W. J. (2012). The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 76(1), 46–65. <https://doi.org/10.1128/MMBR.05007-11>
- Kievit, T. R. De. (2009). Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. In *Environmental Microbiology* (Vol. 11, Issue 2, pp. 279–288). <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01792.x>
- LaSarre, B., & Federle, M. J. (2013). Exploiting Quorum Sensing To Confuse Bacterial Pathogens. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77(1), 73–111. <https://doi.org/10.1128/membr.00046-12>
- Layek, B., Kumar, T. S., Trivedi, R. K., Mullangi, R., & Srinivas, N. R. (2008). 616 B. Layek et al. ORIGINAL RESEARCH ORIGINAL RESEARCH Development and validation of a sensitive LC-MS/MS method with electrospray ionization for quantitation of rhein in human plasma: application to a pharmacokinetic study †. *Biomed. Chromatogr*, 22, 616–624. <https://doi.org/10.1002/bmc>
- Le Berre, R., Faure, K., Nguyen, S., Pierre, M., Ader, F., & Guery, B. (2006). Quorum sensing : une nouvelle cible thérapeutique pour *Pseudomonas aeruginosa*. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 36(7), 349–357. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2006.01.008>
- Lee, J., & Zhang, L. (2015). The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. *Protein and Cell*, 6(1), 26–41. <https://doi.org/10.1007/s13238-014-0100-x>
- Li, Q., Mao, S., Wang, H., & Ye, X. (2022). The Molecular Architecture of *Pseudomonas aeruginosa* Quorum-Sensing Inhibitors. *Marine Drugs*, 20(8). <https://doi.org/10.3390/md20080488>

- Li, Y., He, Y., Lu, C., Zheng, W., Yang, J., Wang, D., Wang, L., Sun, Y., & Gao, Z. (2019). Microstructural evolution and mechanical evaluation of a laser-induced composite coating on a Ni-based superalloy during thermal exposure. In *Materials* (Vol. 12, Issue 9). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ma12091439>
- Lister, P. D., Wolter, D. J., & Hanson, N. D. (2009). Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 22, Issue 4, pp. 582–610). <https://doi.org/10.1128/CMR.00040-09>
- Liu, S. Y., Lo, C. T., Chen, C., Liu, M. Y., Chen, J. H., & Peng, K. C. (2007). Efficient isolation of anthraquinone-derivatives from *Trichoderma harzianum* ETS 323. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70(3), 391–395. <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2006.09.003>
- Lu, C. C., Yang, J. S., Huang, A. C., Hsia, T. C., Chou, S. T., Kuo, C. L., Lu, H. F., Lee, T. H., Wood, W. G., & Chung, J. G. (2010). Chrysophanol induces necrosis through the production of ROS and alteration of ATP levels in J5 human liver cancer cells. *Molecular Nutrition and Food Research*, 54(7), 967–976. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900265>
- Luo, J., Dong, B., Wang, K., Cai, S., Liu, T., Cheng, X., Lei, D., Chen, Y., Li, Y., Kong, J., & Chen, Y. (2017). Baicalin inhibits biofilm formation, attenuates the quorum sensing-controlled virulence and enhances *Pseudomonas aeruginosa* clearance in a mouse peritoneal implant infection model. *PLoS One*, 12(4), e0176883. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176883>
- Luyt, C.-E., & Chastre, J. (2009). Doripénème dans le traitement des pneumonies acquises sous ventilation mécanique. *Réanimation*, 18, S209–S213. [https://doi.org/10.1016/s1624-0693\(09\)75319-8](https://doi.org/10.1016/s1624-0693(09)75319-8)
- Malik, E. M., & Müller, C. E. (2016). Anthraquinones As Pharmacological Tools and Drugs. In *Medicinal Research Reviews* (Vol. 36, Issue 4, pp. 705–748). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/med.21391>
- Malik, S., Sharma, N., Sharma, U. K., Singh, N. P., Bhushan, S., Sharma, M., Sinha, A. K., & Ahuja, P. S. (2010). Qualitative and quantitative analysis of anthraquinone derivatives in rhizomes of tissue culture-raised *Rheum emodi* Wall. plants. *Journal of Plant Physiology*, 167(9), 749–756. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.12.007>
- McLaughlin, K. J., Bimonte-Nelson, H., Neisewander, J. L., & Conrad, C. D. (2008). Assessment of estradiol influence on spatial tasks and hippocampal CA1 spines: Evidence that the duration of hormone deprivation after ovariectomy compromises 17 β -estradiol effectiveness in altering CA1 spines. *Hormones and Behavior*, 54(3), 386–395. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2008.04.010>
- Mérens, A., Delacour, H., Plésiat, P., Cavallo, J. D., & Jeannot, K. (2011). *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2011(435), 49–62. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(11\)71102-9](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(11)71102-9)

- Mielko, K. A., Jabłoński, S. J., Milczewska, J., Sands, D., Łukaszewicz, M., & Młynarz, P. (2019). Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 35(11), 178. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2739-1>
- Moghaddam, M. M. (2014). Quorum Sensing in Bacteria and a Glance on *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Microbiology: Open Access*, 03(04). <https://doi.org/10.4172/2327-5073.1000156>
- Moradali, M. F., Ghods, S., & Rehm, B. H. A. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: A paradigm for adaptation, survival, and persistence. In *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (Vol. 7, Issue FEB). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00039>
- Mushtaq, S., Ge, Y., & Livermore, D. M. (2004). Doripenem versus *Pseudomonas aeruginosa* in vitro: Activity against characterized isolates, mutants, and transconjugants and resistance selection potential. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(8), 3086–3092. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.8.3086-3092.2004>
- Neu, H. C. (1983). The role of *Pseudomonas aeruginosa* in infections. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 11 Suppl B, 1–13. https://doi.org/10.1093/jac/11.suppl_b.1
- Omur, Demirezer., Ozenver, N., Uzun, M., Yukselen, O., Guvenalp, Z., SEZERMAN, O. U., & Article, R. (2016). Molecular Docking of Anthranoids on Some Targeted Human Proteins. In *J. Pharm. Sci* (Vol. 41, pp. 1–16).
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. In *Biotechnology Advances* (Vol. 37, Issue 1, pp. 177–192). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>
- Peerzada, Z., Kanhed, A. M., & Desai, K. B. (2022). Effects of active compounds from *Cassia fistula* on quorum sensing mediated virulence and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *RSC Advances*, 12(24), 15196–15214. <https://doi.org/10.1039/d1ra08351a>
- Peng, S. N., Zeng, H. H., Fu, A. X., Chen, X. W., & Zhu, Q. X. (2013). Effects of rhein on intestinal epithelial tight junction in IgA nephropathy. *World Journal of Gastroenterology*, 19(26), 4137–4145. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i26.4137>
- Peters, A., & Moore, G. (2008). Microtutoring: A Faculty Development Workshop Using Scripted Tutorials. *MedEdPORTAL Publications*, 4. https://doi.org/10.15766/mep_2374-8265.775
- Polimenakos, A. C., Sathanandam, S. K., Blair, C., Zein, C. F. El, Husayni, T. S., & Ilbawi, M. N. (2012). Shunt reintervention and time-related events after norwood operation: Impact of shunt strategy. *Annals of Thoracic Surgery*, 94(5), 1551–1561. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2012.04.036>

- Qin, S., Xiao, W., Zhou, C. et al. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 1–27. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>
- Raheja, J. L., Mishra, A., & Chaudhary, A. (2016). Indian sign language recognition using SVM. *Pattern Recognition and Image Analysis*, 26(2), 434–441. <https://doi.org/10.1134/S1054661816020164>
- Rampioni, G., D'Angelo, F., Leoni, L., & Stano, P. (2019). Gene-expressing liposomes as synthetic cells for molecular communication studies. In *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* (Vol. 7, Issue JAN). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00001>
- Reen, F. J., Mooij, M. J., Holcombe, L. J., Mcsweeney, C. M., Mcglacken, G. P., Morrissey, J. P., & O'Gara, F. (2011). The *Pseudomonas* quinolone signal (PQS), and its precursor HHQ, modulate interspecies and interkingdom behaviour. *FEMS Microbiology Ecology*, 77(2), 413–428. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01121.x>
- Rudnitskaya, A., Török, B., & Török, M. (2010). Molecular docking of enzyme inhibitors: A computational tool for structure-based drug design. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 38(4), 261–265. <https://doi.org/10.1002/bmb.20392>
- Ruimy, R., & Andremont, A. (2004). Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*: Molecular mechanism, clinical impact, and inhibition. In *Reanimation* (Vol. 13, Issue 3, pp. 176–184). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.reurg.2004.02.003>
- Rutherford, S. T., & Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(11). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012427>
- S. Wu, J. G. Y. L. Y. Y. D. & W. P. (2020) S. (2020). *Su, S., Wu, J., Gao, Y., Luo, Y., Yang, D., & Wang, P. (2020). The pharmacological properties of chrysophanol, the recent advances. Biomedicine & Pharmacotherapy, 125, 110002. doi:10.1016/j.biopha.2020.110002.*
- Schneider, P. D., Guery, B., Docteur, R., Filloux, A., Professeur, R., & Haas, D. (2005). *Mécanismes de régulation impliqués dans la pathogénicité de Pseudomonas aeruginosa : Système de Sécrétion de Type III, Epigénèse et Quorum Sensing Composition du Jury.*
- Schulz-Gasch, T., & Stahl, M. (2004). Scoring functions for protein-ligand interactions: A critical perspective. In *Drug Discovery Today: Technologies* (Vol. 1, Issue 3, pp. 231–239). <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.08.004>
- Schütz, C., & Empting, M. (2018). Targeting the *Pseudomonas* quinolone signal quorum sensing system for the discovery of novel anti-infective pathoblockers. In *Beilstein Journal of Organic Chemistry* (Vol. 14, pp. 2627–2645). Beilstein-Institut Zur Forderung der Chemischen Wissenschaften. <https://doi.org/10.3762/bjoc.14.241>

- Singh, S., Singh, S. K., Chowdhury, I., & Singh, R. (2017). Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents. *The Open Microbiology Journal*, 11(1), 53–62. <https://doi.org/10.2174/1874285801711010053>
- Skariyachan, S., Sridhar, V. S., Packirisamy, S., Kumargowda, S. T., & Challapilli, S. B. (2018). Recent perspectives on the molecular basis of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and approaches for treatment and biofilm dispersal. *Folia Microbiologica*, 63(4), 413–432. <https://doi.org/10.1007/s12223-018-0585-4>
- Soares, A., Roussel, V., Pestel-Caron, M., Barreau, M., Caron, F., Bouffartigues, E., Chevalier, S., & Etienne, M. (2019). Understanding Ciprofloxacin Failure in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm: Persister Cells Survive Matrix Disruption. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02603>
- Sousa, S. F., Fernandes, P. A., & Ramos, M. J. (2006). Protein-ligand docking: Current status and future challenges. In *Proteins: Structure, Function and Genetics* (Vol. 65, Issue 1, pp. 15–26). <https://doi.org/10.1002/prot.21082>
- Stefaniu, C., Wölk, C., Brezesinski, G., & Schneck, E. (2019). Relationship between structure and molecular interactions in monolayers of specially designed aminolipids. *Nanoscale Advances*, 1(9), 3529–3536. <https://doi.org/10.1039/c9na00355j>
- Sun, T., Fu, M., Bookout, A. L., Kliewer, S. A., & Mangelsdorf, D. J. (2009). MicroRNA let-7 regulates 3T3-L1 adipogenesis. *Molecular Endocrinology*, 23(6), 925–931. <https://doi.org/10.1210/me.2008-0298>
- Taylor, I. R., Paczkowski, J. E., Jeffrey, P. D., Henke, B. R., Smith, C. D., & Bassler, B. L. (2021). Inhibitor Mimetic Mutations in the *Pseudomonas aeruginosa* PqsE Enzyme Reveal a Protein-Protein Interaction with the Quorum-Sensing Receptor RhIR That Is Vital for Virulence Factor Production. *ACS Chemical Biology*, 16(4), 740–752. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.1c00049>
- Taylor, R. D., Jewsbury, P. J., & Essex, J. W. (2003). FDS: Flexible Ligand and Receptor Docking with a Continuum Solvent Model and Soft-Core Energy Function. In *J Comput Chem* (Vol. 24, pp. 1637–1656).
- Tremblay, Y. D. N., Hathroubi, S., & Jacques, M. (2014). [Bacterial biofilms: their importance in animal health and public health]. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire*, 78(2), 110–116.
- Tuon, F. F., Dantas, L. R., Suss, P. H., & Tasca Ribeiro, V. S. (2022). Pathogenesis of the *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm: A Review. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/pathogens11030300>
- Tutin, B. F., & Clewer, H. W. B. (1911). 946 TUTIN AND CLEWER: THE CONSTITUENTS OF RHUBARB. XCIX.-The Constituents of Rhubarb.

Vasas, A., Orbán-Gyapai, O., & Hohmann, J. (2015). The Genus *Rumex*: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. In *Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 175, pp. 198–228). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.09.001>

Yang, X., Sun, G., Yang, C., & Wang, B. (2011). Novel Rhein Analogues as Potential Anticancer Agents. *ChemMedChem*, 6(12), 2294–2301. <https://doi.org/10.1002/cmcd.201100384>

Zhao, X., Yu, Z., & Ding, T. (2020). Quorum-sensing regulation of antimicrobial resistance in bacteria. In *Microorganisms* (Vol. 8, Issue 3). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030425>

Zheng, Y., Li, X., Pagare, P. P., Yuan, Y., Wang, X. Y., & Zhang, Y. (2017). Design, synthesis, and characterization of rhein analogs as novel inhibitors of scavenger receptor A. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 27(1), 72–76. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.11.029>

Annexes

Annexe 01 :

Liste des 100 complexes utilisés pour tester la fiabilité du protocole de docking

Numéro	Code	Inhibiteur	RMSD
1	1IG3	VIB	4.5877
2	2NTF	OHM	5.0621
3	4ZO3	C6L	3.0543
4	1SO2	666	2.0665
5	3L4T	BJ1	1.4470
6	3HPF	GAE	0.3804
7	7BDW	FD7	1.2189
8	6EWK	RM0	5.1709
9	6MVN	3M5	0.5856
10	6V7W	OHN	2.3302
11	7N1N	EPE	2.5690
12	5XE9	6CH	3.3454
13	4Y17	LAE	0.7217
14	3IX4	TX1	2.2486
15	4ZE9	LAO	3.4354
16	1SO4	TX42301	2.1046
17	1A3B	T29	0,5962
18	1AT3	DFP	0,9571
19	1V97	FYX	0,7732
20	3M8P	65B	1,8423
21	2BAN	357	1,4745
22	2EW6	Y13	1,7384
23	6PZO	P6Y	0,4468
24	6HOT	CIY	0,0881
25	5KRU	THP	0,6387
26	3L4X	NR31001	1,7507
27	2HA4	P6G1901	1,9482
28	7TAA	ABC497	2,9382
29	4EOF	RBF301	1,4545
30	7RB7	3VI602	2,4989
31	7MBH	PO4501	0,7699
32	1SRB	VIB502	3,0785
33	5LOE	ILE	0,7341
34	2FH6	GLC	0,6329
35	4KUO	RBF500	0,7341
36	1BU5	RBF301	1,1257
37	3IN1	AP510	1,6630
38	4NYG	VIB101	4,4682
39	5WAZ	9WY501	1,1430
40	7LIM	RBF301	7,4801
41	3BCR	AZZ940	5,0499
42	2XI3	GTP1003	4,7228
43	7TZA	KYX503	0,9252
44	7KGX	WE1503	3,0400

45	7ZBV	ITO802	4,2418
46	7WDN	GLC504	3,6096
47	3TOP	GLC1	4,4985
48	3CTT	3CU1001	4,0731
49	3L4U	DSK4001	2,2961
50	1WY9	A84	2,6280
51	1ZT3	DIO	0,6756
52	1ZT5	DIO	10,1534
53	1ZVX	FIN	1,3053
54	1ZXM	ANP	0,9966
55	2B3H	GOL	0,3835
56	2B3L	GOL	2,0077
57	2G71	SAH	0,8860
58	3G5K	BB2	1,2300
59	2HNU	UN9	0,6723
60	2HHA	3TP	0,9713
61	2QJR	PZF	0,6776
62	3GCP	SB2361	0,9548
63	QTB	474	0,7796
64	2WIH	P48	0,7770
65	3BIZ	61E	1,7899
66	3D4L	605	0,6939
67	3FHR	P40	0,4128
68	3GC8	B45365	1,2663
69	3GCU	R48401	0,5881
70	3HV6	R393	0,6962
71	3HRB	I46402	4,7949
72	3KR3	EDO216	2,9913
73	4PES	ALA1	1,5914
74	4WK7	3PQ505	0,7777
75	6OHS	MJY	1,8766
76	2NQ7	HM5	1,1931
77	4D09	788	4,0803
78	4DR9	BB2	2,3316
79	2OLE	KR2	1,7138
80	2XF0	4UB	0,4289
81	6MD7	JE1	0,7884
82	5CA1	NZO	0,4506
83	2V0Z	C41	1,7057
84	1QZY	TDE	1,7746
85	3C43	315	1,0281
86	3D01	PG5	4,2033
87	3D4L	P6G	1,1565
88	1RBP	RTL	1,1126
89	1RTI	HEF	0,8429
90	3EBH	BES	1,0669
91	5EDH	5MF	0,5759
92	5F00	5T8	0,2391

93	6THZ	NB5	1,3521
94	6PZR	P7D	1,2664
95	3KWF	B1Q	0,4655
96	3LOL	HC3	0,4431
97	6PZ0	FMN	0,8904
98	1N8Q	DHB	0,1285
99	2ACK	DER999	0,7377
100	5KZW	NAGI	3,1477

Annexes 02 :

Classement par score des molécules similaires du Chrysophanol.

Classement	N Similaire	Numéro d'accession	Energie d'interaction
1	S674	154391521	-40,7240
2	S674	154391521	-40,0562
3	S674	154391521	-39,2860
4	S140	5348770	-38,9259
5	S140	5348770	-38,9067
6	S674	154391521	-38,1663
7	S674	154391521	-38,0985
8	S140	5348770	-38,0811
9	S469	44348925	-37,9330
10	S140	5348770	-37,9037
11	S674	154391521	-37,6853
12	S212	73353904	-37,6674
13	S510	14026465	-37,6505
14	S396	137650033	-37,6455
15	S140	5348770	-37,5744
16	S212	73353904	-37,5500
17	S886	129868203	-37,5361
18	S886	129868203	-37,4765
19	S323	426725	-37,4004
20	S140	5348770	-37,2115
21	S674	154391521	-37,1382
22	S886	129868203	-37,0628
23	S510	14026465	-36,9379
24	S510	14026465	-36,8825
25	S674	154391521	-36,8773
26	S674	154391521	-36,8545
27	S510	14026465	-36,8481
28	S714	152758763	-36,7648
29	S510	14026465	-36,6947
30	S213	73353903	-36,5371
31	S510	14026465	-36,3946
32	S510	14026465	-36,3419
33	S140	5348770	-36,2583
34	S886	129868203	-36,2517
35	S893	129824722	-36,2049
36	S674	154391521	-36,1944
37	S714	152758763	-36,1875
38	S510	14026465	-36,1537
39	S714	152758763	-36,1169
40	S570	10042373	-36,1007
41	S212	73353904	-35,9588
42	S213	73353903	-35,9166
43	S930	121434262	-35,9050

44	S213	73353903	-35,8304
45	S140	5348770	-35,7918
46	S510	14026465	-35,7911
47	S708	153809392	-35,7772
48	S893	129824722	-35,7441
49	S437	71400398	-35,6919
50	S140	5348770	-35,6699
51	S510	14026465	-35,6163
52	S886	129868203	-35,6112
53	S708	153809392	-35,5685
54	S510	14026465	-35,5306
55	S286	10643116	-35,4429
56	S212	73353904	-35,4168
57	S893	129824722	-35,4034
58	S213	73353903	-35,3907
59	S536	11724159	-35,2724
60	S582	3545630	-35,2495
61	S286	10643116	-35,2036
62	S886	129868203	-35,1752
63	S213	73353903	-35,0891
64	S501	15592816	-35,0888
65	S714	152758763	-35,0750
66	S286	10643116	-35,0727
67	S213	73353903	-35,0612
68	S213	73353903	-35,0521
69	S396	137650033	-34,9766
70	S932	121434185	-34,9336
71	S140	5348770	-34,9198
72	S886	129868203	-34,9155
73	S536	11724159	-34,9024
74	S714	152758763	-34,8901
75	S708	153809392	-34,8149
76	S213	73353903	-34,8096
77	S323	426725	-34,7974
78	S886	129868203	-34,7361
79	S319	2754660	-34,7167
80	S690	154107318	-34,6701
81	S886	129868203	-34,6696
82	S893	129824722	-34,6695
83	S286	10643116	-34,6338
84	S286	10643116	-34,6069
85	S198	129678161	-34,6056
86	S708	153809392	-34,5945
87	S604	232962	-34,5796
88	S557	10471814	-34,5714
89	S930	121434262	-34,5663
90	S294	10428583	-34,5538
91	S582	3545630	-34,4658

92	S536	11724159	-34,4413
93	S286	10643116	-34,4076
94	S708	153809392	-34,4060
95	S893	129824722	-34,3464
96	S714	152758763	-34,2914
97	S198	129678161	-34,2554
98	S288	10615154	-34,1614
99	S36	344329	-34,0914
100	S714	152758763	-34,0876
101	S573	10020384	-34,0331
102	S649	156465412	-34,0133
103	S469	44348925	-33,9964
104	S893	129824722	-33,9937
105	S714	152758763	-33,9902
106	S198	129678161	-33,9881
107	S893	129824722	-33,9521
108	S893	129824722	-33,9505
109	S538	11277063	-33,9065
110	S536	11724159	-33,8885
111	S714	152758763	-33,8823
112	S294	10428583	-33,8486
113	S165	236873	-33,8471
114	S893	129824722	-33,8312
115	S582	3545630	-33,8149
116	S213	73353903	-33,7492
117	S621	163784953	-33,6881
118	S893	129824722	-33,6771
119	S708	153809392	-33,6693
120	S31	3670955	-33,6529
121	S533	12173109	-33,6505
122	S20	329584	-33,6269
123	S265	11818075	-33,6115
124	S536	11724159	-33,5979
125	S569	10043109	-33,5686
126	S305	10021164	-33,5679
127	S884	129881937	-33,5579
128	S714	152758763	-33,5543
129	S599	345208	-33,5326
130	S396	137650033	-33,5318
131	S536	11724159	-33,5085
132	S582	3545630	-33,5016
133	S533	12173109	-33,4597
134	S649	156465412	-33,4482
135	S604	232962	-33,4372
136	S708	153809392	-33,3949
137	S198	129678161	-33,3480
138	S475	44287670	-33,3342
139	S198	129678161	-33,3268

140	S598	345209	-33,3141
141	S934	121279083	-33,2727
142	S165	236873	-33,2631
143	S36	344329	-33,2430
144	S20	329584	-33,2207
145	S165	236873	-33,1907
146	S319	2754660	-33,1549
147	S286	10643116	-33,1290
148	S649	156465412	-33,0558
149	S539	11253667	-33,0463
150	S884	129881937	-33,0041
151	S324	419290	-32,9527
152	S134	11066989	-32,9389
153	S198	129678161	-32,9173
154	S160	425893	-32,9076
155	S198	129678161	-32,8714
156	S604	232962	-32,8377
157	S31	3670955	-32,8172
158	S267	11726638	-32,7998
159	S149	633060	-32,7816
160	S353	162916396	-32,7648
161	S20	329584	-32,7464
162	S330	256910	-32,7438
163	S540	14705051	-32,7405
164	S267	11726638	-32,7394
165	S932	121434185	-32,7115
166	S267	11726638	-32,7005
167	S31	3670955	-32,6536
168	S20	329584	-32,6469
169	S299	10358626	-32,6432
170	S735	143414889	-32,6395
171	S306	10020256	-32,6142
172	S934	121279083	-32,6080
173	S598	345209	-32,6007
174	S165	236873	-32,5962
175	S930	121434262	-32,5612
176	S598	345209	-32,5566
177	S521	12454279	-32,5161
178	S467	44455736	-32,4965
179	S398	134937056	-32,4677
180	S568	10088123	-32,4670
181	S445	70404652	-32,4640
182	S824	136265949	-32,4421
183	S198	129678161	-32,4049
184	S198	129678161	-32,3865
185	S708	153809392	-32,3749
186	S690	154107318	-32,3619
187	S176	167673	-32,3519

188	S599	345208	-32,3460
189	S627	163192744	-32,3253
190	S863	133867746	-32,3213
191	S708	153809392	-32,3172
192	S869	132280452	-32,3026
193	S904	129641086	-32,2928
194	S267	11726638	-32,2793
195	S863	134867746	-32,2756
196	S574	10019527	-32,2726
197	S198	129678161	-32,2698
198	S134	11066989	-32,2382
199	S604	232962	-32,2235
200	S559	10449418	-32,2199
201	S286	10643116	-32,1658
202	S598	345209	-32,1588
203	S559	10449418	-32,1376
204	S165	236873	-32,1307
205	S20	329584	-32,1305
206	S565	10314566	-32,1184
207	S165	236873	-32,1008
208	S323	426725	-32,0711
209	S34	344329	-32,0424
210	S288	10615154	-32,0280
211	S538	11277063	-32,0174
212	S297	10380905	-32,0018
213	S50	51354811	-31,9988
214	S267	11726638	-31,9890
215	S542	11067159	-31,9877
216	S684	154210194	-31,9808
217	S642	11067159	-31,9577
218	S578	5384873	-31,9501
219	S802	138973713	-31,9452
220	S288	10615154	-31,9386
221	S604	232962	-31,9299
222	S567	10091406	-31,9247
223	S538	11277063	-31,9082
224	S684	1542101194	-31,9085
225	S598	345209	-31,9049
226	S445	70404652	-31,8963
227	S626	163192746	-31,8636
228	S598	345209	-31,8615
229	S690	154107318	-31,8407
230	S863	134867746	-31,8351
231	S932	121434185	-31,8293
232	S604	232962	-31,8189
233	S536	11724159	-31,8183
234	S475	44287670	-31,7990
235	S79	171106	-31,7880

236	S559	10449418	-31,7828
237	S598	345209	-31,7820
238	S558	10541147	-31,7551
239	S524	12367650	-31,7523
240	S736	143365787	-31,7453
241	S598	345209	-31,7406
242	S934	121279083	-31,7057
243	S328	317023	-31,7036
244	S563	10338556	-31,7018
245	S31	3670955	-31,7007
246	S604	232962	-31,6974
247	S694	345208	-31,6943
248	S599	11724159	-31,6930
249	S536	11724159	-31,6899
250	S824	136265949	-31,6835
251	S559	11724159	-31,7396
252	S824	136265949	-31,6769
253	S213	73353903	-31,6633
254	S469	44348925	-31,6580
255	S570	10042373	-31,6494
256	S267	11726638	-31,6296
257	S546	10892550	-31,6116
258	S558	10451147	-31,6099
259	S518	13013280	-31,5922
260	S176	167673	-31,5901
261	S564	10335901	-31,5853
262	S571	10020643	-31,5630
263	S646	156465412	-31,5110
264	S39	164982	-31,5015
265	S557	10471814	-31,4838
266	S51	24946032	-31,4494
267	S917	123158423	-31,4006
268	S604	232964	-31,3919
269	S475	44297670	-31,3533
270	S569	10043109	-31,3184
271	S582	3545630	-31,2706
272	S932	121434185	-31,2430
273	S174	179447	-31,2120
274	S538	11277063	-31,1617
275	S557	10471814	-31,0989
276	S517	13051574	-31,0901
277	S929	121434335	-31,0447
278	S578	5348873	-31,0009
279	S558	10451147	-30,9815
280	S152	598864	-30,9183
281	S917	123158423	-30,8905
282	S20	329584	-30,8771
283	S538	3545630	-30,8158

284	S141	5323531	-30,7785
285	S834	134537751	-30,7652
286	S48	71668309	-30,6975
287	S353	162916396	-30,6708
288	S804	138973713	-30,6359
289	S564	10335901	-30,6218
290	S445	70404652	-30,5891
291	S288	10615154	-30,5260
292	S315	2754660	-30,4622
293	S671	154503170	-30,3523
294	S538	11277063	-30,3568
295	S930	121434262	-30,3433
296	S561	10403470	-30,3242
297	S573	10020384	-30,2961
298	S565	10914566	-30,2929
299	S573	10020384	-30,2644
300	S28	11300144	-30,2126
301	S396	1376500	-30,1556
302	S267	11726638	-30,1407
303	S72	429241	-30,0987
304	S31	3670355	-30,6441
305	S667	154547385	-30,3011
306	S734	143414890	-30,0140
307	S475	44287670	-29,9965
308	S104	76311504	-29,9513
309	S570	10042373	-29,9060
310	S288	10615154	-29,8871
311	S174	175447	-29,8356
312	S648	156465415	-29,7920
313	S571	10020643	-29,7742
314	S267	11726638	-29,7353
315	S475	44287670	-29,7191
316	S4	10163	-29,6862
317	S328	317023	-29,6420
318	S513	13670760	-29,6073
319	S307	9975648	-29,5865
320	S105	71458451	-29,5950
321	S832	134938008	-29,4894
322	S312	6710629	-29,4651
323	S566	10247820	-29,4587
324	S479	23986036	-29,4005
325	S436	71403673	-29,3631
326	S617	164168079	-29,3559
327	S539	1125366	-29,3262
328	S329	301142	-29,3034
329	S165	236873	-29,2786
330	S524	12367650	-29,2508
331	S436	71403676	-29,2198

332	S33	620286	-29,1974
333	S679	154305282	-29,1743
334	S777	14056938	-29,1205
335	S572	10020641	-29,0766
336	S561	10403470	-29,0586
337	S563	10338556	-29,0442
338	S840	134937230	-29,0377
339	S1	10208	-29,0359

Annexes 03 :

Classement par score des meilleures similaires du Rhein.

Classement	N Similaire	Numéro d'accession	Energie d'interaction
1	S531	71493722	-30.7309
2	S531	71493722	-30.2657
3	S798	153731672	-29.0802
4	S468	67166287	-28.9908
5	S831	156048582	-28.7803
6	S842	156238758	-28.7076
7	S807	154068715	-28.5882
8	S786	146014785	-28.3236
9	S842	156238758	-28.0770
10	S37	160476	-28.0729
11	S783	143414900	-27.9907
12	S790	146510404	-27.9407
13	S831	156048582	-27.9199
14	S529	71493719	-27.8959
15	S530	71493720	-27.8298
16	S790	146510404	-27.8087
17	S530	71493720	-27.6805
18	S761	141399632	-27.6389
19	S467	66610525	-27.6262
20	S79	617672	-27.6139
21	S288	14982738	-27.5637
22	S798	153731672	-27.5123
23	S447	54740334	-27.4864
24	S529	71493719	-27.4365
25	S460	57997001	-27.4226
26	S529	71493719	-27.4026
27	S868	162874966	-27.3493
28	S530	71493720	-27.3316
29	S503	70858342	-27.3294
30	S783	143414900	-27.3070
31	S831	156048582	-27.2740
32	S761	141399632	-27.2702
33	S271	13361040	-27.1301
34	S790	146510404	-27.1260
35	S753	141079936	-27.1230
36	S782	143414898	-27.1061
37	S567	90143226	-27.0904
38	S790	146510404	-27.0659
39	S364	22733824	-27.0325
40	S531	71493722	-27.0117
41	S545	85724876	-26.9553
42	S369	23245936	-26.9147
43	S531	71493722	-26.9113

44	S778	143414892	-26.8923
45	S835	156048685	-26.8558
46	S842	156238758	-26.8219
47	S447	54740334	-26.8149
48	S485	70007618	-26.7554
49	S513	71357852	-26.7141
50	S807	154068715	-26.6991
51	S30	133561	-26.6794
52	S447	54740334	-26.6495
53	S814	154186717	-26.6211
54	S752	141046627	-26.6086
55	S761	141399632	-26.5775
56	S567	90143226	-26.5691
57	S842	156238758	-26.5646
58	S479	68893324	-26.5622
59	S513	71357852	-26.5425
60	S696	132205690	-26.5420
61	S842	156238758	-26.5030
62	S842	156238758	-26.4759
63	S763	141399652	-26.4131
64	S283	14239299	-26.3836
65	S249	12220565	-26.3543
66	S531	71493722	-26.3313
67	S761	141399632	-26.3243
68	S831	156048582	-26.3107
69	S360	22590777	-26.2987
70	S460	57997001	-26.2884
71	S763	141399652	-26.2853
72	S574	90659892	-26.2650
73	S468	67166287	-26.2516
74	S37	160476 002	-26.2492
75	S842	156238758 007	-26.2480
76	S799	153731673	-26.1940
77	S283	14239299	-26.1899
78	S814	154186717	-26.1854
79	S842	156238758	-26.1658
80	S271	13361040	-26.1467
81	S835	156048685	-26.1046
82	S529	71493719	-26.1006
83	S786	146014785	-26.0766
84	S460	57997001	-26.0376
85	S783	143414900	-26.0360
86	S814	154186717	-25.9754
87	S468	67166287	-25.9658
88	S778	143414892	-25.9588
89	S782	143414898	-25.9330
90	S740	139989628	-25.9131
91	S842	156238758	-25.8961

92	S300	15292022	-25.8918
93	S842	156238758	-25.8449
94	S574	90659892	-25.8388
95	S336	19039251	-25.8283
96	S479	68893324	-25.8130
97	S467	66610525	-25.8076
98	S567	90143226	-25.8047
99	S433	53889188	-25.7831
100	S531	71493722	-25.7407
101	S479	68893324	-25.7164
102	S783	143414900	-25.7091
103	S531	71493722	-25.6927
104	S763	141399652	-25.6877
105	S360	22590777	-25.6866
106	S467	66610525	-25.6635
107	S696	132205690	-25.6482
108	S390	24721683	-25.6323
109	S390	24721683	-25.6293
110	S763	141399652	-25.6256
111	S460	57997001	-25.6224
112	S567	90143226	-25.6152
113	S565	89922257	-25.6092
114	S783	143414900	-25.5922
115	S777	143414890	-25.5792
116	S101	5282120	-25.5665
117	S447	54740334	-25.5633
118	S503	70858342	-25.5482
119	S574	90659892	-25.5459
120	S468	67166287	-25.5224
121	S300	15292022	-25.5216
122	S790	146510404	-25.5095
123	S271	13361040	-25.5077
124	S217	11077824	-25.4880
125	S836	156048686	-25.4758
126	S807	154068715	-25.4577
127	S681	129650431	-25.4552
128	S530	71493720	-25.4552
129	S37	160476	-25.4427
130	S805	153947062	-25.4288
131	S433	53889188	-25.4142
132	S832	156048583	-25.3901
133	S790	146510404	-25.3728
134	S337	19792943	-25.3639
135	S782	143414898	-25.3369
136	S814	154186717	-25.3321
137	S738	139950867	-25.2834
138	S762	141399634	-25.2829
139	S304	15292032	-25.2788

140	S835	156048685	-25.2712
141	S545	85724876	-25.2425
142	S101	5282120	-25.2365
143	S479	68893324	-25.1882
144	S37	160476	-25.1798
145	S37	160476	-25.1547
146	S831	156048582	-25.1329
147	S320	16658615	-25.1253
148	S756	141168271	-25.0998
149	S810	154106309	-25.0970
150	S721	138112320	-25.0818
151	S420	44613737	-25.0630
152	S574	90659892	-25.0368
153	S503	70858342	-25.0327
154	S763	141399652	-25.0170
155	S799	153731673	-25.0139
156	S798	153731672	-25.0119
157	S756	141168271	-24.9844
158	S46	235576	-24.9558
159	S503	70858342	-24.9556
160	S761	141399632	-24.9533
161	S814	154186717	-24.9339
162	S814	154186717	-24.9285
163	S271	13361040	-24.9120
164	S788	146311236	-24.9041
165	S336	19039251	-24.8834
166	S798	153731672	-24.8827
167	S567	90143226	-24.8778
168	S529	71493719	-24.8618
169	S814	154186717	-24.8598
170	S574	90659892	-24.8545
171	S333	18996992	-24.8497
172	S486	70008202	-24.8425
173	S531	71493722	-24.8239
174	S567	90143226	-24.8032
175	S814	154186717	-24.7944
176	S738	139950867	-24.7892
177	S674	122706281	-24.7835
178	S427	52914058	-24.7748
179	S530	71493720	-24.7708
180	S689	129853283	-24.7626
181	S814	154186717	-24.7537
182	S814	154186717	-24.7494
183	S479	68893324	-24.7456
184	S531	71493722	-24.7420
185	S438	54451930	-24.7389
186	S188	10668791	-24.7380
187	S531	71493722	-24.6949

188	S63	433369	-24.6851
189	S337	19792943	-24.6689
190	S438	54451930	-24.6654
191	S37	160476	-24.6554
192	S786	146014785	-24.6551
193	S782	143414898	-24.6524
194	S158	10451012	-24.6513
195	S835	156048685	-24.6471
196	S743	140001308	-24.6376
197	S559	87923796	-24.6303
198	S495	70538414	-24.6111
199	S717	136338814	-24.6098
200	S467	66610525	-24.5725
201	S786	146014785	-24.5670
202	S566	89932364	-24.5622
203	S786	146014785	-24.5530
204	S787	146026628	-24.5459
205	S360	22590777	-24.5405
206	S467	66610525	-24.5372
207	S445	54720345	-24.5129
208	S529	71493719	-24.4982
209	S529	71493719	-24.4949
210	S330	18977667	-24.4938
211	S271	13361040	-24.4865
212	S467	66610525	-24.4838
213	S759	141342891	-24.4810
214	S799	153731673	-24.4786
215	S364	22733824	-24.4608
216	S761	141399632	-24.4595
217	S800	153731674	-24.4350
218	S467	66610525	-24.4302
219	S37	160476	-24.4246
220	S573	90657279	-24.4139
221	S782	143414898	-24.4081
222	S835	156048685	-24.3923
223	S304	15292032	-24.3911
224	S786	146014785	-24.3872
225	S857	161650009	-24.3356
226	S135	10043098	-24.3340
227	S788	146311236	-24.3326
228	S763	141399652	-24.3280
229	S336	19039251	-24.3240
230	S810	154106309	-24.3172
231	S529	71493719	-24.3055
232	S127	9930620	-24.3050
233	S271	13361040	-24.2930
234	S778	143414892	-24.2907
235	S79	617672	-24.2867

236	S101	5282120	-24.2862
237	S717	136338814	-24.2673
238	S761	141399632	-24.2662
239	S506	71249026	-24.2645
240	S495	70538414	-24.2593
241	S336	19039251	-24.2490
242	S835	156048685	-24.2468
243	S798	153731672	-24.2426
244	S479	68893324	-24.2276
245	S320	16658615	-24.2120
246	S471	67759671	-24.2081
247	S836	156048686	-24.1853
248	S513	71357852	-24.1795
249	S674	122706281	-24.1767
250	S337	19792943	-24.1703
251	S77	554081	-24.1558
252	S283	14239299	-24.1531
253	S121	9821755	-24.1422
254	S150	10384007	-24.1411
255	S674	122706281	-24.1391
56	S781	143414896	-24.1283
257	S427	52914058	-24.1280
258	S445	54720345	-24.1214
259	S756	141168271	-24.1198
260	S807	154068715	-24.1169
261	S447	54740334	-24.1100
262	S445	54720345	-24.1005
263	S513	71357852	-24.0943
264	S835	156048685	-24.0921
265	S761	141399632	-24.0874
266	S127	9930620	-24.0831
267	S513	71357852	-24.0668
268	S487	70008360	-24.0655
269	S271	13361040	-24.0643
270	S79	617672	-24.0615
271	S331	18996983	-24.0546
272	S479	68893324	-24.0530
273	S77	554081	-24.0470
274	S454	57357605	-24.0441
275	S776	143414889	-24.0409
276	S875	163024519	-24.0364
277	S761	141399632	-24.0339
278	S756	141168271	-24.0316
279	S76	482557	-24.0176
280	S131	9974887	-24.0170
281	S400	24946032	-24.0164
282	S336	19039251	-24.0113
283	S776	143414889	-24.0112

284	S776	89932364	-24.0097
285	S674	122706281	-24.0041
286	S336	19039251	-24.0037
287	S436	54412600	-24.0027
288	S30	133561	-24.0024
289	S300	15292022	-23.9973
290	S529	71493719	-23.9966
291	S360	22590777	-23.9893
292	S46	235576	-23.9865
293	S135	10043098	-23.9824
294	S400	24946032	-23.9747
295	S831	156048582	-23.9665
296	S776	143414889	-23.9556
297	S778	143414892	-23.9547
298	S471	67759671	-23.9485
299	S479	68893324	-23.9475
300	S436	54412600	-23.9398
301	S336	19039251	-23.9369
302	S761	141399632	-23.9342
303	S422	46782876	-23.9312
304	S829	155888428	-23.9290
305	S447	54740334	-23.9269
306	S574	90659892	-23.9235
307	S674	122706281	-23.9217
308	S79	617672	-23.9197
309	S851	156581700	-23.9168
310	S135	10043098	-23.9131
311	S158	10451012	-23.9122
312	S790	146510404	-23.9100
313	S149	10380030	-23.9044
314	S533	71752058	-23.8955
315	S786	146014785	-23.8933
316	S674	122706281	-23.8872
317	S513	71357852	-23.8868
318	S438	54451930	-23.8775
319	S721	138112320	-23.8730
320	S717	136338814	-23.8536
321	S326	18006881	-23.8510
322	S857	161650009	-23.8456
323	S436	54412600	-23.8437
324	S509	71330484	-23.8400
325	S324	17929097	-23.8381
326	S324	17929097	-23.8381
327	S674	122706281	-23.8266
328	S674	122706281	-23.8225
329	S49	301142	-23.8181
330	S807	154068715	-23.8164
331	S158	10451012	-23.8121

332	S271	13361040	-23.8102
333	S788	146311236	-23.8006
334	S158	10451012	-23.8000
335	S126	9927341	-23.7993
336	S530	71493720	-23.7929
337	S567	90143226	-23.7907
338	S283	14239299	-23.7882
339	S304	15292032	-23.7871
340	S674	122706281	-23.7860
341	S135	10043098	-23.7853
342	S271	13361040	-23.7837
343	S674	122706281	-23.7755
344	S431	53323676	-23.7670
345	S9	10168	-23.7644

Résumés

Résumé

Les inhibiteurs du quorum sensing peuvent être identifiés par des méthodes *in silico*, telles que le docking moléculaire, qui est couramment utilisé dans les premières étapes du développement de nouveaux médicaments. Dans notre travail de master, nous avons utilisé le programme FlexX pour développer *in silico* de nouveaux inhibiteurs ciblant les protéines LasR et PqsR.

Dans un premier temps, nous avons testé la fiabilité du programme de docking à l'aide du test RMSD et l'analyse visuelle. Ensuite, nous avons réalisé un criblage virtuel d'une collection de plus de 1000 composés chimiques similaires au chrysophanol, un inhibiteur naturel de LasR. Les composés S674 et S140 ont montré les meilleurs scores respectifs, à savoir -40,7240 kJ/mol et -38,9259 kJ/mol. Ces énergies d'interaction sont effectivement plus élevées que celle du composé de départ, qui était de -29,0357 kJ/mol. De même, lors du criblage virtuel d'une collection de plus de 900 composés chimiques similaires au rhein, un inhibiteur naturel de PqsR, les composés S531 et S798 ont affiché les meilleurs scores respectifs, soit -30,7309 kJ/mol et -29,0802 kJ/mol. Ces énergies d'interaction sont également supérieures à celle du composé de départ, qui était de -23,7644 kJ/mol.

En évaluant les paramètres pharmacocinétiques, physicochimiques et la toxicité potentielle, nous avons obtenu des indications positives concernant les propriétés ADMET des composés S531 et S798. Ces deux nouvelles molécules ont démontré des profils ADMET favorables, ce qui suggère qu'elles pourraient constituer de nouveaux inhibiteurs prometteurs du QS.

Mots clés: Quorum sensing, *P. aeruginosa*, docking moléculaire, LasR, PqsR, Chrysophanol, Rhein.

Summary

Quorum sensing inhibitors can be identified through in silico methods such as molecular docking, which is commonly used in the early stages of new drug development. In our master's work, we used the FlexX program to develop new in silico inhibitors targeting the LasR and PqsR proteins.

First, we tested the reliability of the docking program using the RMSD test and visual analysis. Then, we performed virtual screening of a collection of over 1000 chemical compounds similar to chrysophanol, a natural inhibitor of LasR. Compounds S674 and S140 showed the best respective scores, namely -40.7240 kJ/mol and -38.9259 kJ/mol. These interaction energies are indeed higher than the starting compound, which was -29.0357 kJ/mol. Similarly, during the virtual screening of a collection of over 900 chemical compounds similar to rhein, a natural inhibitor of PqsR, compounds S531 and S798 displayed the best respective scores, -30.7309 kJ/mol and -29.0802 kJ/mol. These interaction energies are also higher than the starting compound, which was -23.7644 kJ/mol.

By evaluating the pharmacokinetic, physicochemical, and potential toxicity parameters, we obtained positive indications regarding the ADMET properties of compounds S531 and S798. These two new molecules demonstrated favorable ADMET profiles, suggesting that they could be promising new QS inhibitors.

Keywords: Quorum sensing, *P. aeruginosa*, molecular docking, LasR, PqsR, Chrysophanol, Rhein.

ملخص

يمكن التعرف على مثبطات استنشعار النصاب بالطرق السليكونية ، مثل الالتحام الجزيئي ، الذي يشيع استخدامه في المراحل المبكرة من تطوير دواء جديد. في عملنا هذا، استخدمنا برنامج FlexX لتطوير مثبطات جديدة في السيليكو تستهدف بروتينات LasR و PqsR.

أولاً، قمنا باختبار موثوقية برنامج الإرساء باستخدام اختبار RMSD والتحليل المرئي. بعد ذلك، أجرينا فحصاً افتراضياً لمجموعة من أكثر من 1000 مركب كيميائي مشابه Chrysophanol، وهو مثبط طبيعي لليزر. أظهر المركبان S674 و S140 أفضل الدرجات ذات الصلة، وهي -40.7240 kJ / mol و -38.9259 kJ / mol.

طاقات التفاعل هذه أعلى بالفعل من تلك الخاصة بمركب البداية، والتي كانت -29.0357 kJ / mol. وبالمثل، عند الفحص الافتراضي لمجموعة من أكثر من 900 مركب كيميائي مشابه لـ rhein، وهو مثبط طبيعي لـ PqsR، أظهر المركبان S531 و S798 أفضل الدرجات ذات الصلة من -30.7309 kJ / mol و -29.0802 kJ / mol. طاقات التفاعل هذه أكبر أيضاً من تلك الخاصة بمركب البداية ، والتي كانت -23.7644 kJ / mol.

من خلال تقييم الحرائك الدوائية والمعلومات الفيزيائية والكيميائية والسمية المحتملة، حصلنا على مؤشرات إيجابية فيما يتعلق بخصائص ADMET للمركبين S531 و S798. أظهر هذان الجزيئان الجديان ملامح ADMET مواتية، مما يشير إلى أنهما يمكن أن يكونا مثبطات QS جديدة واعدة.

الكلمات المفتاحية: استنشعار النصاب، *P. aeruginosa*، الالتحام الجزيئي، LasR، PqsR، Chrysophanol، Rhein.

Année universitaire : 2022-2023

Présenté par : MOKRANE Hana
SIA Oussama

Thème :
Recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs du quorum sensing pour atténuer la virulence de *P. aeruginosa*

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

Résumé

Les inhibiteurs du quorum sensing peuvent être identifiés par des méthodes *in silico*, telles que le docking moléculaire, qui est couramment utilisé dans les premières étapes du développement de nouveaux médicaments. Dans notre travail de master, nous avons utilisé le programme FlexX pour développer *in silico* de nouveaux inhibiteurs ciblant les protéines LasR et PqsR.

Dans un premier temps, nous avons testé la fiabilité du programme de docking à l'aide du test RMSD et l'analyse visuelle. Ensuite, nous avons réalisé un criblage virtuel d'une collection de plus de 1000 composés chimiques similaires au chrysophanol, un inhibiteur naturel de LasR. Les composés S674 et S140 ont montré les meilleurs scores respectifs, à savoir -40,7240 kJ/mol et -38,9259 kJ/mol. Ces énergies d'interaction sont effectivement plus élevées que celle du composé de départ, qui était de -29,0357 kJ/mol. De même, lors du criblage virtuel d'une collection de plus de 900 composés chimiques similaires au rhéin, un inhibiteur naturel de PqsR, les composés S531 et S798 ont affiché les meilleurs scores respectifs, soit -30,7309 kJ/mol et -29,0802 kJ/mol. Ces énergies d'interaction sont également supérieures à celle du composé de départ, qui était de -23,7644 kJ/mol.

En évaluant les paramètres pharmacocinétiques, physicochimiques et la toxicité potentielle, nous avons obtenu des indications positives concernant les propriétés ADMET des composés S531 et S798. Ces deux nouvelles molécules ont démontré des profils ADMET favorables, ce qui suggère qu'elles pourraient constituer de nouveaux inhibiteurs prometteurs du QS.

Mots-clefs : Quorum sensing, *P. aeruginosa*, docking moléculaire, LasR, PqsR, Chrysophanol, Rhein.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Biochimie (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadrante : GUENDOUZE A. Maître de conférences B - Université Frères Mentouri, Constantine 1

Président : CHIKHI A. Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1

Examineur : MOKRANI E. H. Maître de conférences A - Université Frères Mentouri, Constantine 1