



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire
Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Exploration des molécules naturelles pour l'inhibition de PD-L1 dans le traitement du cancer : Approche par docking moléculaire

Présenté par : BOUTOUT Nouseiba
DIB Fedoua

Le : 13/06/2024

Jury d'évaluation :

Président : Mr MOKRANI E.H. (MCA- U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrante : M^{me} GUENDOUZE A. (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinatrice : M^{me} TENIOU S. (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire
2023 - 2024

Remerciements



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

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

Le plus sincère remerciement revient à notre encadrante Mme GUENDOUZEA. Pour sa constante disponibilité, ses précieux conseils, sa patience et sa supervision éclairée a été d'une aide précieuse tout au long du processus. Nous vous remercions d'avoir mis autant de volonté et d'attention à notre travail.

Nous tenons à exprimer notre plus profonde gratitude à Monsieur Mokrani E. H. pour l'honneur qu'il nous fait en présidant le jury de notre mémoire de master. Votre expertise, vos précieux conseils et vos remarques constructives ont grandement contribué à l'amélioration et à l'enrichissement de ce travail.

Nous souhaitons également adresser un remerciement particulier à Madame TENIOU S. pour avoir d'examiner attentivement notre travail.

Nous sommes également reconnaissants envers tous les intervenants professionnels et membres de l'équipe pédagogique de l'université Frères Mentouri Constantine 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biochimie-Biologie Cellulaire et Moléculaire, pour leur aide et leur soutien dans les démarches administratives et pour la qualité de leur formation.

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, le respect, et la reconnaissance....

Dédicaces



Je dédie ce mémoire de fin d'études À mes chers parents
À mes chères frères Abd Errahim, Houcine et Aboubakeur

À mon cher binôme Nousseiba

À toute ma famille

À mes amis, mes collègues d'études

À l'âme de mon frère Abd Allah que Dieu l'accueille dans
son vaste paradis et dans son infinie miséricorde.

À tous ceux qui ont contribué à ce travail de proche ou de
loin

Fedoua



Dédicace



Je dédie ce travail : Au Roi et à la Reine de mon cœur mes chers parents.

A mon très cher père, tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que je t'adore.

A mes adorables sœurs, Amina et Sana. Ainsi que mes chers frères. Abdelmounaim et sa femme Rayhane, et mon petit frère Assam Pour leurs amours et leurs encouragements. Je vous formule les plus sincères vœux de bonheur et d'un avenir radieux.

Merci à mon neveu, le petit Prince Tamym, et à ma nièce la petite princesse, Hour Layane.
Merci de remplir ma vie de joie et de bonheur.

Mes Grands-pères, Mes Grands-mères, Mes Oncles, Mes Tantes, Mes cousins et mes cousines ceux qui sont les plus proches de mon cœur « Yasmine, chayma et Assil » Je leur dédie ce travail pour tous les sacrifices qu'ils n'ont cessé de m'apporter tout au long de mes années d'études. Que Dieu leur apporte le bonheur, les aides à réaliser tous leurs vœux et leur offre un avenir plein de succès.

A mes amies les plus fidèles : Razane, Rania, Ikram, Chayma, Belkiss, Hasna, Ahlem, Loubna, Fedoua... Qu'ils trouvent ici ma profonde reconnaissance et mon amitié, À tous mes amies vous êtes les rayons de soleil. Merci d'être toujours là pour moi.

À tous mes collègues de la promotion de Master Biochimie. Merci d'avoir toujours soutenu et merci pour tous les bons moments passé ensemble. À tous mes enseignants durant les années d'études. A tous mes amis de la promotion de Master au Laboratoire du Biochimie Appliquée: Lina et Sami, Dounia et Nihad. A ma chère binôme : Fedoua.

Enfin, je présente mes remerciements à tous ceux qui m'ont aidé Chacun en son nom et chacun à sa place pour leurs orientations et leurs conseils.

Nousseiba



Table des matières

Introduction	1
---------------------------	----------

Chapitre 1 : Le cancer

1. Définition.....	2
2. Caractéristiques fondamentaux du cancer	2
3. Types du cancer.....	3
4. Facteurs de risque.....	3
4.1. Altérations génétiques.....	3
4.2. Agents chimiques cancérigènes.....	4
4.3. Virus oncogène	4
5. Épidémiologie	5
6. Traitements du cancer	5
6.1. Chimiothérapie	6
6.2. Radiothérapie	6
6.3. Immunothérapie et radiothérapie.....	6
6.4. Immunothérapie anticancéreuse	7

Chapitre 2: Voie de signalisation PD-1 / PD-L1

1. Mécanismes d'action et évation immunitaire	8
2. Structure de PD-1/PD-L1	9
3. Voie du PD-1 /PD-L1 dans le cancer.....	10
12	
4.1. Atezolizumab.....	12
4.2. Durvalumab	12
5. Produits naturels ciblant l'axe PD-1/PD-L1	12

Chapitre 3 : Docking moléculaire

1. Généralités.....	14
3. Types de docking	15
4.1. Récepteur	15
4.2. Ligand.....	16
4.3. Programmes de docking.....	16
5. Programme de docking moléculaire Surflex	17

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

1. Matériel.....	18
1.1. Micro-ordinateur.....	18
1.2. Programmes	18
1.2.1. Surflex.....	18

1.2.2. PDBaser	18
1.2.3. Open Babel (3.1.1)	19
1.2.4. Biovia Discovery Studio	20
1.3. Banques de données et les sites internet	20
1.3.1. PDB (Protein Data Bank).....	20
1.3.2. ANPDB (African Natural Products Database)	21
1.3.3. SuisseADME	21
2. Méthodes	22
2.1. Tests de fiabilité du programme de docking.....	22
2.1.1. Test RMSD	22
2.1.2. Analyse visuelle.....	22
2.2. Préparation des molécules au docking moléculaire	22
2.2.1. Préparation de la cible.....	22
2.2.2. Préparation du ligand de référence	23
2.3. Protocole du docking avec Surflex.....	24
2.4. Propriétés ADME	25
2.4.1. Propriétés physico-chimiques.....	25
2.4.2. Propriétés pharmacocinétiques.....	26

Chapitre 5 : Résultats et Discussion

1. Tests de fiabilité du programme Surflex	27
1.1. Test RMSD	27
1.2. Analyse visuelle.....	28
2. Etude des interactions impliquées dans l'interaction de PDL1 avec son modérateur	29
3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la PD-L1	30
4. Etude des interactions des meilleurs inhibiteurs.....	31
4.1. Etude des interactions du complexe PDL1- S_347	31
4.2. Etude des interactions du complexe PDL1- S_136.....	32
4.3. Étude des Interactions du Composé S_175.....	33
4.4. Comparaison de l'effet inhibiteur des meilleurs inhibiteurs de PD-L1	33
5. Evaluation des propriétés ADME	35
5.1. Propriétés physico-chimiques	35
5.2. Propriétés pharmacocinétiques	36
Conclusion.....	38

Références bibliographique

Annexes

Résumés

Liste des figures

Figure 1 : Mécanismes d'action de divers médicaments de chimiothérapie	6
Figure 2 : Représentation schématique des principaux points de contrôle immunitaire	8
Figure 3 : Structures des protéines du système de point de contrôle PD-1/PD-L1	10
Figure 4 : Structure 3D du PD-L1	10
Figure 5 : Inhibiteur de point de contrôle immunitaire	11
Figure 6 : Principe du Docking et Scoring.....	15
Figure 7 : Représentation de l'interface du PDBaser.....	19
Figure 8 : Représentation de l'interface du Open Babel	19
Figure 9 : Représentation de l'interface du Biovia Discovery Studio.....	20
Figure 10 : Représentation de l'interface du PDB	20
Figure 11 : Représentation de l'interface du suisseADME	21
Figure 12 : Structure 3D du complexe 5NIU.....	23
Figure 13 : Représentation du ligand 8YZ (1) 3D et (2) 2D.....	24
Figure 14 : Résultats du test RMSD donnés en pourcentage.....	27
Figure 15 : Superposition du ligand (en bleu) du complexe 7RSA.et la pose simulé par surflex (en rouge)	29
Figure 16 : Superposition du ligand (coloré en bleu) et du finale-0 calculé par surflex (coloré en rouge) du complexe 5A6H.....	29
Figure 17 : Représentation en 2D du mode d'interaction de l'inhibiteur 8YZ avec le site de liaison de PD-L1	30
Figure 18 : Représentation en 2D du mode d'interaction du composé S_347 avec le site de liaison de PD-L.....	32
Figure 19 : Représentation en 2D du mode d'interaction du composé S_136 avec le site actif de PD-L1	32
Figure 20 : Représentation en 2D du mode d'interaction du composé S_175 avec le site actif de PD-L1	33

Liste des tableaux

Tableau 1 : Certains virus causant ou associés à des cancers.....	5
Tableau 1 : Principaux programmes du docking moléculaire	16
Tableau 3 : Caractéristiques des micro-ordinateurs	18
Tableau 4 : Caractéristiques du complexe 5NIU	23
Tableau 5 : Classement, et affinité des trois meilleurs inhibiteurs du PD-L1	31
Tableau 6 : Tableau récapitulatif score et de nombre des interactions du 8YZ, S_347, S_136, S_175	34
Tableau 7 : Propriétés physico-chimiques du ligand 8YZ et des 3 similaires S_347, S_136 et S_175	35
Tableau 8 : Propriétés pharmacocinétiques de 8YZ et de S_347, S_136 et S_175	36

Liste des Abréviations

Å : Angstrom

AC : Anticorps

ADME : Absorption Distribution Métabolisme Excrétion

ANPDB: African Natural Products Database

CD : Cellule Dendritique

CTLA-4 : Cytotoxic T Lymphocyte Antigen-4

Fab : Fragment antigen binding

ICI : Inhibiteurs de point de contrôle immunitaire

IFN γ : Interféron- γ

ITIM: Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif

ITSM: Immunoreceptor Tyrosine-based Switch Motif

Kd : Constante de dissociation

NCBI : National Center for Biotechnology Information

NIH: National Institutes of Health

PDB: Protein Data Bank

PD-1: Programmed cell Death protein-1

PD-L1: Programmed Death ligand 1

Treg : Cellules T régulatrices

The background features a light blue and white color scheme. On the left side, there is a vertical DNA double helix structure. Scattered throughout the background are various chemical structures, including hexagonal rings, branched chains, and other molecular diagrams, all rendered in a light, semi-transparent style.

Introduction générale

Introduction

L'augmentation de l'incidence du cancer en tant que principale cause de décès à l'échelle mondiale a intensifié les efforts de recherche visant à trouver des traitements plus efficaces. Traditionnellement, les options thérapeutiques contre le cancer étaient limitées à la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie, mais ces approches présentent des limitations en termes d'efficacité et de tolérance. L'émergence de nouvelles stratégies thérapeutiques, notamment l'immunothérapie anticancéreuse, a ouvert de nouvelles perspectives dans la lutte contre le cancer (Tortora & Derrickson, 2018).

L'immunothérapie anticancéreuse, en particulier celle impliquant la modulation des points de contrôle immunitaires, a suscité un intérêt considérable. Le récepteur PD-1 (programmed cell death protein -1) est un point de contrôle immunitaire clé impliqué dans la régulation de la réponse immunitaire. Son interaction avec ses ligands, PD-L1 et PD-L2, joue un rôle crucial dans la tolérance immunitaire, mais une surexpression de ces ligands peut favoriser l'évasion tumorale du système immunitaire (Liu et al., 2021; Ri et al., 2021).

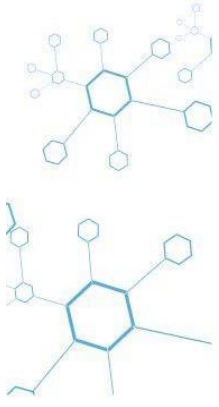
Des anticorps monoclonaux, tels que le Atezolizumab et le Durvalumab, ont été développés pour bloquer l'interaction PD-1/PD-L1 et restaurer la réponse immunitaire anti-tumorale (Sharon et al., 2024).

Bien que ces thérapies aient montré des résultats prometteurs, il reste nécessaire de développer des inhibiteurs de PD-L1 pour améliorer l'efficacité des traitements et élargir les options thérapeutiques disponibles (Akinleye & Rasool, 2019).

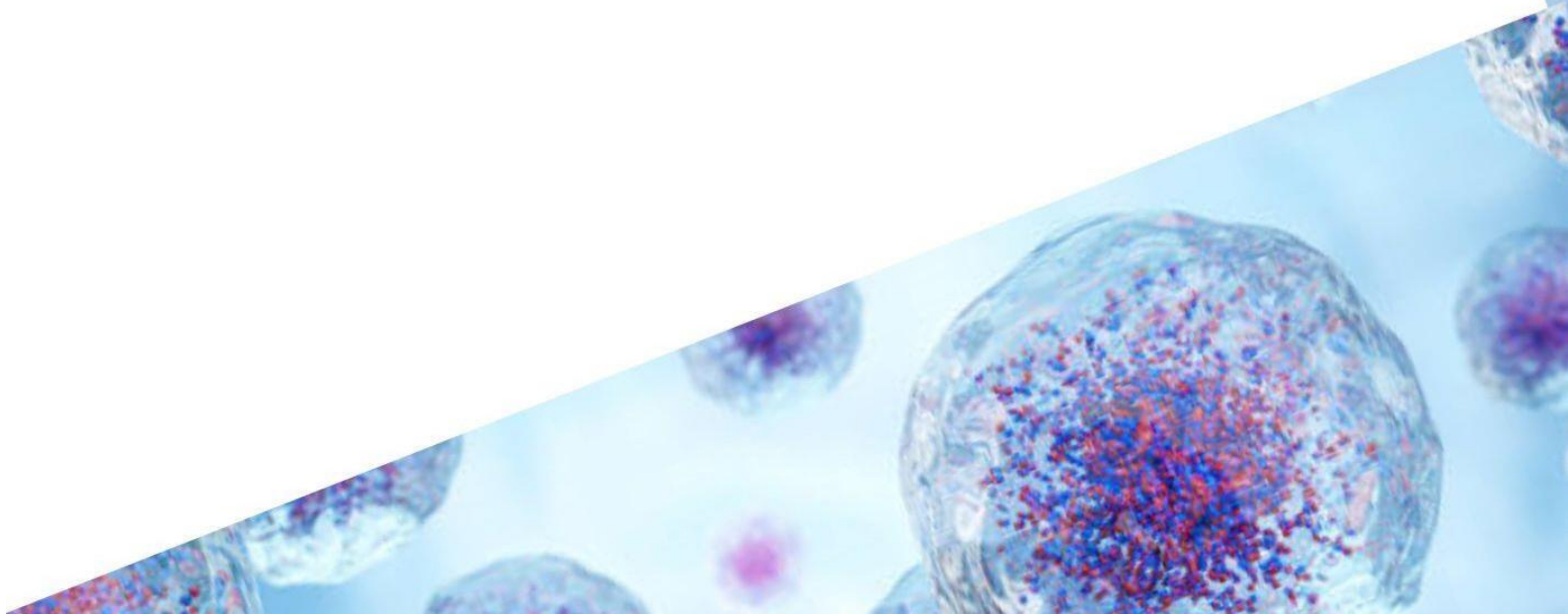
Dans cette optique, notre étude vise à explorer les molécules naturelles capables d'inhiber l'interaction PD-1/PD-L1. L'utilisation de l'informatique, notamment du docking moléculaire, offre des outils puissants pour faciliter la découverte de nouveaux inhibiteurs de PD-L1.

Nous visons à explorer et à identifier des composés naturels potentiels en utilisant des techniques informatiques avancées pour fournir des pistes prometteuses dans le développement de traitements anticancéreux innovants.

Ce travail est structuré en trois parties : une revue bibliographique sur le cancer, les inhibiteurs de PD-L1 et docking moléculaire, une description des méthodes utilisées dans notre étude, et une présentation des résultats obtenus et de leur interprétation. Enfin, la conclusion générale synthétise nos résultats et met en évidence les perspectives de recherche futures dans ce domaine crucial de la lutte contre le cancer.



Chapitre 1 : Le cancer



1. Définition

Le cancer est une maladie caractérisée par des croissances tissulaires anormales, pouvant être bénignes ou malignes. Le terme "cancer" est généralement utilisé pour désigner les tumeurs malignes, qui peuvent se former dans n'importe quel organe et provoquer divers symptômes selon leur emplacement (Upadhyay, 2021).

Les cellules cancéreuses se distinguent par plusieurs caractéristiques clés :

- Une prolifération rapide et une perte de contrôle de la croissance,
- Une perte d'inhibition de contact *in vitro*.
- Une capacité à envahir localement les tissus et à se disséminer (métastaser) dans d'autres parties du corps (Tortora & Derrickson, 2018).

Ces caractéristiques sont propres aux cellules des tumeurs malignes, dont le pouvoir métastatique est souvent fatal pour les patients. Les tumeurs bénignes présentent également une croissance non contrôlée mais ne s'invitent ni ne se propagent dans d'autres parties du corps (Upadhyay, 2021).

D'autres caractéristiques importantes des cellules cancéreuses incluent (Botham et al., 2017) :

- une croissance autonome en réponse à des signaux de croissance,
- une résistance aux signaux d'arrêt de croissance,
- une stimulation locale de l'angiogenèse, et souvent, une capacité à éviter l'apoptose.

2. Caractéristiques fondamentaux du cancer

Le cancer commence par des altérations génétiques non mortelles qui initient la cancérogenèse. Il existe quatre classes principales de gènes dont les altérations peuvent favoriser le développement tumoral :

Les proto-oncogènes, les gènes suppresseurs de tumeur, les gènes de réparation de l'ADN et les gènes impliqués dans l'apoptose. Le cancer provient d'une seule cellule clonale qui se multiplie pour former une masse cellulaire constituant une tumeur.

Ainsi, la cancérogenèse est un processus en plusieurs étapes caractérisé par de multiples altérations génétiques transformant les cellules normales en cellules malignes. Le développement d'une tumeur prend donc souvent plusieurs années (Lodish, 2008).

3. Types du cancer

Les cancers sont classés selon l'organe ou le tissu où ils se forment, mais de nos jours, ils sont également catégorisés en fonction des caractéristiques moléculaires des cellules cancéreuses. Les avancées technologiques récentes permettent désormais une analyse approfondie de la composition moléculaire de divers types de cancer sur des délais courts (Schwartz, 2024).

Les cancers sont généralement classés en trois catégories principales : les carcinomes, les sarcomes et les tumeurs hématopoïétiques.

Le carcinome se caractérise par le développement de cellules cancéreuses dans les tissus qui recouvrent les organes, y compris la peau (épiderme). Ces cellules peuvent également se développer dans l'épithélium des glandes comme le sein ou la prostate.

Le sarcome concerne le développement de cellules cancéreuses dans les tissus de soutien tels que les os (ostéosarcome), la graisse (liposarcome) ou les muscles (rhabdomyosarcome).

Les cancers hématopoïétiques englobent les cancers du sang (leucémie) et ceux qui affectent les organes lymphoïdes (lymphome)¹.

4. Facteurs de risque

4.1. Altérations génétiques

Les altérations génétiques peuvent résulter de mutations acquises, dues à des agents cancérigènes environnementaux, ou de mutations innées, transmises génétiquement et associées à des maladies familiales prédisposant au cancer. Les mutations spontanées, survenant à une fréquence de 10^{-7} à 10^{-6} par cellule, sont plus fréquentes dans les tissus à forte prolifération et peuvent être augmentées par le stress oxydatif.

Les rayons ionisants et les agents chimiques sont les principales causes de cancer, provoquant des mutations de l'ADN. Les rayons ionisants (rayons UV, X et gamma) sont à la fois mutagènes et cancérigènes, endommageant l'ADN par des mécanismes tels que la formation de dimères de pyrimidines, la création de sites apuriques/apyrimidiniques, et des

¹ Chemotherapy to Treat Cancer – NCI. <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/chemotherapy>

cassures d'ADN. Ces mutations de l'ADN sont considérées comme le mécanisme fondamental de la cancérogenèse due aux rayonnements ionisants (Botham et al, 2017).

4.2. Agents chimiques cancérigènes

De nombreux composés chimiques sont cancérigènes, et environ 70 à 80 % des cancers humains sont attribués à des facteurs environnementaux, principalement des agents chimiques. Ces agents créent des liaisons covalentes avec l'ADN, formant des adduits qui peuvent persister et conduire au cancer si l'ADN n'est pas correctement réparé. Certains agents interagissent directement avec l'ADN, tandis que d'autres nécessitent une conversion enzymatique pour devenir actifs. Les agents cancérigènes actifs sont souvent des électrophiles qui réagissent avec les nucléophiles de l'ADN. La conversion des agents chimiques en substances cancérigènes est principalement due à l'action des cytochromes P450 dans le réticulum endoplasmique, un principe utilisé dans le test d'Ames (Tortora, 2018).

4.3. Virus oncogène

L'étude des virus tumoraux a été cruciale pour comprendre le cancer, menant à la découverte des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeur. Des virus à ADN et à ARN peuvent provoquer des cancers chez l'homme. En général, le matériel génétique viral s'intègre dans le génome de la cellule hôte. Pour les virus à ARN, cela se produit après la transcription inverse de l'ARN viral en ADN, formant un provirus qui peut déréguler le cycle cellulaire, inhiber l'apoptose et causer des anomalies dans les voies de signalisation cellulaires (Schiller & Lowy, 2021).

Les virus à ADN répriment souvent les gènes P53 et RB, tandis que les virus à ARN contiennent des oncogènes dans leur génome. Environ 15 % des tumeurs humaines sont causées par des virus (Schiller & Lowy, 2021).

Certains virus sont spécifiquement associés à des types de cancers, comme illustré dans le tableau 1 (Botham et al., 2017).

Tableau 1 : Certains virus causant ou associés à des cancers.

Virus	Génome	Cancer
Hépatite B	ADN	Carcinome hépatocellulaire
Hépatite C	ADN	Carcinome hépatocellulaire
Herpétique humain de type C	ADN	Sarcome de Kaposi
Papillomavirus humain (certains types)	ADN	Cancer du col de l'utérus
Virus humain de type 1 de la leucémie des cellules T	ARN	Leucémie des cellules T de l'adulte

5. Épidémiologie

5.1. Dans le monde

En 2022, les statistiques révèlent qu'il y a eu 20 millions de nouveaux cas de cancer et 9,7 millions de décès liés à cette maladie. Environ 53,5 millions de personnes survivent encore cinq ans après avoir été diagnostiquées. Environ une personne sur cinq est affectée par le cancer au cours de sa vie, et environ un homme sur neuf et une femme sur douze en décèdent.

Seulement 39 % des pays ayant participé à l'enquête mondiale de l'OMS sur la couverture sanitaire universelle et le cancer incluent les services de prise en charge du cancer dans leurs offres de soins de santé financés pour tous les citoyens (connus sous le nom de "paquets de services de santé"). De plus, seulement 28 % de ces pays assurent une telle couverture pour les soins palliatifs, y compris le soulagement de la douleur, sans se limiter au cancer (Siegel et al., 2023).

5.2. En Algérie

Saïhi a relevé que "près de 47 050 nouveaux cas de cancer ont été enregistrés en 2022", à leur tête le cancer du sein pour les femmes, suivi du cancer colorectal, tandis que les cancers des poumons, de la prostate et de l'estomac sont les plus répandus chez les hommes².

6. Traitements du cancer

Diverses stratégies sont déployées pour éradiquer efficacement les cellules cancéreuses, intégrant des traitements tels que la radiothérapie, la chirurgie et la chimiothérapie. La

² source : Prévention et sensibilisation contre le cancer

<https://www.afro.who.int/fr/countries/algeria/news/prevention-et-sensibilisation-contre-le-cancer>.

chimiothérapie, combinée à la radiothérapie et à la chirurgie, reste l'une des méthodes les plus efficaces. Elle utilise des médicaments pour inhiber spécifiquement les processus activés dans les cellules cancéreuses, limitant leur croissance et prolifération (Wilkinson & Sumar, 2022).

6.1. Chimiothérapie

Elle est souvent combinée avec d'autres traitements pour améliorer les résultats. Les traitements "adjuvants" suivent une intervention principale comme la chirurgie, tandis que les traitements "néoadjuvants" réduisent le stade du cancer avant l'intervention. Les traitements "concurrents" augmentent la radiosensibilité pendant la radiothérapie (Chemotherapy to Treat Cancer – NCI).

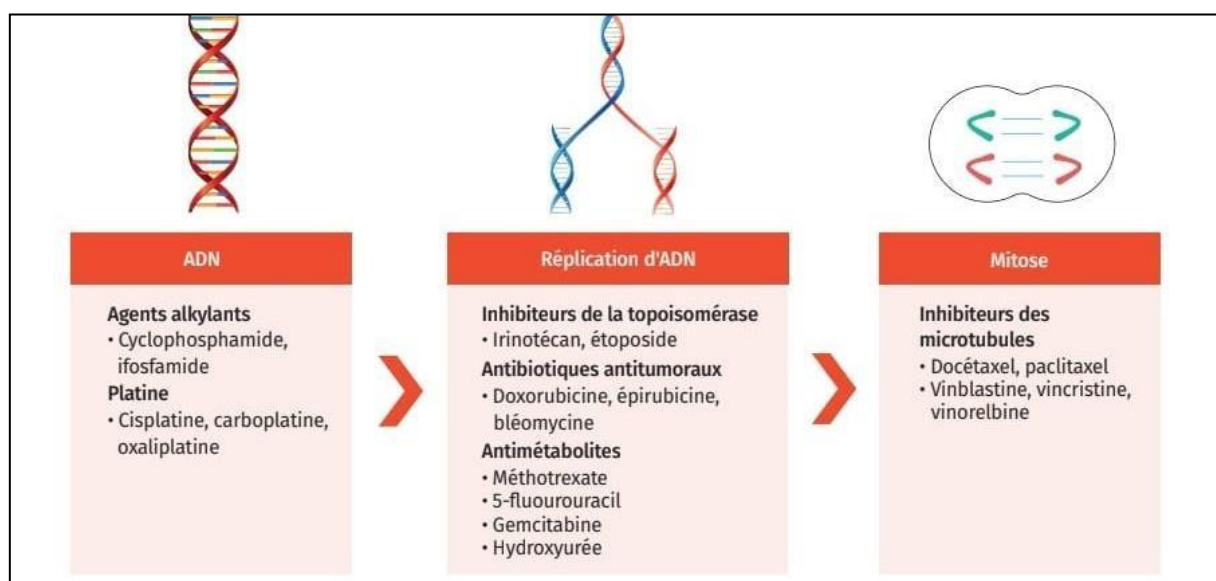


Figure 1 : Mécanismes d'action de divers médicaments de chimiothérapie (Anna, 2022).

6.2. Radiothérapie

Elle utilise des rayonnements ionisants pour détruire les cellules cancéreuses. Ces rayonnements endommagent l'ADN des cellules, empêchant leur division et prolifération. Bien que les cellules saines soient également affectées, elles ont une meilleure capacité de réparation que les cellules cancéreuses (S. M. Lee & Chow, 2014; de Crevoisier et al., 2022 ; Baskar et al., 2012).

6.3. Immunothérapie et radiothérapie

Les radiations peuvent également activer le système immunitaire, provoquant une réponse anti-tumorale et la mort cellulaire immunogène, connue sous le nom d'« effet abscopal » (Chargari et al., 2022). Cependant, la radiothérapie seule ne suffit pas pour surmonter

l'immunosuppression tumorale. La combinaison de radiothérapie et d'immunothérapie a montré des résultats prometteurs (Antoni et al., 2016).

6.4. Immunothérapie anticancéreuse

Elle modifie le système immunitaire ou utilise ses composants pour traiter le cancer. Elle repose sur des points de contrôle immunitaires des lymphocytes T, comprenant des substances co-stimulatrices et co-inhibitrices, comme PD-1 et CTLA-4. Ces points de contrôle peuvent être bloqués pour déclencher une réponse immunitaire antitumorale (S. M. Lee & Chow, 2014) (Esfahani et al., 2020). Le ciblage de ces voies peut améliorer les réponses immunitaires contre les cellules cancéreuses (Brown et al., 2023).

Chapitre 2 : Voie de signalisation

PD-1/PD-L1



1. Mécanismes d'action et évasion immunitaire

Les cellules cancéreuses parviennent à échapper et à supprimer les réponses immunitaires en manipulant le système des points de contrôle tels que PD-1, PD-L1 et CTLA-4 à leur avantage. Les cellules tumorales développent la capacité de surexprimer à leur surface les ligands des récepteurs inhibiteurs, grâce à deux mécanismes de régulation (Figure 1) (Akinleye & Rasool, 2019).

La résistance primaire survient lorsque la cellule tumorale, en raison de ses mutations, commence à exprimer naturellement les ligands inhibiteurs (Brogden et al., 2016). La résistance secondaire se déclenche en réponse à une attaque du système immunitaire : lorsque la tumeur est attaquée, la libération de cytokines inflammatoires (telles que l'IFN γ) par les cellules immunitaires dans le microenvironnement favorise l'expression de ligands inhibiteurs à la surface des cellules cancéreuses (Vuagnat & Roussy, 2018).

En bloquant ces protéines avec des anticorps monoclonaux, on peut restaurer la fonction des lymphocytes T, ce qui a conduit au développement de thérapies anticancéreuses révolutionnaires.

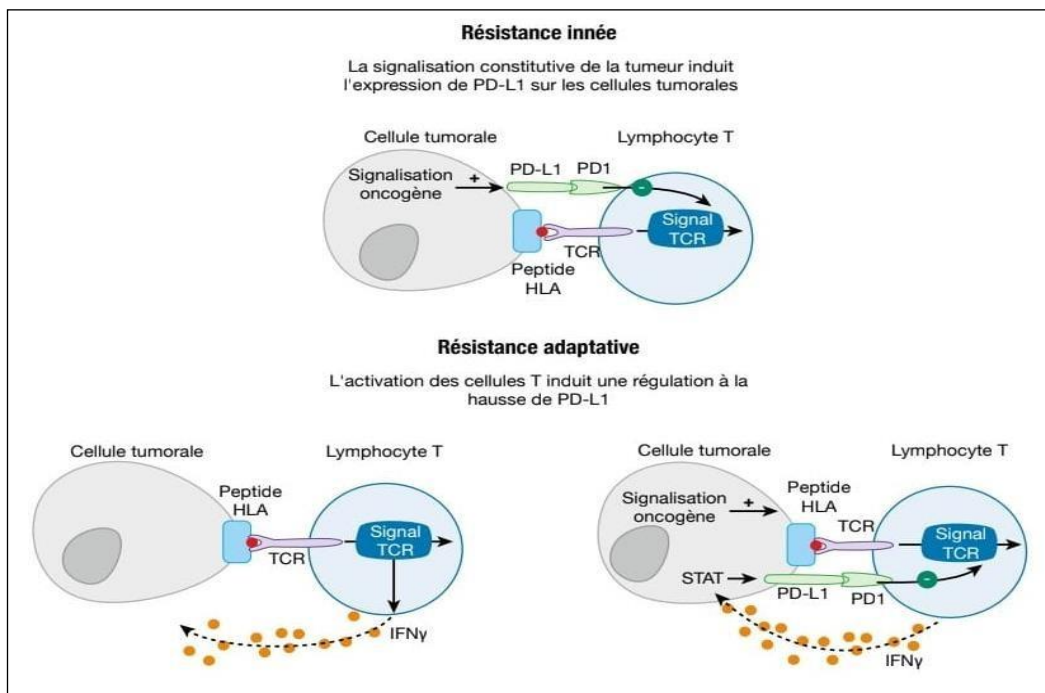


Figure 2 : Représentation schématique des principaux points de contrôle immunitaires (Vuagnat & Roussy, 2018). Reconnaissance antigénique du lymphocyte T par son récepteur spécifique le TCR. Les points de contrôle tels que PD1 et ses ligands PD-L1 et PD-L2 ou CTLA 4 régulent l'activation du lymphocyte T.

La découverte de la structure cristalline de PD-1/PD-L1 a conduit à l'identification d'inhibiteurs visant la protéine de mort cellulaire programmée 1 (PD-1), PD-L1 ou leur interaction protéine-protéine (Tang et al., 2018).

2. Structure de PD-1/PD-L1

Les premières informations structurelles sur les protéines de contrôle immunitaire ont été obtenues en 1997 avec la publication de la structure de la CTLA-4 humaine par résonance magnétique nucléaire (PDB : 1AH1), un récepteur fonctionnellement similaire à PD-1. Depuis lors, plusieurs structures d'autres protéines de contrôle immunitaire ont été décrites (Okazaki & Honjo, 2006).

Toutes ces structures montrent que le domaine extracellulaire de PD-1 se replie en un sandwich de brins β , rappelant le motif de clé grecque (sept brins β organisés en deux feuillets). Les deux feuillets sont reliés par un pont disulfure caractéristique. Ce repliement de type IG se retrouve dans les domaines de nombreux types de protéines du système immunitaire, y compris les anticorps (Zak et al., 2017).

Le récepteur PD-1 est constitué de 288 acides aminés. Il est composé d'un domaine N-terminal extracellulaire de type immunoglobuline (IgV-like), un domaine transmembranaire de 20 acides aminés et un domaine C-terminal cytoplasmique contenant deux motifs de tyrosines : un motif ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) à proximité de la membrane suivi d'un motif ITSM (immunoreceptor tyrosine-based switch motif) (S. H. Lee et al., 2020).

L'expression de PD-1 peut être observée non seulement dans les cellules T, mais aussi dans les cellules B et les cellules myéloïdes, ce qui suggère que PD-1 joue un rôle étendu dans la régulation immunitaire (Vuagnat & Roussy, 2018).

Les ligands pour PD-1 sont PD-L1 (B7-H1) et PD-L2 (B7-DC). Les deux ligands possèdent deux domaines compacts reliés par un court lien. Les domaines de PD-L1 et PD-L2 présentent un pli de type Ig, similaire à celui observé dans PD-1 (Figure 2). Cependant, il existe certaines différences notables. Le domaine N-terminal de chaque ligand est responsable de la liaison à PD-1 (ce domaine ressemble au pli de type V de l'Ig). Le rôle du domaine C-terminal, caractérisé par un pli de type C2 de l'Ig (Lin et al., 2008), reste inconnu. Il a été suggéré que ce domaine pourrait servir d'espaceur, séparant le site de liaison de la membrane cellulaire.

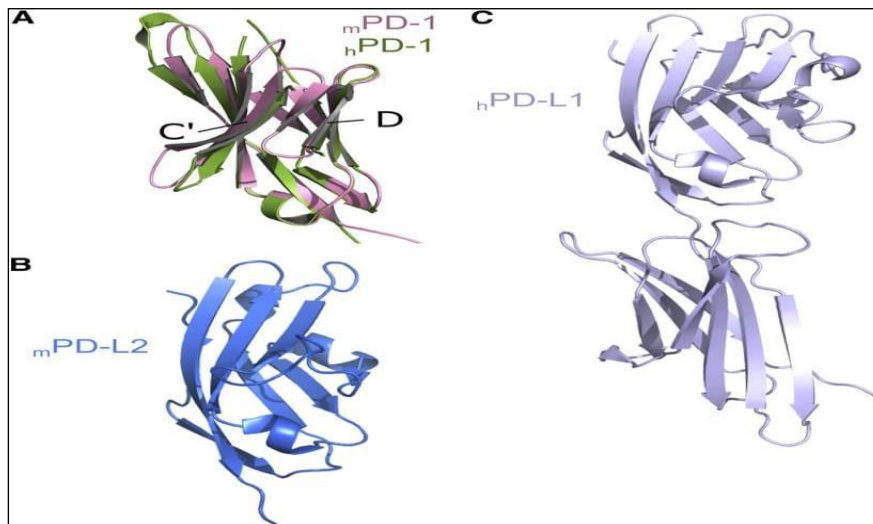


Figure 3 : Structures des protéines du système de point de contrôle PD-1/PD-L1 (Zak et al., 2017).

Les indices font référence aux protéines humaines (h) et murines (m). (A) Superposition de PD-1 humain et murin. (B) PD-L2. (C) PD-L1.

PD-L1 est exprimée constitutivement dans les lymphocytes T, lymphocytes B, les macrophages et les cellules dendritiques (DC), et est ensuite modulée à l'augmentation suite à l'activation de ces cellules. PD-L1 est également détectée sur des cellules non lymphoïdes, comme les cellules endothéliales dans le cœur, les cellules gliales dans le cerveau enflammé (Okazaki & Honjo, 2006).

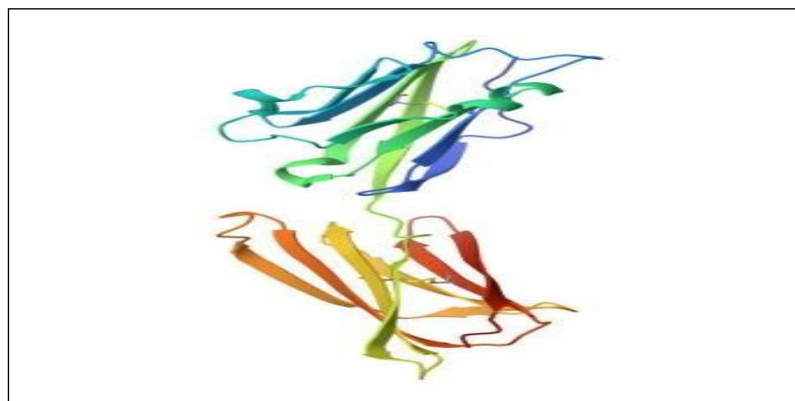


Figure 4 : Structure 3D du PD-L1 PDB.

3. Voie du PD-1 /PD-L1 dans le cancer

La voie du PD-1 est un mécanisme de rétrocontrôle négatif agissant plus tardivement dans le processus d'activation des lymphocytes, intervenant au niveau des tissus périphériques et du microenvironnement tumoral. Le récepteur PD-1 agit lors de l'activation effectrice des lymphocytes T au contact de la tumeur (S. M. Lee & Chow, 2014).

L'inhibition des interactions entre PD-1 et PD-L1 à la surface cellulaire s'avère être une stratégie efficace pour contrer l'immunosuppression provoquée par les tumeurs. Les thérapies par immunothérapie réduisent la croissance tumorale, favorisent l'infiltration des lymphocytes T dans les tumeurs et réduisent le nombre de lymphocytes T régulateurs. Par conséquent, le PD-L1 est devenu un biomarqueur significatif. Plusieurs immunothérapies à base d'anticorps monoclonaux sont actuellement en phase d'essai clinique pour divers cancers, et la réactivité au PD-L1 est utilisée pour prédire les résultats des traitements cliniques (Hirsch et al., 2019).

Bien que les anticorps dirigés contre le PD-L1 (α PD-L1) et le PD-1 (α PD-1) aient été utilisés pour le traitement du cancer et montrent des résultats prometteurs, seul un certain nombre de patients y répondent, ce qui suggère que d'autres facteurs sont en jeu (Sharpe & Pauken, 2018).

Le PD-L1 joue un rôle intrinsèque dans les tumeurs. Bien que le PD-L1 exprimé par les tumeurs entraîne une immunosuppression de la réponse tumorale adaptative, une étude récente a démontré que le PD-L1 influençait la biologie des cellules tumorales via l'autophagie et la voie mTOR, suggérant ainsi que le PD-L1 pourrait avoir des applications plus larges en dehors du domaine immunitaire en tant que biomarqueur pour évaluer les réponses thérapeutiques contre le cancer (Brogden et al., 2016).

L'élimination d'un agent pathogène. Toutefois, certaines cellules tumorales peuvent activer ces régulateurs négatifs, contournant ainsi la réponse immunitaire (Sharon et al., 2024).

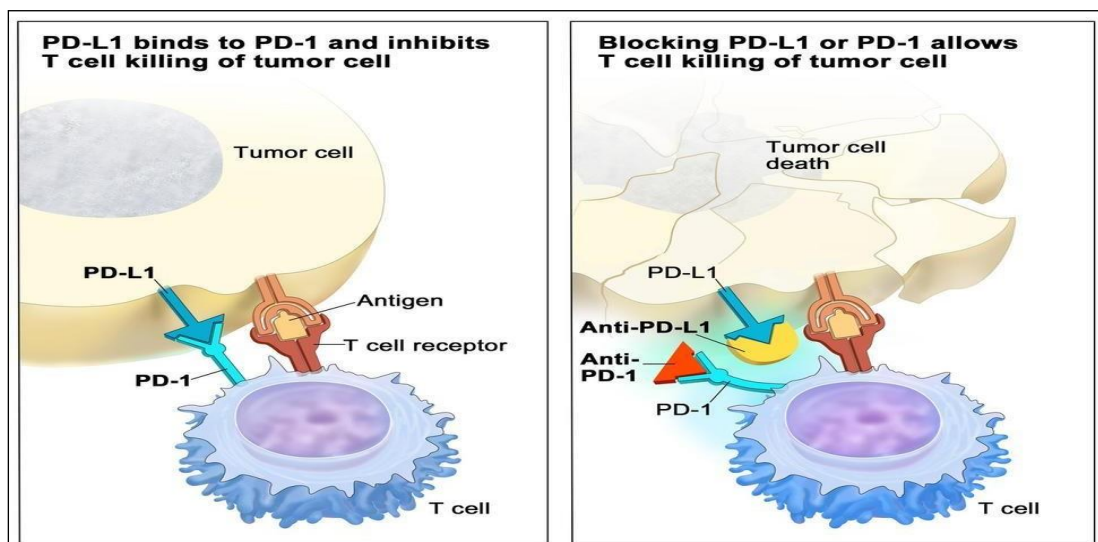


Figure 5 : Inhibiteur de point de contrôle immunitaire.³

³ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65985.9/>

4. Inhibiteurs du PD-L1

4.1. Atezolizumab

Egalement connu sous le nom de MPDL3280, est un anticorps monoclonal entièrement humanisé de type IgG1, conçu avec une modification dans le domaine Fc qui élimine la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps pour prévenir l'épuisement des lymphocytes T exprimant PD-L1. Ce composé bloque l'interaction de PD-L1, spécifiquement sur les cellules tumorales et les cellules immunitaires infiltrant la tumeur, avec à la fois PD-1 et B7.1, mais pas l'interaction de PD-L2 (Akinleye & Rasool, 2019).

En inhibant PD-L1, l'atezolizumab réduit les signaux immunosuppresseurs présents dans le microenvironnement tumoral et augmente par conséquent l'immunité médiée par les lymphocytes T contre les tumeurs (Sharon et al., 2024).

4.2. Durvalumab

Durvalumab, également connu sous le nom de MEDI4736, est un anticorps monoclonal entièrement humain de type IgG1 qui se lie avec une haute affinité et spécificité à PD-L1, bloquant l'interaction avec les molécules PD-1 et CD80.

Le composé est spécialement conçu pour prévenir la cytotoxicité cellulaire médiée par les anticorps sur les lymphocytes T exprimant PD-L1. Durvalumab est un inhibiteur puissant avec une activité subnanomolaire [PD-1 ($IC_{50} = 0,1$ nM) et CD80 ($IC_{50} = 0,04$)] contre PD-L1.

Des études *in vivo* ont révélé que le durvalumab inhibe significativement la croissance des tumeurs humaines dans un nouveau modèle xéno greffe contenant des lymphocytes T humains co-implantés (Akinleye & Rasool, 2019).

5. Produits naturels ciblant l'axe PD-1/PD-L1

La protéine PD-1 et son ligand PD-L1 représentent des cibles immunitaires prometteuses pour l'immunothérapie du cancer. Cependant, la thérapie anti-PD-1/PD-L1 actuelle fait face à plusieurs défis. Les produits naturels, notamment ceux provenant de la médecine traditionnelle, pourraient renforcer et élargir cette thérapie grâce à leurs nombreux avantages, comme leur grande diversité et leurs effets multi-cibles (Ri et al., 2021).

Les produits naturels peuvent cibler l'axe PD-1/PD-L1 par diverses stratégies, telles que le blocage direct de l'interaction entre PD-1 et PD-L1, la réduction des niveaux de PD-1/PD-L1 dans les tumeurs, et les traitements combinés. Parmi ces options, le blocage direct de l'interaction PD-1/PD-L1 à l'aide d'anticorps ou d'inhibiteurs est la plus prometteuse. En 2015,

la structure cristalline de la liaison PD-1/PD-L1 chez l'humain a été déchiffrée, révélant que les molécules se lient dans un rapport de 1:1(Wu et al., 2021).

Les résidus critiques impliqués dans l'interaction PD-1/PD-L1 sont Val64, Ile126, Leu128, Ala132, et Ile134 de PD-1 et Ile54, Tyr56, Met115, Ala121, et Tyr123 (Zak et al., 2015).

Certains produits naturels, tels que des polyphénols et leurs glycosides, ont été identifiés comme des inhibiteurs compétitifs de l'interaction entre PD-1 et PD-L1. Le cosmosiin, un composé présent dans *Salvia plebeia* R. Br., est l'un de ces produits. Il agit en bloquant une poche hydrophobe dans PD-L1, perturbant ainsi son interaction avec PD-1(Choi et al., 2020) .

Des tests ont montré que le cosmosiin inhibe efficacement cette liaison à une concentration de 2 μ M, améliorant ainsi la fonctionnalité des cellules T. Bien que le cosmosiin présente une affinité plus forte pour PD-L1 que pour PD-1, sa constante de dissociation reste relativement élevée, indiquant une faible affinité de liaison au PD-L1 (Ri et al.,2021),

Chapitre 3 : Docking moléculaire



1. Généralités

Le développement d'un nouveau médicament est un processus long et coûteux, allant de l'identification d'une cible biologique d'intérêt thérapeutique jusqu'au patient, dans lequel les essais cliniques succèdent au développement pré-clinique (Mokrani El-Hassen, 2012).

Avec le développement des outils informatiques dans les 20 dernières années, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire s'est très vite introduit dans le domaine de la recherche en biologie. Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure de complexes moléculaires à partir de molécules isolées, ce qui est assez facile à réaliser. Moins cher et plus rapide que les tests *in vitro* (Boucherit et al., 2013).

2. Principe de docking

Le docking moléculaire est une technique de simulation qui combine différentes approches pour étudier comment deux molécules interagissent. Ces molécules sont un récepteur macromoléculaire, généralement une protéine cible, et une petite molécule appelée ligand. L'objectif principal du docking moléculaire est de prédire la meilleure conformation, c'est-à-dire la position et l'orientation relative optimale du ligand à l'intérieur de son récepteur (Ozalp et al., 2018).

Une simulation de docking est une méthode utilisée en chimie et en biologie pour prédire l'interaction entre deux molécules, généralement une protéine (récepteur) et un ligand (molécule à tester). Cette simulation se déroule en deux étapes principales :

a. **Docking** : Cette étape consiste à prédire la conformation spatiale optimale du ligand lorsqu'il se lie au site actif de la protéine. Les programmes de docking calculent les positions possibles du ligand par rapport à la protéine en tenant compte des interactions physico-chimiques entre les deux molécules, telles que les liaisons hydrogène et les interactions de van der Waals.

b. **Scoring** : Une fois les positions possibles du ligand générées, la deuxième étape, évalue la qualité de ces poses. Il est basé sur différents critères, tels que l'énergie de liaison, la complémentarité de forme, et d'autres facteurs qui déterminent la force de l'interaction entre le ligand et la protéine. Les poses avec les scores les plus élevés sont considérés comme les plus probables et peuvent être étudiées plus en détail dans des expériences de laboratoire.

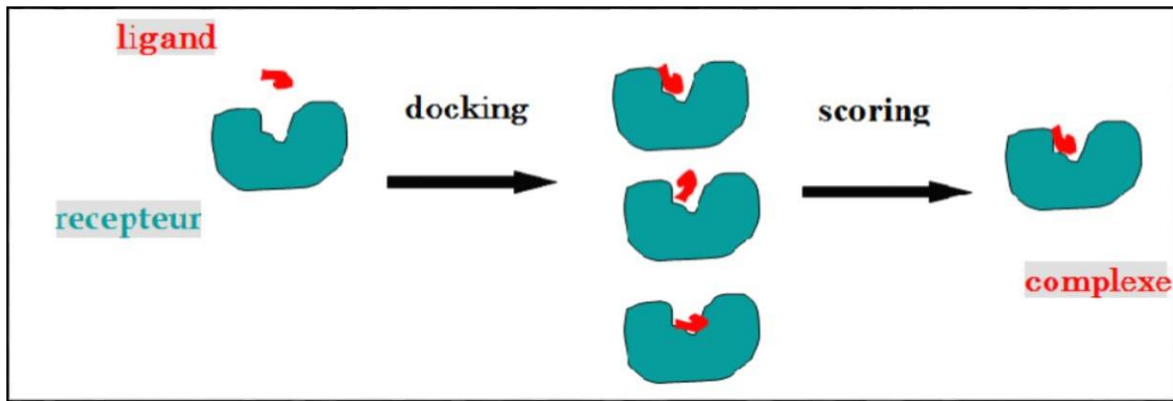


Figure 6 : Principe du Docking et Scoring.

3. Types de docking

Il existe trois types de docking moléculaire :

- Docking rigide : le corps rigide est un modèle très simpliste qui considère les deux protéines comme deux corps solides rigides.
- Docking semi-flexible : le modèle semi-flexible est asymétrique ; l'une des molécules, généralement le plus petit ligand, est considérée comme flexible, tandis que le récepteur est considéré comme rigide.
- Docking flexible : les deux molécules sont considérées comme flexibles, même si le degré de flexibilité de l'une ou l'autre (ou des deux) est nécessairement limité ou simplifié (Halperin et al., 2002).

4. Outils du docking moléculaire

Pour effectuer un docking moléculaire, il est nécessaire d'avoir un récepteur macromoléculaire de type protéique appelé "cible", une petite molécule appelée ligand, et un programme de docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand dans la cible choisie.

4.1. Récepteur

Le récepteur, une macromolécule protéique, reçoit des signaux en se liant à une molécule plus petite appelée ligand, au niveau d'un site spécifique nommé site de reconnaissance. Les structures tridimensionnelles que nous utilisons sont accessibles gratuitement dans la base de données PDB (Protein Data Bank), la plus vaste archive de données structurales pour les macromolécules biologiques telles que les protéines et les acides nucléiques (ARN et ADN).

4.2. Ligand

Un ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une grande molécule cible, comme une protéine ou un acide nucléique, et qui joue généralement un rôle fonctionnel, tel que la stabilisation structurale, la catalyse, la modulation de l'activité enzymatique ou la transmission d'un signal.

Les structures de ligands sont obtenues de deux manières : la première consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature, qui peuvent être dessinés, optimisés et enregistrés dans différents formats (pdb, mol, mol2, etc.) à l'aide de logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl. Le deuxième moyen, souvent commercial, consiste à utiliser des bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimiques, telles que PubChem, la chimiothèque nationale française, etc.

4.3. Programmes de docking

Actuellement, il existe plus de 30 programmes de docking moléculaire, qu'ils soient commerciaux ou non (Tableau 2). Les plus populaires sont : AutoDock, GOLD, Glide (Schrödinger), FlexX, DOCK et ICM (Sanchez, 2013).

Ces outils sont utilisés pour effectuer rapidement le criblage de grandes bibliothèques de composés. Ils se basent généralement sur des algorithmes spécifiques tels que (les algorithmes génétiques , Fragmentation incrémentale ...) (Halperin et al., 2002).

Tableau 2 : Principaux programmes du docking moléculaire.

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

5. Programme de docking moléculaire Surflex

Le programme Surflex comprend deux parties : la similarité tridimensionnelle des molécules et le docking. Seule la partie docking est abordée ici, elle se base sur la construction d'une pseudo-molécule cible pour aligner le ligand, en utilisant des fragments de molécules placés dans le site actif selon des critères morphologiques. La pseudo-molécule peut être construite à partir du ligand ou du récepteur sans ligand, en utilisant des fragments CH₄, C=O et N-H.

Le docking se fait selon deux méthodes : Hammerhead et molécule entière.

- Hammerhead fractionne le ligand et cherche le meilleur appariement pour chaque fragment, sans recherche systématique des angles de torsion mais avec une étape de minimisation entre chaque ajout de fragment.
- Molécule entière conserve tous les fragments pour la recherche de la configuration optimale du ligand (Chikhi, 2007).

Chapitre 4 : matériel et méthodes

RCSB
PDB
PROTEIN DATA BANK

215,140 Structures from the PDB
1,068,577 Computed Structure Models (CSM)

3D Structures

Enter search term(s), Entry ID(s), or sequence

Include CSM



Advanced Search | Browse Annotations

Help

PDB-101

PDB

EMDatabases

NAKB

wwPDB

PDB-Dev



Access Computed Structure Models (CSMs) of available model organisms

Learn more

Welcome

Deposit

Search

Visualize

Analyze

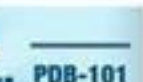
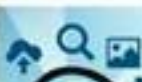
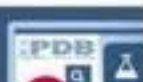
Download

RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB) enables breakthroughs in science and education by providing access and tools for exploration, visualization, and analysis of:

- Experimentally-determined 3D structures from the Protein Data Bank (PDB) archive
- Computed Structure Models (CSM) from AlphaFold DB and ModelArchive

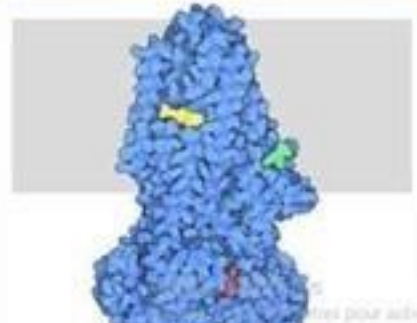
These data can be explored in context of external annotations providing a structural view of biology.

Explore



PDB-101

May Molecule of the Month



Res pour active Windows

1. Matériel

1.1. Micro-ordinateur

Dans notre étude, nous avons utilisé deux micro-ordinateurs (HP) ayant les caractéristiques suivantes :

Tableau 3 : Caractéristiques des micro-ordinateurs.

	Micro-ordinateur 1	Micro-ordinateur 2
Processeur	Intel (R) Core (TM) i5-7300U CPU @ 2.60 GHz 2.71 GHz	Intel(R) Core(TM) i5-8365U CPU @ 1.60GHz 1.90 GHz
Mémoire RAM installée	8.00 GO	8.00 GO
Type du système	Système d'exploitation 64 bits, processeur x64	Système d'exploitation 64 bits, processeur x64
Système d'exploitation	Microsoft Windows 10 professionnel	Microsoft Windows 11 professionnel

1.2. Programmes

L'utilisation de plusieurs programmes été nécessaires pour réaliser notre travail.

1.2.1. Surfex

Surflex dans sa version 1.3 est un algorithme de docking moléculaire flexible et entièrement automatique qui combine la fonction de notation du système de docking Hammerhead avec un moteur de recherche utilisant une méthode de similarité moléculaire basée sur la surface. Cela permet de générer rapidement des poses potentielles adaptées aux fragments moléculaires (Jain, 2003). En d'autres termes, Surfex positionne les ligands avec une grande précision dans un environnement d'acides aminés.

1.2.2. PDBaser

PDBaser (2.0) est un logiciel de bioinformatique conçu pour préparer et traiter rapidement et facilement les structures 3D des protéines, particulièrement utile pour le docking moléculaire. Il offre diverses fonctionnalités, telles que la représentation 2D des ligands, l'extraction des chaînes protéiques sous différents formats, et l'identification du site actif d'une protéine à partir d'un ligand de référence. Grâce à son interface conviviale et à ses outils puissants, PDBaser simplifie les étapes complexes de la modélisation et de l'analyse des interactions protéine-ligand, facilitant ainsi le travail des chercheurs (Mokranı et al., 2022).

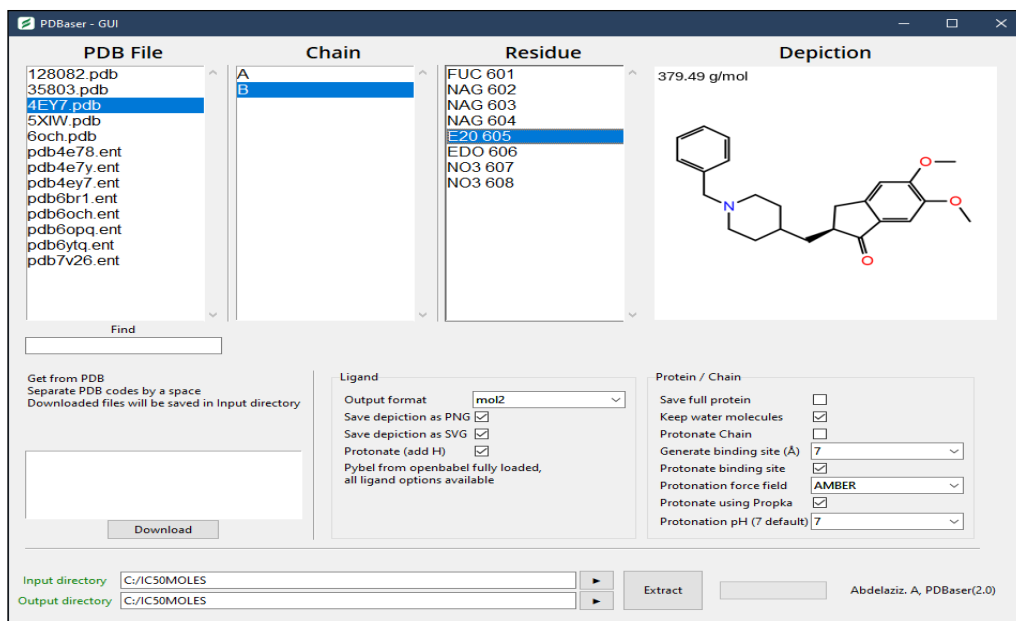


Figure 7 : Représentation de l'interface du PDBaser.

1.2.3. Open Babel (3.1.1)

Est un ensemble d'outils chimiques polyvalent conçu pour interpréter les divers formats de données chimiques. Ce projet, ouvert et collaboratif, offre la possibilité d'explorer, de convertir, d'analyser et de stocker des données provenant de domaines tels que la modélisation moléculaire, la chimie, les matériaux solides et la biochimie (Boyle et al., 2011).

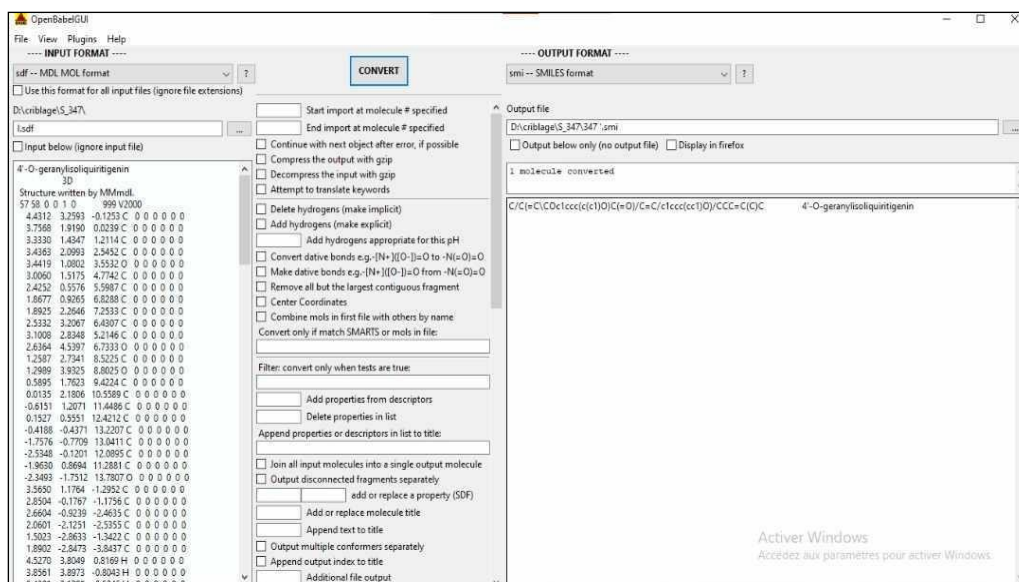


Figure 8 : Représentation de la surface générée par Open Babel.

1.2.4. Biovia Discovery Studio

Discovery Studio est une suite logicielle complète conçue pour les chercheurs en sciences de la vie. Elle permet l'analyse et la modélisation de structures moléculaires, de séquences et d'autres données pertinentes. Le logiciel comprend une visionneuse gratuite pour ouvrir des données provenant d'autres logiciels de la même suite. Son interface interactive facilite la visualisation et l'édition de structures moléculaires, de séquences, de données de diffraction des rayons X, de scripts et d'autres types de données.

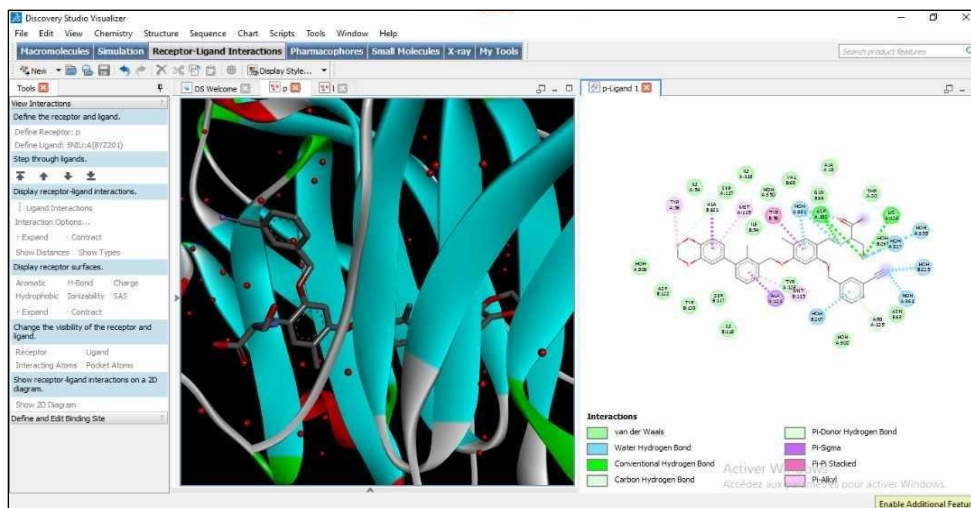


Figure 9 : Représentation de l'interface du Biovia Discovery Studio.

1.3. Banques de données et les sites internet

1.3.1. PDB (Protein Data Bank)

La banque de données protéiques (<https://www.rcsb.org/>) est la principale source de données de biologie structurale. Elle stock les structures protéiques 3D obtenues par les deux méthodes spectroscopie RMN ou la cristallographie à rayons X.



Figure 10 : Représentation de la surface du PDB

1.3.2. ANPDB (African Natural Products Database)

Cette introduction présente l'ANPDB, une base de données sur les produits naturels africains résultant de la fusion de plusieurs bases de données régionales. À ce jour, elle intègre les données de l'Afrique du Nord et de l'Est, tandis que d'autres régions sont en cours d'ajout. L'ANPDB est considérée comme la plus grande collection de données sur les produits naturels d'organismes indigènes africains. Les informations, couvrant la période de 1962 à 2019, sont compilées à partir de publications dans des revues spécialisées, de thèses universitaires et de recherches locales. Elle contient actuellement des données sur 6 515 composés isolés, principalement à partir de 1 042 organismes sources, incluant des plantes, des micro-organismes, des animaux tels que les coraux, et des sources marines. Dans notre étude, nous avons utilisé spécifiquement la base de données sur les produits naturels de l'Afrique de l'Est 'EANPDB'. L'accès à cette base de données est gratuit via (<https://african-compounds.org/anpdb/>) (Simoben et al. 2020).

1.3.3. SuisseADME

Ce site web offre des fonctionnalités pour calculer les caractéristiques physico-chimiques des molécules, ainsi que pour prédire leurs paramètres ADME, leurs propriétés pharmacocinétiques, leur nature médicamenteuse et leur convivialité chimique médicinale. Les outils disponibles sur (<http://www.swissadme.ch/>) sont conçus pour soutenir la découverte de médicaments en fournissant des informations précieuses sur les petites molécules.

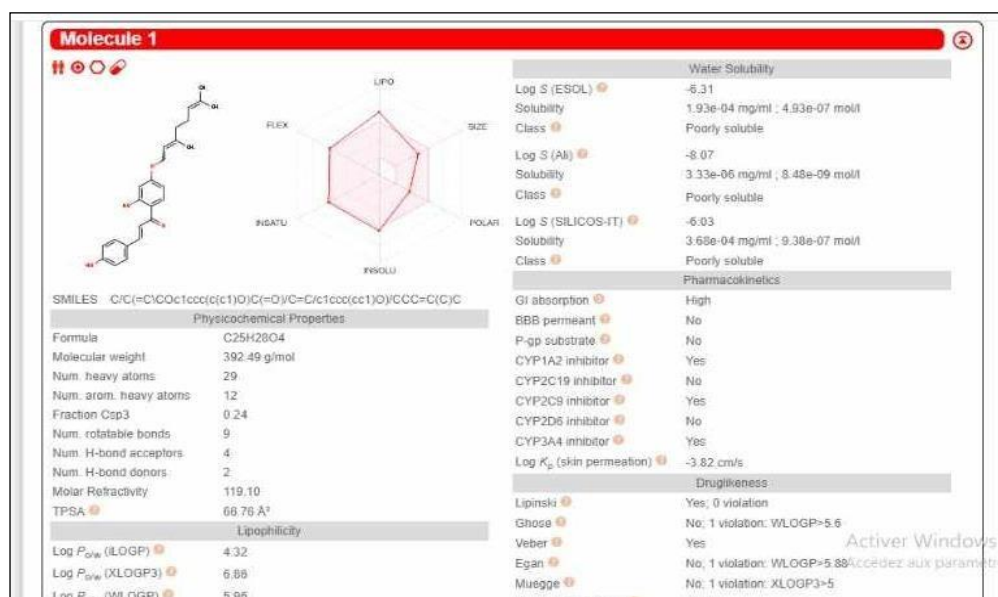


Figure 11 : Représentation de la surface du suisseADME

2. Méthodes

2.1. Tests de fiabilité du programme de docking

Avant de commencer l'étude de docking moléculaire, il est indispensable de vérifier la fiabilité du programme Surflex à l'aide du test RMSD.

2.1.1. Test RMSD

Le test RMSD (Root Mean Square Deviation) mesure 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 se calcule en superposant les positions atomiques des deux structures. Une valeur de RMSD plus faible indique une meilleure correspondance entre les deux structures, signifiant ainsi une plus grande précision de la méthode de docking moléculaire.

Les experts estiment que les protocoles de docking les plus performants produisent des valeurs de RMSD inférieures à 2 Å. Si la valeur de RMSD dépasse ce seuil, la précision du positionnement est jugée insatisfaisante, entraînant l'invalidation du protocole.

Dans notre étude, nous avons évalué la fiabilité du programme Surflex en utilisant le test RMSD sur 100 complexes protéine-ligand choisis arbitrairement dans la base de données PDB (**Ref**)

2.1.2. Analyse visuelle

Suite au test RMSD, l'analyse visuelle est réalisée en complément afin de confirmer la fiabilité des simulations. Cette étape nous permet de comparer visuellement la superposition de chaque modèle de ligand simulé par rapport à sa pose de référence.

2.2. Préparation des molécules au docking moléculaire

2.2.1. Préparation de la cible

La protéine d'intérêt de notre étude est le ligand de la protéine de la mort cellulaire programmée (**PD-L1**) sa structure 3D est disponible dans la banque de données PDB. Il existe plusieurs structures 3D de la PD-L1 dont environ la moitié sous forme de complexes **PD-L1**-inhibiteurs. Ces derniers se différencient par :

- La source du PD-L1 : *E. coli*, *S. aureus*, *Homo sapiens*...etc.
- Le nombre des mutations dans la protéine.
- Le degré de résolution de complexe.

Nous avons choisi d'étudier le complexe ayant le code 5NIU parmi les complexes disponibles dans la PDB en raison de sa bonne résolution 2,01 Å (Figure 13). Les caractéristiques de ce complexe sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 4 : Caractéristiques du complexe 5NIU.

Code PDB	Résolution (Å)	Nombre de chaînes	Nombre des AA /chaîne	Organisme
5NIU	2,01	4 (A, B, C, D)	128	Homo sapiens

Le complexe a été téléchargé au format pdb et ensuite dissocié à l'aide du logiciel PDBaser. Chaque structure fragmentée a été sauvegardée dans des fichiers distincts au format pdb.

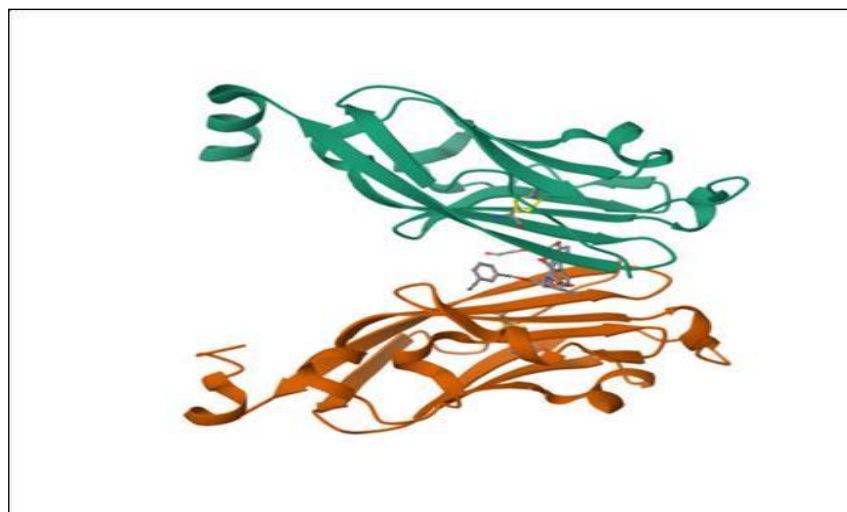


Figure 12 : Structure 3D du complexe 5NIU.

2.2.2. Préparation du ligand de référence

Avant d'utiliser le programme Surfex, il est important de préparer un fichier pdb comportant la structure 3D de l'inhibiteur de référence 8YZ (Figure 14) du complexe 5NIU utilisé. Ce ligand nous servira pour la génération du protomol par Surfex.

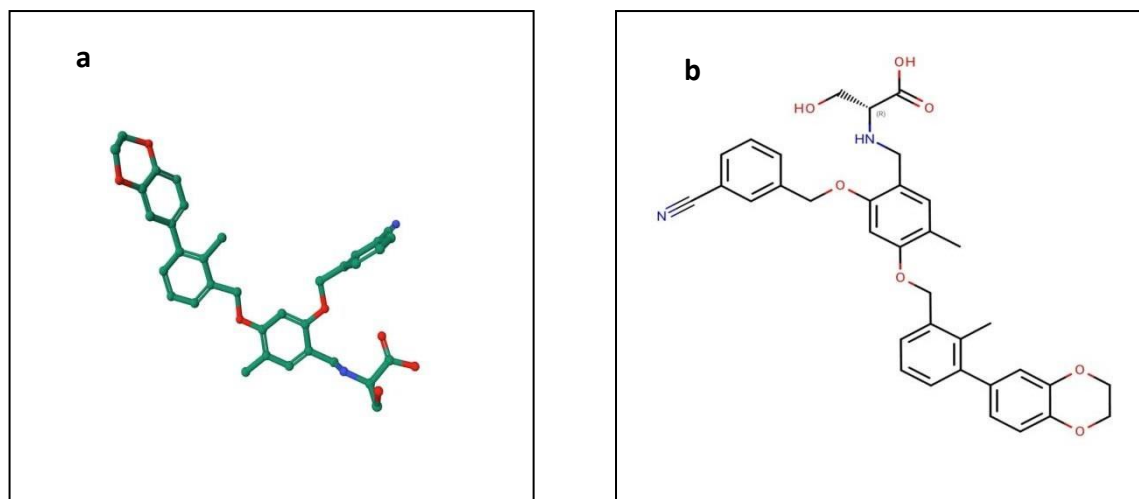


Figure 13 : Représentation du ligand 8YZ (a) 3D et (b) 2D.

2.3. Protocole du docking avec Surfex

La procédure de docking moléculaire par Surfex s'effectue en deux étapes complémentaires :

- **Génération du protomol**

Pour créer une pseudo-molécule appelée "protomol", nous avons exécuté la commande suivante :

surfex-dock proto ligand.pdb protein.pdb pl

- **Docking moléculaire**

Cette phase nécessite la présence d'un ligand, d'un protomol et d'une protéine au format mol2. Pour le docking d'une seule molécule, nous avons utilisé la commande :

surfex-dock dock ligand.pdb pl-protomol.mol2 protein.pdb

Les calculs de RMSD ont été effectués à l'aide de la commande suivante dans le logiciel Surfex :

Surflex-dock rms ligand.pdb final-0.mol2

Si le RMSD obtenu dépasse 2, la commande suivante peut être utilisée :

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

2.4. Propriétés ADME

Dans le domaine de la recherche pharmaceutique, les caractéristiques liées à l'absorption, la distribution, au métabolisme et à l'élimination jouent un rôle crucial dans la réussite des étapes cliniques lors de la création de nouveaux médicaments.

2.4.1. Propriétés physico-chimiques

- **Règle de Lipinski**

La règle de Lipinski ou la « règle de cinq » permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure 2D. Cette règle est la plus utilisée pour l'identification des composés « drug-like ». Selon cette règle un composé possède toutes les chances d'être absorbé par voie orale si elle respecte au moins 3 de ces 5 critères :

- Poids moléculaire inférieur à 500 daltons
- Le coefficient de partage octanol-eau (logP) doit être entre -2 et 5.
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être inférieur ou égale à 10
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur ou égale à 5
- Nombre de liaisons flexibles inférieur ou égale à 15.

- **Règle de Veber**

La règle de Veber énoncée par J. Veber en 2002, vient compléter la règle de Lipinski en permettant de vérifier la biodisponibilité par voie orale d'un composé. Selon cette règle, un composé possède une bonne biodisponibilité par voie orale s'il remplit les 4 critères suivants :

- L'aire de surface polaire (PSA : Polar Surface Area) doit être inférieure ou égale à 140Å²,
 - Le nombre de liaisons flexibles doit être inférieur ou égal à 10,
 - Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogènes doit être inférieur ou égal à 10.
 - Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur ou égal à 5
- (Veber et al., 2002).

- **Solubilité dans l'eau et accessibilité à la synthèse chimique**

En plus de ces critères, l'évaluation de la solubilité dans l'eau et la faisabilité de la synthèse chimique ont également été prises en compte lors du choix des molécules candidates potentielles.

2.4.2. Propriétés pharmacocinétiques

Les propriétés pharmacocinétiques sont des mesures quantifiables qui évaluent les différentes étapes de la vie d'un médicament dans l'organisme, notamment son absorption, sa distribution, son métabolisme et son élimination (ADME). Ces paramètres sont déterminés lors des études cliniques de phase I, où les médicaments sont administrés à des groupes de sujets homogènes. De plus, ils doivent être caractérisés chez des sujets présentant diverses conditions physiopathologiques, telles que des patients âgés ou atteints d'insuffisance rénale, pour évaluer l'impact de ces facteurs individuels sur les valeurs des paramètres pharmacocinétiques et sur les concentrations du médicament dans l'organisme.

- **L'absorption intestinale humaine (HIA)**

Désigne le mécanisme par lequel les médicaments ingérés par voie orale sont absorbés à travers le système gastro-intestinal pour rejoindre la circulation sanguine du corps humain.

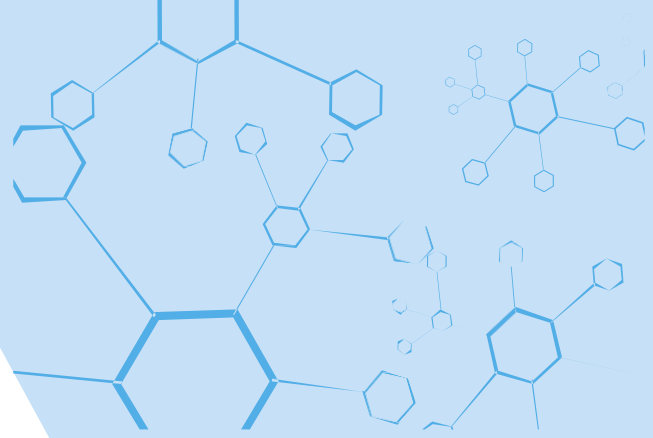
- **La perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BBB)**

Représente la capacité d'une substance à traverser cette barrière. Cette caractéristique revêt une importance capitale pour les médicaments psychotropes, qui nécessitent d'atteindre le système nerveux central pour exercer leur action.

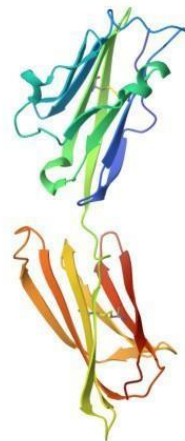
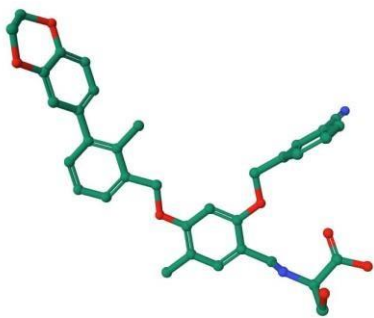
- **Inhibition de CYP 450**

Un médicament est considéré comme un inhibiteur de CYP 450 lorsque celui-ci entrave le métabolisme nécessaire pour éliminer un autre médicament ou substance.

Cette combinaison de médicaments entraîne une réduction du métabolisme du médicament inhibé, une augmentation de sa concentration plasmatique, une prolongation de ses effets thérapeutiques et peut entraîner des effets indésirables si la dose de ce médicament dont le métabolisme est inhibé n'est pas réduite



Chapitre 5 : résultats et discussion



La découverte d'inhibiteurs de PD-L1 est devenue cruciale dans le développement de thérapies anticancéreuses immunitaires. Dans cette étude, nous avons exploré une collection de molécules naturelles dans le but de découvrir de nouveaux inhibiteurs de PD-L1, visant à perturber son interaction avec son récepteur PD-1 et à restaurer l'activité antitumorale des lymphocytes T.

1. Tests de fiabilité du programme Surflex

Avant de commencer notre étude, nous avons évalué la fiabilité du programme de docking moléculaire Surflex, Pour cela, nous avons utilisé le test RMSD qui vérifie la reproductibilité théorique par rapport aux résultats expérimentaux suivi par l'analyse visuelle.

1.1. Test RMSD

Nous avons évalué l'efficacité du logiciel Surflex en utilisant le test RMSD sur 100 complexes protéines-ligands sélectionnés aléatoirement à partir de la PDB, afin de garantir que ce logiciel peut être utilisé avec un risque d'erreur minimal dans notre étude sur la PD-L1.

Les codes PDB des complexes et de leurs inhibiteurs, ainsi que les valeurs de RMSD obtenues par Surflex, sont présentés dans l'annexe 1. Les résultats sont illustrés dans la figure 15.

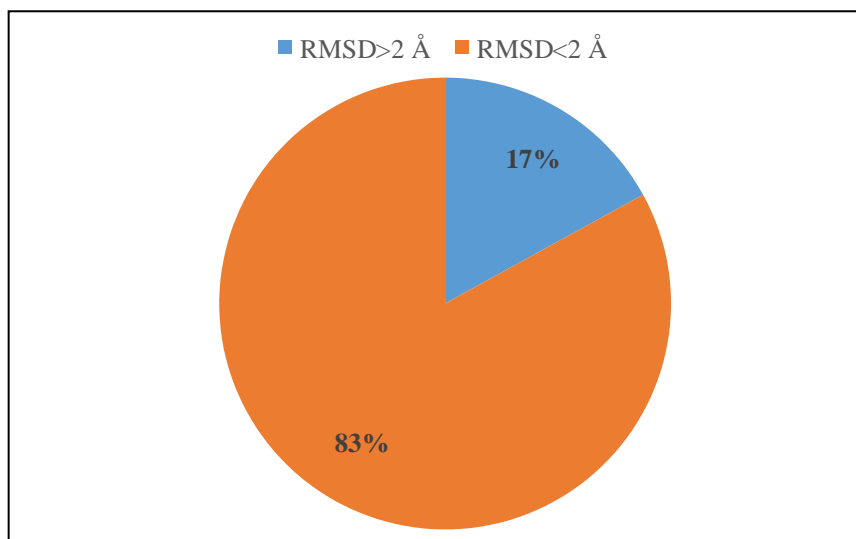


Figure 14 : Résultats du test RMSD donnés en pourcentage.

D'après les données obtenues, 83 % des complexes présentent des valeurs de RMSD inférieures à 2 Å, tandis que seulement 17 % dépassent ce seuil. Ces résultats sont en cohérence avec les travaux antérieurs de Chikhi et Bensegueni (2008), qui ont observé que 63 % des RMSD étaient inférieurs à 2 Å. Cette congruence suggère que Surflex est efficace en tant que programme de docking moléculaire.

1.2. Analyse visuelle

L'analyse visuelle par Biovia Discovery Studio faite à la suite du test RMSD, est une étape essentielle pour confirmer la fiabilité du programme Surflex. Elle permet de visualiser les résultats décrits par la valeur numérique RMSD. Elle consiste à comparer le positionnement d'un ligand généré par le programme du docking vis-à-vis de celui de référence obtenue à partir de l'expérimentation.

Dans cette étude, les complexes 7RSA et 5A6H ont été sélectionnés arbitrairement pour l'analyse visuelle. Les résultats des tests RMSD pour ces deux complexes sont respectivement de 1.469 Å et 2.045 Å (voir annexe 1). Ces valeurs indiquent une faible déviation entre les structures simulées et les structures de référence, suggérant une bonne précision du modèle.

Les résultats de l'analyse visuelle sont présentés dans les figures 16 et 17. On y observe l'absence de superposition notable et un grand décalage entre le ligand expérimental, coloré en rouge, et le ligand théorique pour le complexe 5A6H. Ce décalage se reflète dans la valeur élevée du RMSD de ce complexe, qui est de 2.045 Å. Cette valeur indique une mauvaise correspondance entre la structure simulée et la structure de référence, suggérant des imprécisions significatives dans la modélisation du ligand pour ce complexe.

En revanche, pour le complexe 7RSA, il existe une superposition idéale entre le ligand bleu (expérimental) et le ligand rouge (prédit par le logiciel). Cette superposition parfaite est cohérente avec la valeur RMSD faible de 1.469 Å, indiquant une haute précision de la simulation du ligand par le logiciel.

En conclusion, l'analyse visuelle combinée avec les valeurs RMSD permet de valider l'efficacité du programme de modélisation. Les bons résultats obtenus pour la majorité des complexes renforcent la fiabilité du logiciel pour des études *in silico*, bien que des ajustements puissent être nécessaires pour améliorer la précision dans certains cas spécifiques comme le complexe 7LIM.

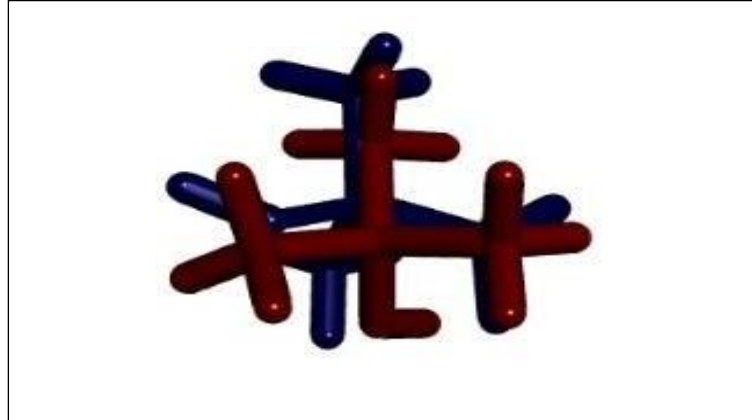


Figure 15 : Superposition du ligand (en bleu) du complexe 7RSA et la pose simulée par Surflex (en rouge).

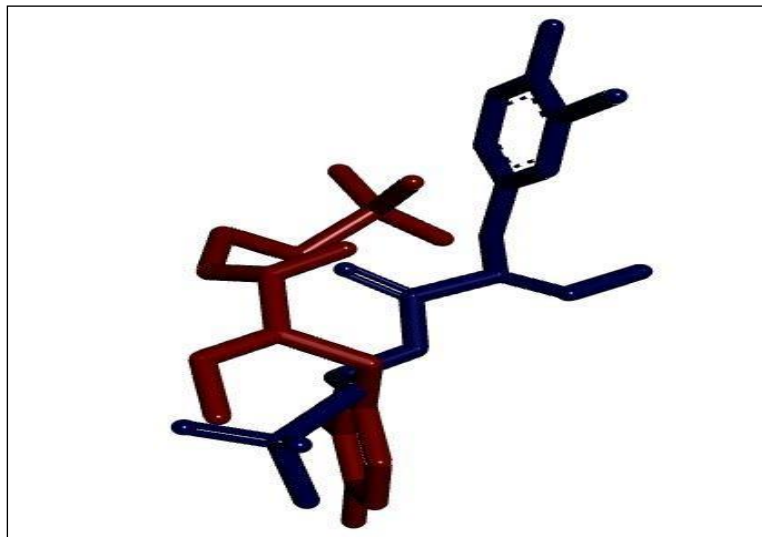


Figure 16 : Superposition du ligand (coloré en bleu) et la pose simulée par Surflex (coloré en rouge) du complexe 5A6H.

2. Etude des interactions impliquées dans l'interaction de PDL1 avec son modérateur

Dans cette étude, nous nous sommes penchés sur les interactions régissant la liaison entre le ligand PD-L1 et son modulateur. Notre objectif était de comprendre en profondeur le mode d'interaction du ligand de référence 8YZ avec la protéine PD-L1. Pour ce faire, nous avons réalisé une étude approfondie en utilisant le programme Biovia Discovery Studio. Le ligand 8YZ, choisi comme ligand de référence, a démontré une affinité notable de $1,73 \text{ M}^{-1}$ pour PD-L1.

Grâce à Biovia Discovery Studio, nous avons pu visualiser et analyser le nombre ainsi que le type de liaisons impliquées dans l'interaction entre le ligand 8YZ et PD-L1. La

représentation 2D, fournies par la figure 17, ont permis d'appréhender ces interactions de manière détaillée.

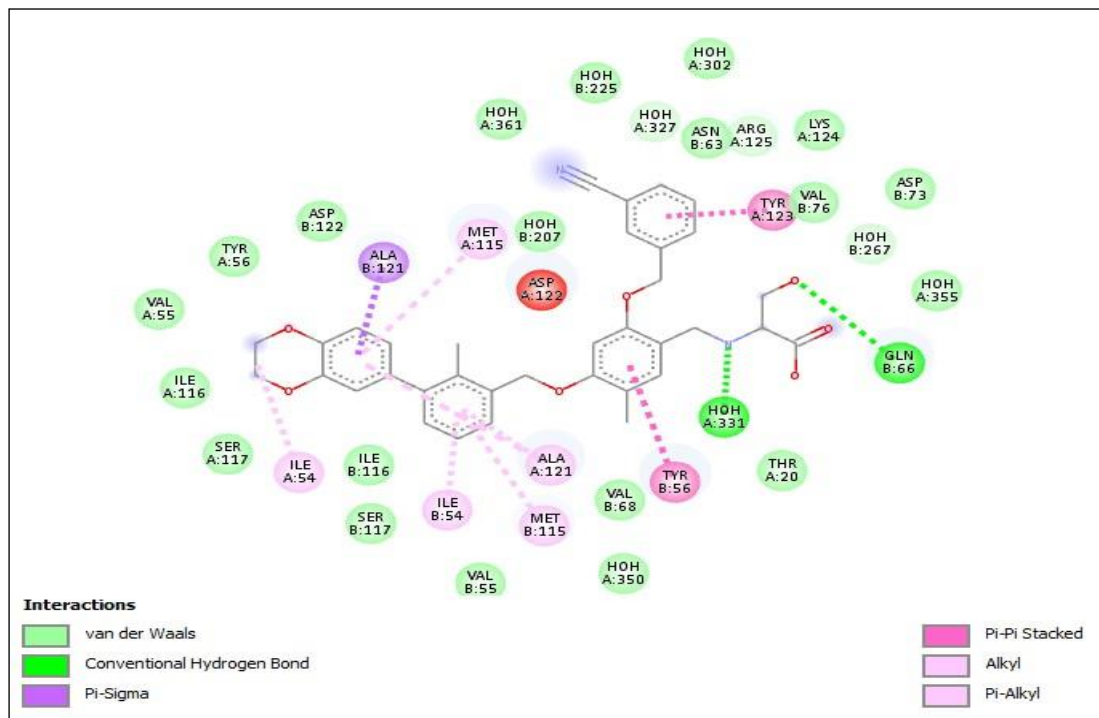


Figure 17 : Représentation en 2D du mode d'interaction de l'inhibiteur 8YZ avec le site de liaison de PD-L1.

La figure 17 révèle que le ligand de référence 8YZ établit neuf liaisons, variant en cinq types distincts, avec les résidus de PD-L1. Plus spécifiquement, il forme une liaison hydrogène avec la Gln66, une liaison Pi-Sigma avec l'Ala121, et deux liaisons Pi-Pi empilées avec la Tyr56 et la Tyr123. En outre, il établit une liaison alkyle avec l'Ile54 et quatre liaisons Pi-alkyle avec Ala121, la Met115, et l'Ile54. Ces interactions démontrent la manière dont le ligand 8YZ s'insère et se stabilise au sein de PD-L1, contribuant ainsi à son efficacité inhibitrice.

Cette analyse approfondie des interactions moléculaires revêt une importance cruciale pour le développement de stratégies d'inhibition ciblées contre PD-L1. En comprenant précisément les mécanismes d'interaction, nous sommes mieux armés pour concevoir des inhibiteurs efficaces capables de bloquer la liaison entre PD-L1 et son ligand, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles approches thérapeutiques dans le domaine de l'immunothérapie.

3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la PD-L1

Dans notre quête pour découvrir de nouveaux inhibiteurs de la PD-L1, plus puissants et sélectifs que le ligand de référence, nous avons exploré la banque de données 'Eastern African Natural Products Database'. Cette ressource nous a présenté une collection de 1820 molécules

naturelles potentiellement prometteuses. Nous avons ensuite utilisé le docking moléculaire avec Surflex pour modéliser leurs interactions avec PD-L1, permettant ainsi d'évaluer leurs affinités respectives (voir annexe 2).

Parmi ces composés naturels, nous avons identifié 909 molécules présentant une affinité supérieure à celle du composé de référence, évaluée à $1,73 \text{ M}^{-1}$. Le tableau ci-dessous répertorie les trois meilleurs candidats, classés selon leurs affinités respectives.

Tableau 5 : Classement, et affinité des trois meilleurs inhibiteurs du PD-L1.

N°	Composés	Affinités (M^{-1})
1	S_347 : 4'-O-geranylisoliquiritigenin	6,12
2	S_136 : 2-(p-hydroxy-3-(3-methylbut-2-en-1-yl)benzyl)benzofuran-6-ol	5,42
3	S_175 : 2,5-dihydroxy-3-methyl-6-undecyl-1,4-benzoquinone	5,35

4. Etude des interactions des meilleurs inhibiteurs

4.1. Etude des interactions du complexe PDL1- S_347

La figure 18 ci-dessous illustre les interactions du composé S_347. Le composé S_347 s'est révélé être un meilleur inhibiteur de PD-L1 avec un score d'affinité de $6,12 \text{ M}^{-1}$. L'analyse visuelle indique que ce score élevé s'explique par la liaison sélective du composé à PD-L1, grâce à la formation de liaisons spécifiques et variées.

La figure montre que le composé S_347 forme 13 liaisons de 5 types différents avec les résidus de PD-L1. Plus précisément, il établit une liaison hydrogène avec Ala121, une liaison Pi-Pi empilée avec Tyr56, et une liaison Pi-Pi en forme de T avec Tyr123. En outre, il forme six liaisons alkyle avec Ala121 et Met115, ainsi que quatre liaisons Pi-alkyle avec Ala121, Tyr56 et Tyr123.

Ces interactions démontrent la manière dont le composé S_347 s'insère et se stabilise au sein de PD-L1, contribuant ainsi à son efficacité inhibitrice. Cette compréhension approfondie des interactions moléculaires est cruciale pour le développement de nouveaux inhibiteurs ciblés contre PD-L1.

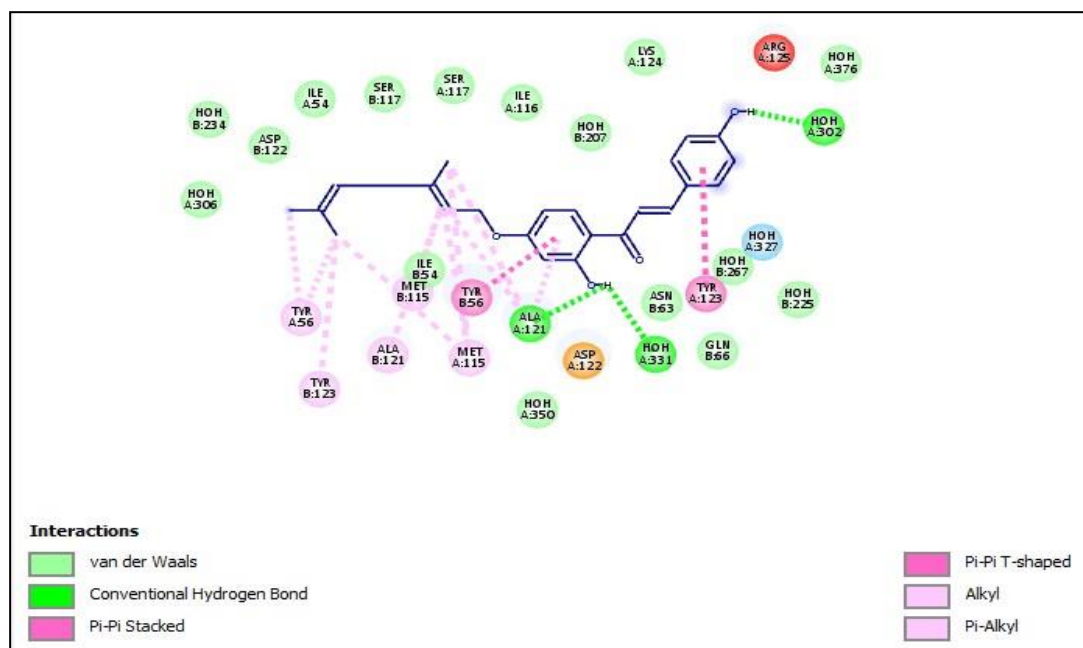


Figure 18 : Représentation en 2D du mode d'interaction du composé S_347 avec le site de liaison de PD-L1.

4.2. Etude des interactions du complexe PDL1- S_136

La figure 19 présente une représentation en 2D du mode d'interaction du composé S_136 avec PD-L1. L'analyse de ces interactions révèle que le composé S_136 forme 11 liaisons de 3 types différents avec les résidus de PD-L1. Plus précisément, il établit deux liaisons hydrogène avec Ile54 et Asp122, une liaison Pi-Sigma avec Ala121, et huit liaisons Pi-Alkyle avec Ala121, Met115, Tyr56 et Tyr123. Ces interactions illustrent la manière dont le composé S_136 s'insère et se stabilise au sein de PD-L1, mettant en évidence son potentiel en tant qu'inhibiteur efficace.

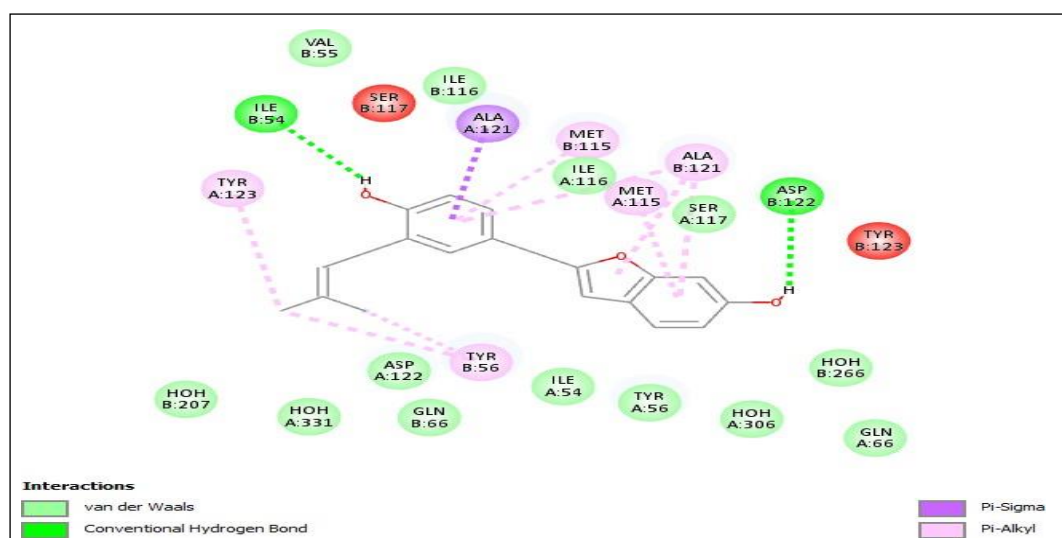


Figure 19 : Représentation en 2D du mode d'interaction du composé S_136 avec le site de liaison de PD-L1.

4.3. Étude des Interactions du Composé S_175

Les interactions du composé S_175 sont illustrées dans la figure 20 ci-dessous. La figure 20 présente une représentation en 2D du mode d'interaction du composé S_175 avec PD-L1.

L'analyse de ces interactions révèle que le composé S_175 forme 15 liaisons de nature différente avec les résidus de PD-L1. Plus précisément, il établit deux liaisons hydrogène avec Asp122 et Gln66, une liaison Pi-Pi empilée avec Tyr56, neuf liaisons alkyle avec Ala121, Ile54 et Met115, et trois liaisons Pi-alkyle avec Tyr56 et Tyr123. Ces interactions démontrent comment le composé S_175 s'insère et se stabilise au sein de PD-L1, soulignant son potentiel en tant qu'inhibiteur efficace.

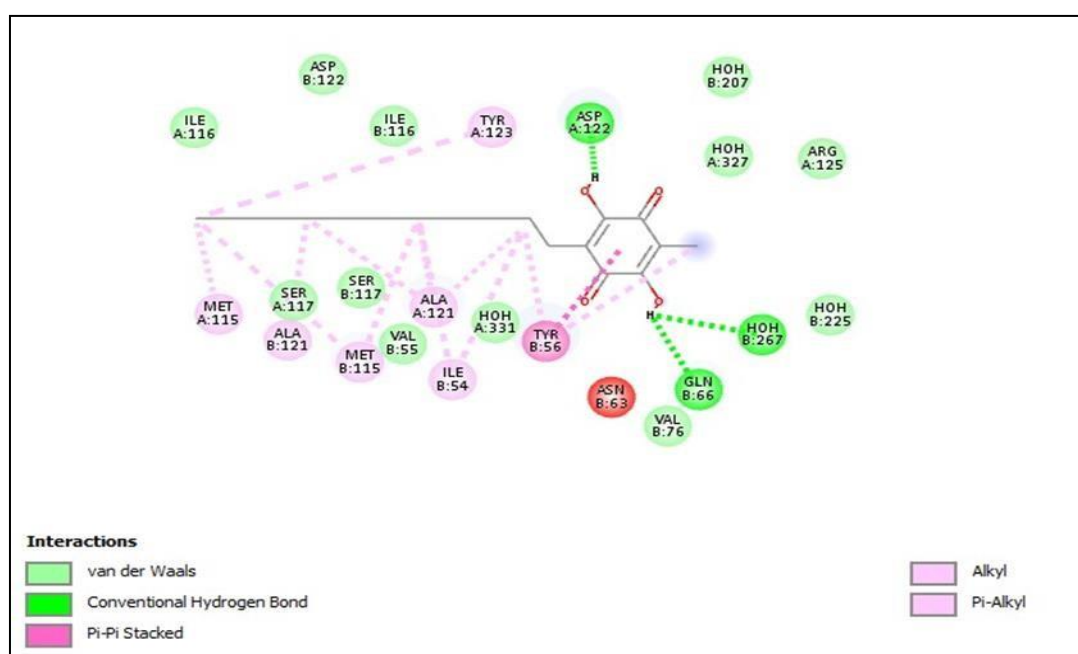


Figure 20 : Représentation en 2D du mode d'interaction du composé S_175 avec le site de liaison de PD-L1.

4.4. Comparaison de l'effet inhibiteur des meilleurs inhibiteurs de PD-L1

Pour évaluer l'effet inhibiteur des molécules naturelles proposées S_347, S_136, et S_175 en comparaison avec le composé standard (8YZ), nous avons résumé les résultats des interactions dans le tableau 6.

Les scores d'affinité des molécules S_347, S_136 et S_175 sont nettement supérieurs à celui du composé standard 8YZ. Ceci indique une meilleure affinité de liaison des molécules naturelles avec le site actif du PD-L1.

Les molécules S_136 et S_175 forment deux liaisons hydrogène avec le récepteur PD-L1, tandis que S_347 et le composé standard 8YZ n'en forment qu'une. Ces liaisons hydrogène supplémentaires peuvent renforcer la stabilité de l'interaction.

S_347 et S_175 ont respectivement 12 et 13 interactions hydrophobes, contre 8 pour 8YZ, tandis que S_136 en a 9. Ces interactions hydrophobes supplémentaires améliorent également la stabilité de la liaison.

Tableau 6 : Tableau récapitulatif score et de nombre des interactions du 8YZ, S_347, S_136, S_175.

Composés	8YZ (Standard)	S_347	S_136	S_175
Score d'affinité M⁻¹	1,73	6,12	5,42	5,35
Nombre de liaisons hydrogène	1	1	2	2
Nombre de liaisons Carbone-Hydrogène	0	0	0	0
Nombre d'interactions Hydrophobes (Alkyl)	8	12	9	13
Interactions avec le site de liaison au récepteur	Tyr56, Met115, Ala121	Ile54, Met115, Tyr123, Tyr56, Ala121	Asp122, Ile54, Met115, Tyr123, Tyr56, Ala121	Tyr123, Ala121 Met115, Ile54, Asp122
Nombre d'interactions totales	9	13	11	15

Enfin, S_347, S_136 et S_175 présentent un nombre total d'interactions plus élevé (13, 11 et 15 respectivement) par rapport au composé standard 8YZ (9). Un nombre total d'interactions plus élevé indique une meilleure efficacité potentielle de l'inhibiteur.

Les molécules naturelles S_347, S_136, et S_175 montrent des performances supérieures par rapport au composé standard 8YZ en termes de score d'affinité, de nombre de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes. En particulier, S_175 se distingue avec le plus grand nombre total d'interactions (15), suggérant qu'il pourrait être le meilleur inhibiteur potentiel de PD-L1 parmi les composés étudiés. Ces résultats indiquent que ces nouveaux inhibiteurs pourraient offrir une meilleure efficacité pour le blocage du PD-L1, ce qui est crucial pour les thérapies anticancéreuses basées sur l'inhibition de ce ligand.

5. Evaluation des propriétés ADME

5.1. Propriétés physico-chimiques

Chaque pro-médicament doit respecter certaines conditions pour être considéré comme "drug-like". Notamment l'absorption et la distribution du futur médicament dans le corps humain. La règle de Lipinski présente un excellent critère pour accepter ou rejeter les molécules en tant qu'inhibiteurs ayant un potentiel pharmacologique.

Dans notre étude, plusieurs propriétés physico-chimiques sont simulées, telles que le nombre de liaisons flexibles, le poids moléculaire, le TPSA, le coefficient de partage log P, etc. Les résultats sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Propriétés physico-chimiques du ligand 8YZ et des 3 similaires S_347, S_136 et S_175

Propriétés	8YZ	S_347	S_136	S_175
Formule	C ₃₅ H ₃₄ N ₂ O ₇	C ₂₅ H ₂₈ O ₄	C ₂₀ H ₂₀ O ₃	C ₁₈ H ₂₈ O ₄
Poids moléculaire (g/mol)	594.65	392.49	308.37	308.41
Nombre de liaisons flexibles (nLF)	12	9	4	10
Nombre d'accepteurs d'hydrogène (nON)	9	4	3	4
Nombre de donneurs d'hydrogène (nOHNH)	3	2	2	2
Log P	3.67	5.36	4.40	4.07
TPSA Å²	130.27 Å	66.76 Å	53.60 Å	74.60 Å
Règle de Lipinski	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Règle de Veber	Non Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Solubilité dans l'eau	Moyenne	Faible	Moyenne	Moyenne
Accessibilité à la synthèse	4.92	3.63	3.36	3.77

Le tableau montre que les composés S_347, S_136 et S_175 sont conformes à la règle de Lipinski et Veber, tandis que le standard ne respecte pas la règle de Veber, ce qui indique qu'ils peuvent être administrés par voie orale sans poser de problèmes. Contrairement au composé S_347 qui présente une faible solubilité, le standard ainsi que les composés S_136 et

S₁₇₅ sont moyennement solubles dans l'eau. Cette caractéristique suggère qu'ils pourraient se dissoudre dans des milieux aqueux tels que le sang pour atteindre leur site d'action. Enfin, avec des valeurs respectives de 4.92, 3.63, 3.36 et 3.77, le standard ainsi que les composés S₃₄₇, S₁₃₆ et S₁₇₅ se sont révélés être facilement synthétisables chimiquement. Ce critère revêt une importance capitale avant de proposer un composé comme nouvel inhibiteur pour une cible donnée, car les étapes ultérieures d'optimisation impliquent des modifications structurales.

5.2. Propriétés pharmacocinétiques

Les résultats des propriétés pharmacocinétiques telles que l'absorption, la perméabilité hématoencéphalique et l'inhibition des cytochromes P450 sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Propriétés pharmacocinétiques de 8YZ et de S₃₄₇, S₁₃₆ et S₁₇₅.

Propriétés	8YZ	S ₃₄₇	S ₁₃₆	S ₁₇₅
GI absorption	Faible	Élevée	Élevée	Élevée
BBB perméabilité	Non	Non	Oui	Non
CYP1A2 inhibition	Négative	Positive	Positive	Négative
CYP2C19 inhibition	Positive	Négative	Positive	Positive
CYP2C9 inhibition	Positive	Positive	Négative	Positive
CYP2D6 inhibition	Négative	Négative	Positive	Positive
CYP3A4 inhibition	Négative	Positive	Négative	Négative

D'après les données du tableau 8, il est évident que les composés S₃₄₇, S₁₃₆ et S₁₇₅ présentent une perméabilité gastro-intestinale élevée. Ainsi, ils sont susceptibles de franchir aisément la paroi intestinale pour pénétrer dans la circulation sanguine. Les composés S₃₄₇ et S₁₇₅, tout comme le composé 8YZ, ne traversent pas la barrière hématoencéphalique, ce qui signifie qu'ils ne représentent aucun risque pour le système nerveux central.

En ce qui concerne l'inhibition du cytochrome P450, le composé S₁₇₅ présente une inhibition des CYP2C19 et des CYP2C9, tout comme le ligand 8YZ. En revanche, les composés similaires S₃₄₇ et S₁₃₆ n'inhibent respectivement qu'un seul CYP, par rapport aux deux CYP inhibés par le ligand 8YZ.

Pour résoudre le problème d'inhibition des cytochromes P450, une approche courante consiste à optimiser les structures chimiques des composés afin de réduire ou d'éliminer cette

inhibition tout en conservant leur activité pharmacologique souhaitée. Voici quelques exemples de stratégies d'optimisation des structures chimiques :

- a. **Modification structurale** : En ajustant les groupes fonctionnels ou les substituants des molécules, on peut réduire leur interaction avec les cytochromes tout en maintenant leur activité pharmacologique.
- b. **Conception de prodrogues** : Les prodrogues, qui sont inactifs au départ et se transforment en médicaments actifs après métabolisme, peuvent contourner l'inhibition des cytochromes en subissant des métabolismes spécifiques.
- c. **Optimisation de la stéréochimie** : En jouant sur la configuration stéréochimique des composés, on peut parfois diminuer leur affinité pour les cytochromes tout en préservant leur efficacité pharmacologique.
- d. **Utilisation de mélanges d'inhibiteurs spécifiques** : Plutôt que d'avoir un seul composé actif, l'utilisation de mélanges ciblant différents cytochromes impliqués dans le métabolisme des médicaments peut réduire l'inhibition de chaque cytochrome individuel tout en maintenant l'efficacité globale du traitement.
- e. **Optimisation de la voie d'administration** : En choisissant la voie d'administration adéquate, on peut réduire l'exposition des cytochromes à l'inhibiteur tout en assurant une biodisponibilité suffisante du médicament.

En mettant en œuvre ces stratégies, les chercheurs peuvent concevoir des médicaments plus sûrs et plus efficaces en minimisant les effets indésirables associés à l'inhibition des cytochromes P450.

The background features a complex, abstract design in shades of blue and white. It includes various geometric elements such as hexagons, circles, and lines, some of which are interconnected to form a network-like structure. Several arrows of different sizes and orientations point in various directions, suggesting movement or flow. A single gear is visible on the right side of the design. The overall aesthetic is clean, modern, and technical.

Conclusion

Nous avons présenté une approche *in silico* basée sur le docking moléculaire pour l'identification de nouveaux inhibiteurs de PD-L1, avec le programme Surflex choisi pour mener à bien cette étude. Notre stratégie était basée sur des données expérimentales démontrant l'activité inhibitrice de 8YZ sur PD-L1 dans le contexte du traitement du cancer.

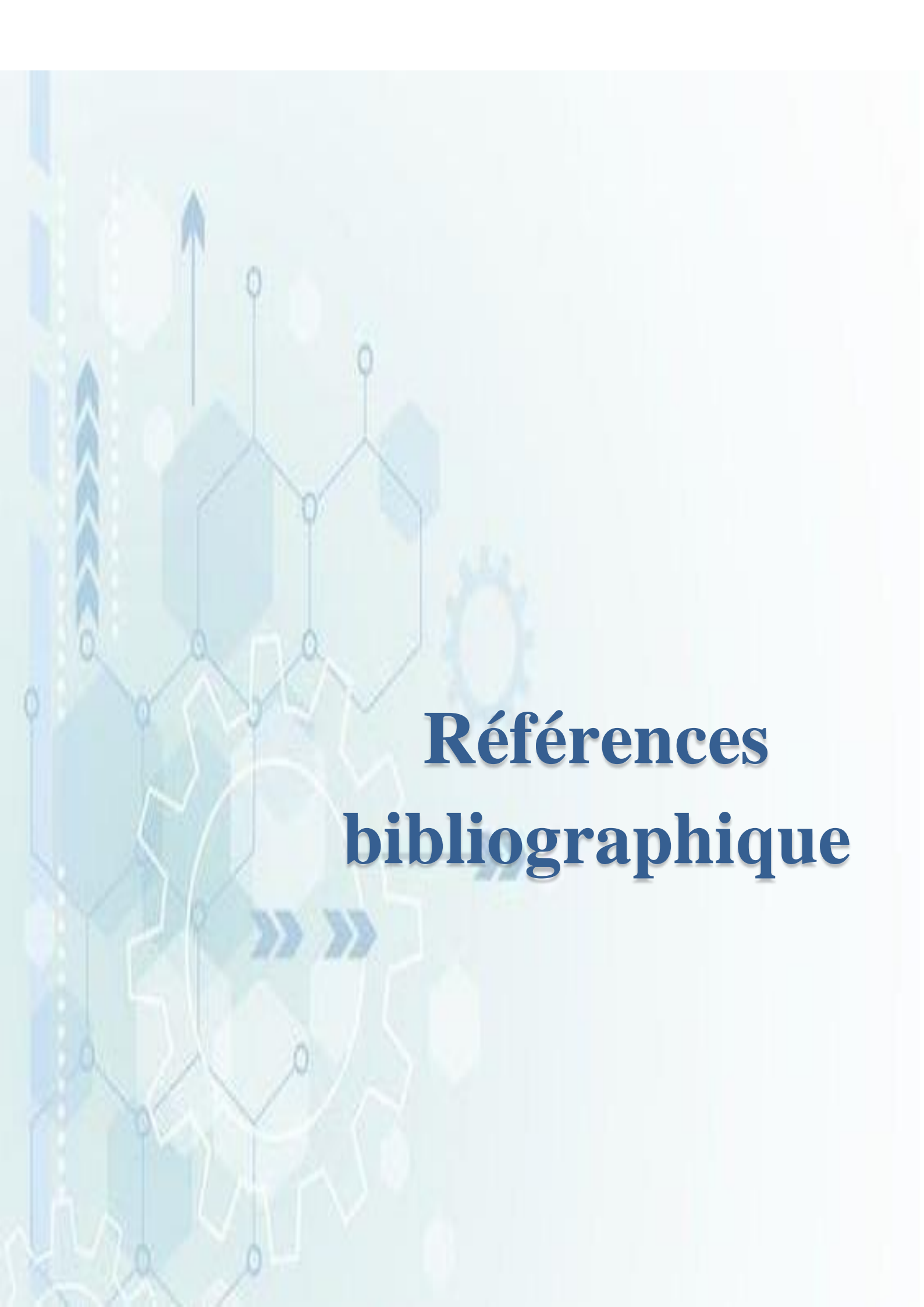
L'objectif était de découvrir de nouveaux composés présentant des propriétés inhibitrices supérieures à celles de 8YZ, en exploitant les informations structurales fournies par le docking moléculaire pour identifier les meilleurs candidats. Nous avons d'abord évalué la fiabilité du programme Surflex en appliquant le test RMSD sur 100 complexes sélectionnés de manière aléatoire dans la PDB, obtenant des résultats concluants avec un RMSD inférieur à 2 Å dans 83 % des cas. Ces résultats ont été renforcés par une analyse visuelle qui nous a conduits à la conclusion que Surflex est un logiciel de docking moléculaire fiable, offrant ainsi une confiance totale pour son utilisation dans notre étude.

En utilisant Surflex, nous avons criblé une collection de 1820 composés naturels provenant de la base de données East African Natural Products Database (EANPDB). Le criblage virtuel a identifié 909 composés avec une affinité supérieure à celle de 8YZ (affinité égale à 1,73), parmi lesquels les composés S_347, S_136 et S_175 se sont distingués comme les meilleurs inhibiteurs de PD-L1 avec des affinités respectives de 6,12, 5,42 et 5,35 M⁻¹.

Nous avons ensuite effectué une analyse approfondie des différentes interactions impliquées entre ces trois meilleurs composés et le composé de référence 8YZ. Les molécules naturelles S_347, S_136 et S_175 montrent des performances supérieures par rapport au composé standard 8YZ en termes de nombre de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes.

Grâce à la règle de Lipinski, nous avons pu confirmer que les composés étudiés pourraient potentiellement agir en tant qu'inhibiteurs de PD-L1. Leurs caractéristiques physico-chimiques et pharmacocinétiques ne révèlent aucun obstacle majeur qui pourrait compromettre leur utilisation dans ce contexte, ce qui renforce leur statut de nouveaux candidats prometteurs.

Pour l'avenir, cette recherche pourrait être approfondie et prolongée par d'autres recherches *in vitro* et/ou *in vivo* pour confirmer les résultats théoriques et vérifier l'efficacité de l'approche *in silico*.



Références bibliographique

- Akinleye, A., & Rasool, Z. (2019). Immune checkpoint inhibitors of PD-L1 as cancer therapeutics. *Journal of Hematology and Oncology*, 12(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0779-5>
- Antoni, D., Bockel, S., Deutsch, E., & Mornex, F. (2016). Radiothérapie et thérapies ciblées/immunothérapie. *Cancer/Radiothérapie*, 20(6–7), 434–441. <https://doi.org/10.1016/j.canrad.2016.07.082>
- Baskar, R., Lee, K. A., Yeo, R., & Yeoh, K. W. (2012). Cancer and radiation therapy: Current advances and future directions. *International Journal of Medical Sciences*, 9(3), 193–199. <https://doi.org/10.7150/ijms.3635>
- Botham, K. M., Weil, A., Rodwell, V. W., Kennelly, P. J., Bender, D. A., & Domenjoud, L. (2017). *Biochimie de Harper*. De Boeck Supérieur. <https://books.google.dz/books?id=2CM2DwAAQBAJ>
- Boucherit, H., Abdelouahab, C., Bensegueni, A., Amina, M., Hioual, K., & Mokrani, E. (2013). *L'AMARRAGE MOLECULAIRE : UNE NOUVELLE APPROCHE POUR LUTTER CONTRE LE DEVELOPPEMENT DE LA TUBERCULOSE*. 7, 133–149.
- Boyle, N. M. O., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel : An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 3(1), 33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
- Brogden, K. A., Vali, S., & Abbasi, T. (2016). *PD-L1 is a diverse molecule regulating both tumor-intrinsic signaling and adaptive immunosuppression*. 5(Suppl 7), 1396–1399. <https://doi.org/10.21037/tcr.2016.12.43>
- Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., & Pienta, K. J. (2023). Updating the Definition of Cancer. *Molecular Cancer Research*, 21(11), 1142–1147. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0411>
- Chargari, C., Peignaux, K., Escande, A., Renard, S., Lafond, C., Petit, A., Lam Cham Kee, D., Durdux, C., & Haie-Méder, C. (2022). Radiotherapy of cervical cancer. *Cancer Radiothérapie : Journal de La Societe Francaise de Radiothérapie Oncologique*, 26(1–2), 298–308. <https://doi.org/10.1016/j.canrad.2021.11.009>
- CHIKHI, A. (2007). *Calculs et modelisations des interactions peptide deformylase – substances antibacteriennes a l'aide de techniques de docking'' (arrimage) moleculaire*. 9–126.
- Choi, J. G., Kim, Y. S., Kim, J. H., Kim, T. I., Li, W., Oh, T. W., Jeon, C. H., Kim, S. J., & Chung, H. S. (2020). Anticancer Effect of *Salvia plebeia* and Its Active Compound by

- Improving T-Cell Activity via Blockade of PD-1/PD-L1 Interaction in Humanized PD-1 Mouse Model. *Frontiers in Immunology*, 11(November), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.598556>
- de Crevoisier, R., Lafond, C., Mervoyer, A., Hulot, C., Jaksic, N., Bessières, I., & Delpon, G. (2022). Image-guided radiotherapy. *Cancer/Radiothérapie*, 26(1), 34–49. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.canrad.2021.08.002>
- Esfahani, K., Roudaia, L., Buhlaiga, N., Del Rincon, S. V, Papneja, N., & Miller, W. H. J. (2020). A review of cancer immunotherapy: from the past, to the present, to the future. *Current Oncology (Toronto, Ont.)*, 27(Suppl 2), S87–S97. <https://doi.org/10.3747/co.27.5223>
- Halperin, I., Ma, B., Wolfson, H., & Nussinov, R. (2002). Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 47(4), 409–443. <https://doi.org/10.1002/prot.10115>
- Hirsch, L., Zitvogel, L., Eggermont, A., & Marabelle, A. (2019). PD-Loma: a cancer entity with a shared sensitivity to the PD-1/PD-L1 pathway blockade. *British Journal of Cancer*, 120(1), 3–5. <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0294-4>
- Jain, A. N. (2003). Surflex: Fully automatic flexible molecular docking using a molecular similarity-based search engine. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46(4), 499–511. <https://doi.org/10.1021/jm020406h>
- Lee, S. H., Lee, H. T., Lim, H., Kim, Y., Park, U. B., & Heo, Y. (2020). Biochemical and Biophysical Research Communications Crystal structure of PD-1 in complex with an antibody-drug tislelizumab used in tumor immune checkpoint therapy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 527(1), 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.04.121>
- Lee, S. M., & Chow, L. Q. (2014). A new addition to the PD-1 checkpoint inhibitors for non-small cell lung cancer — the anti-PDL1 antibody — MEDI4736. 3(6), 408–410. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2218-6751.2014.11.10>
- Lin, N. U., Claus, E., Sohl, J., Razzak, A. R., Arnaout, A., & Winer, E. P. (2008). Sites of distant recurrence and clinical outcomes in patients with metastatic triple-negative breast cancer: high incidence of central nervous system metastases. *Cancer*, 113(10), 2638–2645. <https://doi.org/10.1002/cncr.23930>
- Liu, J., Chen, Z., Li, Y., Zhao, W., Wu, J. B., & Zhang, Z. (2021). PD-1/PD-L1 Checkpoint Inhibitors in Tumor Immunotherapy. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 12).

- <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.731798>
- Lodish, H. F. (2008). *Molecular Cell Biology*. W. H. Freeman.
<https://books.google.dz/books?id=K3JbG1JiUMC>
- MOKRANI El-Hassen. (2012). *Contribution à l'amélioration de l'activité biologique desinhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète detype 2 par simulation informatique*. 1–121.
- Mokrani, E. H., Abdelaziz, A., Akakba, N., Teniou, S., Demmak, R. G., & Bensegueni, A. (2022). Molecular Docking and Drug-likeness Prediction of New Potent Tubulin Colchicine Binding Site Inhibitors for Potential Antitumor Drug. *Cumhuriyet Science Journal*, 43(3), 398–403. <https://doi.org/10.17776/csj.1063966>
- Okazaki, T., & Honjo, T. (2006). *The PD-1 – PD-L pathway in immunological tolerance*. 27(4).
<https://doi.org/10.1016/j.it.2006.02.001>
- Ozalp, L., Sağ Erdem, S., Yüce-Dursun, B., Mutlu, Ö., & Özbil, M. (2018). Computational insight into the phthalocyanine-DNA binding via docking and molecular dynamics simulations. *Computational Biology and Chemistry*, 77, 87–96.
<https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2018.09.009>
- Ri, M. H., Ma, J., & Jin, X. (2021). Development of natural products for anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy against cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 281(April), 114370.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114370>
- Sanchez, G. (2013). Las instituciones de ciencia y tecnología en los procesos de aprendizaje de la producción agroalimentaria en Argentina. *El Sistema Argentino de Innovación: Instituciones, Empresas y Redes. El Desafío de La Creación y Apropiación de Conocimiento.*, 14(October 2006), 659–664. <https://doi.org/10.1002/prot>
- Schwartz, S. M. (2024). Epidemiology of Cancer. *Clinical Chemistry*, 70(1), 140–149.
<https://doi.org/10.1093/clinchem/hvad202>
- Sharon, E., Moore, N., Foster, J. C., Ph, D., Hu, J. S., & Riedel, R. F. (2024). *Atezolizumab for Advanced Alveolar Soft Part Sarcoma*. 389(10), 911–921.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa2303383.Atezolizumab>
- Sharpe, A. H., & Pauken, K. E. (2018). The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway. *Nature Reviews. Immunology*, 18(3), 153–167. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.108>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S., & Jemal, A. (2023). Cancer statistics, 2023. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 73(1), 17–48. <https://doi.org/10.3322/caac.21763>
- Simoben, C. V, Qaseem, A., Moumbock, A. F. A., Telukunta, K. K., Günther, S., Sippl, W., &

- Ntie-Kang, F. (2020). Pharmacoinformatic Investigation of Medicinal Plants from East Africa. *Molecular Informatics*, 39(11), e2000163. <https://doi.org/10.1002/minf.202000163>
- Tang, J., Yu, J. X., Hubbard-Lucey, V. M., Neftelinov, S. T., Hodge, J. P., & Lin, Y. (2018). The clinical trial landscape for PD1/PD11 immune checkpoint inhibitors. *Nature Reviews Drug Discovery*, 17(12), 854–855. <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.210>
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2018). *Anatomie et physiologie*. De Boeck supérieur. <https://books.google.dz/books?id=R6x2DwAAQBAJ>
- Upadhyay, A. (2021). Cancer: An unknown territory; rethinking before going ahead. *Genes and Diseases*, 8(5), 655–661. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2020.09.002>
- Veber, F. D., Johnson, S. R., Cheng, H., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). *Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates*. 2615–2623. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>
- Vuagnat, P., & Roussy, G. (2018). *Immunothérapies anti-checkpoints : aspects fondamentaux*. 5–10.
- Wilkinson, A. N., & Sumar, N. (2022). Principes de base de la chimiothérapie à l'intention des médecins de famille. *Canadian Family Physician*, 68(1), E5–E9. <https://doi.org/10.46747/cfp.6801e5>
- Wu, Q., Jiang, L., Li, S. cheng, He, Q. jun, Yang, B., & Cao, J. (2021). Small molecule inhibitors targeting the PD-1/PD-L1 signaling pathway. *Acta Pharmacologica Sinica*, 42(1). <https://doi.org/10.1038/s41401-020-0366-x>
- Zak, K. M., Grudnik, P., Magiera, K., Dömling, A., Dubin, G., & Holak, T. A. (2017). Structural Biology of the Immune Checkpoint Receptor PD-1 and Its Ligands PD-L1/PD-L2. *Structure*, 25(8), 1163–1174. <https://doi.org/10.1016/j.str.2017.06.011>

The background of the page features a light blue and white color scheme. On the left side, there is a vertical DNA double helix structure. Scattered across the page are various chemical structures, including hexagonal rings and interconnected nodes, representing molecular models. The overall aesthetic is clean and scientific.

Annexes

ANNEXE 1

Liste des 100 complexes et leur RMSD utilisés pour tester le programme Surfex.

Code PDB du complexe	Code du ligand	RMSD (Å)	Code PDB du complexe	Code du ligand	RMSD (Å)
2BPZ	3IN	1,930	3NBP	JGZ	1,980
2C8W	C7M	0,850	3NNU	EDB	0,535
2HBU	UN9	1,737	3NQ1	KOJ	1,144
2HIW	7MP	2,115	3R8Z	Z63	1,376
2OAH	QIN	1,968	4CQ0	SXS	1,753
2P83	MR0	1,979	4DIJ	BLF	1,939
2RIZ	GOL	1,724	4E73	0NR	1,703
2VAQ	VAW	2,0	4JP9	1M5	0,056
2XNH	MSE	0,977	4O1B	DGB	1,677
2Y9X	0TR	1,890	4OGT	2U6	2,031
3C6T	M14	0,629	4OTY	LUR	0,054
3C6U	M22	2,720	4PES	2PJ	1,391
3DI6	PDZ	2,371	4PNC	7NP	0,039
3DLE	GFA	1,028	4PS3	2WH	1,815
3DLG	GWE	0,844	4R68	W31	1,652
3DM2	GWE	0,975	4RSO	DA	1,109
3DOL	GWI	1,630	5A6H	OE2	2,045
3DRP	R8E	1,946	5CLM	52K	1,786
3E01	PZ2	1,490	5ER2	OEK	1,030
3FFI	3OB	1,918	5JL9	HEM	1,453
3HVT	NVP	1,980	5LO1	70L	1,576
3IRX	UDR	2,641	5URS	8LA	1,399
3IS9	AC7	1,558	5ZA8	27I	1,973
3ISN	EDM	1,045	5ZA9	50I	1,955
3LAK	KR1	1,987	5ZAE	EAU	1,654
3M8P	65B	1,816	5ZAH	30I	1,724

5ZB2	P33	1,173	4N9C	2ZM	0,768
5ZC5	09I	2,586	4LVF	20P	1,416
6GIP	EUN	1,446	4LVD	1EB	1,424
7JIT	Y95	0,367	4KM0	CP6	0,459
7JRN	TTT	1,969	4KFJ	1RO	1,853
7K40	U5G	0,775	4KEB	1QZ	0,062
7RNT	2AM	0,877	4KD7	9DR	0,703
7RSA	TBU	1,469	4KBN	25U	2,096
7TLN	INC	0,860	4N9D	2HJ	2,101
3K47	D09	1,309	4BTJ	ATP	1,803
3NXO	D2B	0,082	4BTK	DTQ	1,763
3NXR	D2D	1,598	4BTM	F8E	1,765
3NXT	D2E	0,151	4FNY	I3K	2,755
6PEB	7ME	0,604	4MKC	4MK	1,574
6ATB	Q24	1,643	4MP7	PFT	1,785
5UPF	6ME	0,890	4MPC	PV2	1,684
5NSD	Q11	2,796	5AAA	VGH	0,688
5KIT	Q12	0,971	5OS1	A7H	2,697
4WQ6	OU5	2,101	5VDK	8X7	2,380
3G8E	IS1	1,861	5W8H	9Y1	0,093
4O16	1XC	2,779	5Z9K	99X	2,012
4O13	2P1	1,840	3QTQ	X35	2,095
4O1D	DGB	0,400	3IX4	TX1	1,355
4N9E	2HL	0,871	3L4T	BJ1	1,611

82	S_1006	4,3	114	S_182	4,11	146	S_754	3,94
83	S_920	4,29	1115	S_187	4,11	147	S_800	3,93
84	S_159	4,28	116	S_443	4,11	148	S_178	3,92
85	S_903	4,28	117	S_590	4,1	149	S_229	3,92
86	S_1495	4,26	118	S_550	4,09	150	S_310	3,92
87	S_671	4,24	119	S_299	4,08	151	S_631	3,92
88	S_1805	4,24	120	S_399	4,07	152	S_811	3,92
89	S_201	4,23	121	S_1799	4,07	153	S_931	3,92
90	S_1451	4,23	122	S_378	4,06	154	S_384	3,91
91	S_1637	4,23	123	S_1146	4,05	155	S_1064	3,91
92	S_1723	4,23	124	S_1400	4,05	156	S_1090	3,91
93	S_185	4,22	125	S_1444	4,05	157	S_1232	3,91
94	S_1758	4,22	126	S_430	4,04	158	S_1366	3,91
95	S_588	4,2	127	S_1437	4,04	159	S_1638	3,91
96	S_1393	4,2	128	S_1247	4,03	160	S_1283	3,9
97	S_519	4,19	129	S_1408	4,03	161	S_1367	3,9
98	S_1548	4,19	130	S_176	4,01	162	S_1695	3,9
99	S_437	4,18	131	S_300	4,01	163	S_74	3,88
100	S_697	4,18	132	S_1756	4,01	164	S_405	3,88
101	S_1379	4,18	133	S_1378	4	165	S_892	3,88
102	S_29	4,17	134	S_1606	4	166	S_1101	3,87
103	S_1306	4,17	135	S_439	3,99	167	S_1358	3,87
104	S_535	4,16	136	S_1005	3,99	168	S_1702	3,87
105	S_1491	4,16	137	S_1143	3,99	169	S_1791	3,87
106	S_1658	4,16	138	S_1189	3,99	170	S_916	3,86
107	S_1097	4,14	139	S_538	3,98	171	S_948	3,86
108	S_1349	4,14	140	S_1080	3,98	172	S_1550	3,86
109	S_285	4,13	141	S_1099	3,97	173	S_1299	3,85
110	S_505	4,13	142	S_168	3,96	174	S_890	3,84
111	S_809	4,12	143	S_1237	3,96	175	S_1218	3,84
112	S_1547	4,12	144	S_166	3,95	176	S_1261	3,84
113	S_1810	4,12	145	S_1037	3,95	177	S_1432	3,84

178	S_1500	3,84	210	S_1203	3,71	242	S_1560	3,6
179	S_1713	3,84	211	S_1707	3,71	243	S_116	3,59
180	S_123	3,82	212	S_1789	3,71	244	S_758	3,59
181	S_408	3,82	213	S_525	3,7	245	S_1106	3,59
182	S_436	3,82	214	S_860	3,7	246	S_1409	3,59
183	S_569	3,82	215	S_1138	3,7	247	S_1568	3,59
184	S_1188	3,82	216	S_635	3,69	248	S_454	3,58
185	S_1592	3,82	217	S_246	3,68	249	S_481	3,58
186	S_1806	3,82	218	S_921	3,68	250	S_362	3,57
187	S_630	3,81	219	S_414	3,67	251	S_442	3,57
188	S_1136	3,81	220	S_1670	3,66	252	S_574	3,57
189	S_311	3,78	221	S_128	3,65	253	S_1217	3,57
190	S_995	3,78	222	S_438	3,65	254	S_1258	3,57
191	S_1071	3,78	223	S_1333	3,65	255	S_188	3,56
192	S_351	3,77	224	S_1725	3,64	256	S_497	3,56
193	S_383	3,77	225	S_133	3,63	257	S_6	3,55
194	S_421	3,77	226	S_363	3,63	258	S_1646	3,55
195	S_521	3,76	2227	S_649	3,63	259	S_122	3,54
196	S_779	3,76	228	S_138	3,62	260	S_533	3,52
197	S_16	3,75	229	S_302	3,62	261	S_939	3,51
198	S_653	3,75	230	S_332	3,62	262	S_1818	3,51
199	S_1492	3,75	231	S_639	3,62	263	S_92	3,5
200	S_1755	3,75	232	S_1093	3,62	264	S_557	3,5
201	S_243	3,74	233	S_1096	3,62	265	S_582	3,5
202	S_1105	3,74	234	S_1705	3,62	266	S_98	3,49
203	S_1555	3,74	235	S_778	3,61	267	S_790	3,49
204	S_1602	3,74	236	S_818	3,61	268	S_978	3,48
205	S_108	3,73	237	S_179	3,6	269	S_1418	3,48
206	S_1521	3,73	238	S_298	3,6	270	S_423	3,47
207	S_1663	3,73	239	S_398	3,6	271	S_930	3,47
208	S_183	3,72	240	S_1201	3,6	272	S_1086	3,47
209	S_315	3,71	241	S_1345	3,6	273	S_1234	3,47

274	S_313	3,46	306	S_1520	3,39	337	S_43	3,29
275	S_314	3,46	307	S_1004	3,38	338	S_667	3,29
276	S_440	3,46	308	S_366	3,37	339	S_1085	3,29
277	S_734	3,46	309	S_1412	3,37	340	S_1372	3,29
278	S_791	3,46	310	S_558	3,36	341	S_1804	3,29
279	S_1226	3,46	311	S_873	3,36	342	S_789	3,28
280	S_926	3,45	312	S_1603	3,36	343	S_1134	3,28
281	S_124	3,44	313	S_1630	3,36	344	S_1421	3,28
282	S_364	3,44	314	S_1657	3,36	345	S_301	3,26
283	S_1389	3,44	315	S_344	3,35	346	S_698	3,26
284	S_209	3,43	316	S_371	3,35	347	S_410	3,25
285	S_303	3,43	317	S_1531	3,35	348	S_473	3,25
286	S_387	3,43	318	S_1772	3,35	349	S_556	3,25
287	S_675	3,43	318	S_112	3,34	350	S_737	3,25
288	S_1501	3,43	319	S_132	3,34	351	S_1260	3,25
289	S_874	3,42	320	S_580	3,34	352	S_368	3,24
290	S_1773	3,42	321	S_813	3,34	353	S_1010	3,24
291	S_733	3,41	322	S_1505	3,34	354	S_1211	3,23
292	S_113	3,4	323	S_390	3,33	355	S_28	3,22
293	S_520	3,4	324	S_500	3,33	356	S_107	3,22
294	S_673	3,4	325	S_1469	3,33	357	S_167	3,22
295	S_817	3,4	326	S_571	3,32	358	S_389	3,22
296	S_1275	3,4	327	S_876	3,32	359	S_444	3,21
297	S_1348	3,4	328	S_295	3,31	360	S_448	3,21
298	S_1369	3,4	329	S_404	3,31	361	S_672	3,21
299	S_1777	3,4	330	S_428	3,31	362	S_717	3,21
300	S_394	3,39	331	S_472	3,31	363	S_1365	3,21
301	S_570	3,39	332	S_369	3,3	364	S_1438	3,21
302	S_774	3,39	333	S_587	3,3	365	S_337	3,2
303	S_989	3,39	334	S_611	3,3	366	S_1344	3,2
304	S_1390	3,39	335	S_1406	3,3	367	S_1571	3,2
305	S_1422	3,39	336	S_1441	3,3	368	S_964	3,19

369	S_1376	3,19	401	S_1307	3,11	434	S_1407	3
370	S_1431	3,19	402	S_1368	3,11	435	S_1817	3
3771	S_604	3,18	403	S_1642	3,11	436	S_7	2,99
372	S_815	3,18	404	S_205	3,1	437	S_8	2,99
373	S_845	3,18	405	S_489	3,1	438	S_281	2,99
374	S_1183	3,18	406	S_567	3,1	439	S_449	2,99
375	S_170	3,17	407	S_626	3,1	440	S_1244	2,99
376	S_875	3,17	408	S_1559	3,1	441	S_1292	2,99
377	S_1021	3,17	409	S_200	3,09	442	S_714	2,98
378	S_506	3,16	410	S_515	3,09	443	S_788	2,98
379	S_549	3,16	411	S_609	3,09	444	S_1259	2,98
380	S_660	3,16	412	S_937	3,08	445	S_1362	2,98
381	S_953	3,16	413	S_1110	3,08	446	S_1402	2,98
382	S_1209	3,16	415	S_1710	3,08	447	S_380	2,97
383	S_63	3,15	416	S_110	3,07	448	S_382	2,97
384	S_161	3,15	417	S_679	3,07	449	S_534	2,97
385	S_403	3,15	418	S_1374	3,07	450	S_917	2,97
386	S_548	3,15	419	S_1786	3,07	451	S_1656	2,97
387	S_453	3,14	420	S_127	3,06	452	S_503	2,96
388	S_1014	3,14	421	S_467	3,04	453	S_1051	2,96
389	S_1062	3,14	422	S_1429	3,04	454	S_1403	2,96
390	S_1219	3,14	423	S_1757	3,04	455	S_94	2,95
391	S_1346	3,14	424	S_97	3,03	456	S_728	2,95
392	S_1549	3,14	425	S_924	3,03	457	S_832	2,95
393	S_1551	3,14	426	S_413	3,02	458	S_1212	2,95
394	S_429	3,13	427	S_704	3,02	459	S_1091	2,94
395	S_1298	3,13	428	S_1179	3,02	460	S_1750	2,94
396	S_349	3,12	429	S_1314	3,02	461	S_499	2,93
397	S_417	3,12	430	S_1399	3,02	462	S_1530	2,93
398	S_911	3,12	431	S_1174	3,01	463	S_353	2,91
399	S_1295	3,12	432	S_1262	3,01	464	S_886	2,91
400	S_781	3,11	433	S_840	3	465	S_1059	2,91

466	S_1334	2,91	498	S_47	2,79	530	S_871	2,72
467	S_426	2,9	499	S_365	2,79	531	S_946	2,72
468	S_135	2,89	500	S_466	2,79	532	S_1629	2,72
469	S_1671	2,89	501	S_945	2,79	533	S_297	2,71
470	S_852	2,88	502	S_1388	2,79	534	S_316	2,71
471	S_1001	2,88	503	S_1504	2,79	535	S_1046	2,71
472	S_1196	2,88	504	S_1700	2,79	536	S_1692	2,71
473	S_1714	2,87	505	S_1769	2,79	537	S_239	2,7
474	S_206	2,86	506	S_1800	2,79	538	S_474	2,7
475	S_951	2,86	507	S_117	2,78	539	S_966	2,7
476	S_484	2,85	508	S_640	2,78	540	S_1017	2,69
477	S_1593	2,85	509	S_1798	2,78	541	S_1493	2,69
478	S_184	2,84	510	S_77	2,77	542	S_1074	2,68
479	S_228	2,84	511	S_129	2,77	543	S_1517	2,68
480	S_327	2,84	512	S_627	2,77	544	S_1598	2,68
481	S_1508	2,83	513	S_1061	2,77	546	S_1720	2,68
482	S_1565	2,83	514	S_169	2,76	547	S_1771	2,68
483	S_1643	2,83	515	S_1002	2,76	548	S_793	2,67
484	S_1783	2,83	516	S_1038	2,76	549	S_1035	2,67
485	S_532	2,82	517	S_1301	2,76	550	S_1170	2,67
486	S_881	2,82	518	S_1359	2,76	551	S_180	2,66
487	S_1098	2,82	519	S_514	2,75	552	S_197	2,66
488	S_1353	2,82	520	S_539	2,75	553	S_614	2,66
489	S_1411	2,82	521	S_906	2,75	554	S_888	2,66
490	S_1749	2,82	522	S_1448	2,75	555	S_1153	2,66
491	S_126	2,81	523	S_318	2,74	556	S_1199	2,66
492	S_226	2,81	524	S_731	2,74	557	S_1238	2,66
493	S_517	2,81	525	S_898	2,74	558	S_1375	2,66
494	S_1384	2,81	526	S_1611	2,74	559	S_1696	2,66
495	S_1460	2,81	527	S_1708	2,73	560	S_833	2,65
496	S_1662	2,81	528	S_14	2,72	561	S_1015	2,65
497	S_1639	2,8	529	S_109	2,72	562	S_1310	2,64

563	S_238	2,63	595	S_629	2,57	627	S_992	2,49
564	S_412	2,63	596	S_899	2,57	628	S_1711	2,49
565	S_736	2,63	597	S_1033	2,57	629	S_637	2,48
566	S_1697	2,63	598	S_1317	2,57	630	S_925	2,48
567	S_1246	2,62	599	S_1339	2,57	631	S_1008	2,48
568	S_425	2,61	600	S_1461	2,57	632	S_1352	2,48
569	S_678	2,61	601	S_1779	2,57	633	S_1730	2,48
570	S_1130	2,61	602	S_579	2,56	634	S_597	2,47
571	S_1414	2,61	603	S_613	2,56	635	S_721	2,47
572	S_1621	2,61	604	S_1507	2,56	636	S_1013	2,47
573	S_35	2,6	605	S_118	2,55	637	S_1510	2,47
574	S_402	2,6	606	S_475	2,55	638	S_1673	2,47
575	S_610	2,6	607	S_709	2,55	639	S_1792	2,47
576	S_1065	2,6	608	S_1488	2,55	640	S_186	2,46
577	S_1721	2,6	609	S_181	2,54	641	S_495	2,46
578	S_1768	2,6	610	S_866	2,54	642	S_415	2,45
579	S_1784	2,6	611	S_1336	2,54	643	S_748	2,45
580	S_1803	2,6	612	S_1640	2,54	644	S_908	2,45
581	S_9	2,59	613	S_367	2,53	645	S_212	2,44
582	S_304	2,59	614	S_536	2,53	646	S_348	2,44
583	S_1032	2,59	615	S_1618	2,53	647	S_447	2,44
584	S_1068	2,59	616	S_1635	2,53	648	S_670	2,43
585	S_1534	2,59	617	S_1812	2,53	649	S_827	2,43
586	S_1584	2,59	618	S_877	2,52	650	S_1250	2,43
587	S_1747	2,59	619	S_1416	2,52	651	S_492	2,42
588	S_808	2,58	620	S_1427	2,52	652	S_504	2,42
589	S_943	2,58	621	S_1636	2,52	653	S_1579	2,42
590	S_960	2,58	622	S_420	2,51	654	S_227	2,41
591	S_1632	2,58	623	S_751	2,51	655	S_847	2,41
592	S_102	2,57	624	S_1034	2,51	656	S_1440	2,41
593	S_296	2,57	625	S_160	2,5	657	S_1619	2,41
594	S_528	2,57	626	S_663	2,5	658	S_1748	2,41

659	S_999	2,4	689	S_544	2,3	721	S_1793	2,22
660	S_1094	2,4	690	S_1385	2,3	722	S_424	2,21
661	S_1641	2,4	691	S_1751	2,3	723	S_759	2,21
662	S_674	2,39	692	S_379	2,29	724	S_320	2,2
663	S_1022	2,39	693	S_705	2,29	725	S_928	2,2
664	S_1243	2,39	694	S_1709	2,29	726	S_1000	2,2
665	S_111	2,38	695	S_490	2,28	727	S_1347	2,2
666	S_319	2,38	696	S_735	2,28	728	S_1452	2,2
667	S_1042	2,38	697	S_942	2,26	729	S_309	2,19
668	S_1585	2,38	698	S_944	2,26	730	S_1587	2,19
669	S_235	2,37	699	S_1285	2,26	731	S_38	2,18
668	S_1746	2,37	700	S_493	2,25	732	S_215	2,17
669	S_189	2,35	701	S_1028	2,25	733	S_691	2,17
670	S_306	2,35	702	S_529	2,24	734	S_1820	2,17
671	S_829	2,35	703	S_692	2,24	735	S_854	2,16
672	S_846	2,35	704	S_1533	2,24	736	S_1423	2,16
673	S_1135	2,35	705	S_1669	2,24	737	S_1816	2,16
674	S_1690	2,35	706	S_1745	2,24	738	S_222	2,15
675	S_294	2,34	707	S_1811	2,24	739	S_636	2,14
676	S_312	2,34	708	S_12	2,23	740	S_1776	2,14
677	S_677	2,34	709	S_543	2,23	741	S_1794	2,14
678	S_823	2,34	710	S_718	2,23	742	S_650	2,13
679	S_1277	2,33	711	S_900	2,23	743	S_656	2,13
680	S_1703	2,33	712	S_1620	2,23	744	S_767	2,13
681	S_1782	2,33	713	S_106	2,22	745	S_1095	2,13
682	S_100	2,32	714	S_388	2,22	746	S_468	2,12
683	S_203	2,32	715	S_746	2,22	747	S_469	2,12
684	S_392	2,32	716	S_947	2,22	748	S_607	2,12
685	S_1473	2,32	717	S_1055	2,22	749	S_794	2,12
686	S_130	2,31	718	S_1249	2,22	750	S_907	2,12
687	S_994	2,31	719	S_1383	2,22	751	S_1011	2,12
688	S_1195	2,31	720	S_1701	2,22	752	S_1016	2,12

753	S_1519	2,12	785	S_1578	2,06	815	S_1778	1,97
754	S_1737	2,12	786	S_1694	2,06	816	S_78	1,96
755	S_1797	2,12	787	S_655	2,05	817	S_121	1,96
756	S_163	2,11	788	S_1078	2,05	818	S_342	1,96
757	S_491	2,11	789	S_1544	2,05	819	S_563	1,96
758	S_785	2,11	790	S_357	2,04	820	S_1040	1,96
759	S_952	2,11	791	S_979	2,04	821	S_1289	1,96
759	S_1160	2,11	792	S_1288	2,04	822	S_1760	1,96
760	S_338	2,1	793	S_765	2,03	823	S_325	1,95
761	S_750	2,1	794	S_1596	2,03	824	S_455	1,95
762	S_1801	2,1	795	S_91	2,02	825	S_1294	1,95
763	S_359	2,09	796	S_391	2,02	826	S_1386	1,95
764	S_457	2,09	797	S_488	2,02	827	S_172	1,94
765	S_593	2,09	798	S_773	2,02	828	S_322	1,94
766	S_657	2,09	799	S_850	2,01	829	S_1191	1,94
767	S_743	2,09	800	S_1210	2,01	830	S_1718	1,94
768	S_963	2,09	801	S_1752	2,01	831	S_831	1,93
769	S_1420	2,09	802	S_910	2	832	S_1239	1,93
770	S_1453	2,09	803	S_1613	2	833	S_1280	1,93
771	S_1744	2,09	804	S_326	1,99	834	S_1775	1,93
772	S_3	2,08	805	S_372	1,99	835	S_49	1,92
773	S_290	2,08	806	S_662	1,99	836	S_1413	1,92
774	S_828	2,08	805	S_769	1,99	837	S_450	1,91
775	S_1674	2,08	806	S_1566	1,99	838	S_1287	1,91
776	S_742	2,07	807	S_1617	1,99	839	S_1497	1,91
778	S_1031	2,07	808	S_870	1,98	840	S_1498	1,91
779	S_1405	2,07	809	S_897	1,98	841	S_1514	1,91
780	S_1424	2,07	810	S_1050	1,98	842	S_1808	1,91
781	S_1594	2,07	811	S_1343	1,98	843	S_633	1,9
782	S_174	2,06	812	S_10	1,97	844	S_752	1,9
783	S_479	2,06	813	S_1631	1,97	845	S_1332	1,9
784	S_1205	2,06	814	S_1684	1,97	846	S_214	1,89

847	S_991	1,89	879	S_225	1,81	912	S_1814	1,71
848	S_1770	1,89	880	S_292	1,81	913	S_60	1,7
849	S_114	1,88	881	S_386	1,81	914	S_683	1,7
850	S_502	1,88	882	S_632	1,81	915	S_949	1,7
851	S_1036	1,88	883	S_204	1,8	916	S_1190	1,7
852	S_1543	1,88	884	S_305	1,8	917	S_1588	1,7
853	S_1553	1,88	885	S_1126	1,8	918	S_375	1,69
854	S_1271	1,87	886	S_99	1,79	919	S_1524	1,69
855	S_1633	1,87	887	S_191	1,79	920	S_1539	1,67
856	S_190	1,86	889	S_738	1,79	921	S_462	1,66
857	S_210	1,86	890	S_768	1,79	922	S_1545	1,66
858	S_307	1,86	891	S_883	1,79	923	S_1583	1,66
859	S_970	1,86	892	S_1060	1,79	924	S_864	1,64
860	S_1235	1,86	893	S_690	1,78	925	S_1401	1,64
861	S_1597	1,86	894	S_643	1,77	926	S_1496	1,64
862	S_95	1,85	895	S_797	1,77	927	S_52	1,63
863	S_104	1,85	896	S_1018	1,77	928	S_291	1,63
864	S_572	1,85	897	S_1727	1,77	929	S_1176	1,63
865	S_573	1,84	898	S_786	1,76	930	S_115	1,62
866	S_834	1,84	899	S_787	1,76	931	S_480	1,62
867	S_381	1,83	900	S_902	1,76	932	S_1563	1,62
868	S_1187	1,83	901	S_1240	1,76	933	S_1728	1,62
860	S_1276	1,83	902	S_323	1,75	934	S_33	1,6
870	S_1350	1,83	903	S_2	1,74	935	S_1608	1,6
871	S_333	1,82	904	S_358	1,74	936	S_208	1,59
872	S_869	1,82	905	S_740	1,74	937	S_1410	1,59
873	S_998	1,82	906	S_1443	1,74	938	S_393	1,58
874	S_1194	1,82	907	S_665	1,73	940	S_696	1,57
875	S_1284	1,82	908	S_1532	1,72	941	S_1479	1,57
876	S_1404	1,82	909	S_220	1,71	942	S_406	1,56
877	S_1788	1,82	910	S_1067	1,71	943	S_1482	1,56
878	S_37	1,81	911	S_1616	1,71	944	S_1049	1,55

945	S_45	1,54	977	S_1041	1,47	1009	S_1729	1,37
946	S_346	1,54	978	S_1330	1,47	1010	S_1308	1,36
947	S_594	1,54	979	S_867	1,46	1011	S_458	1,34
948	S_608	1,54	980	S_971	1,46	1012	S_483	1,34
949	S_893	1,54	981	S_1780	1,46	1013	S_1309	1,34
950	S_1716	1,54	982	S_1149	1,45	1014	S_1509	1,34
951	S_343	1,53	983	S_1290	1,45	1015	S_377	1,33
952	S_713	1,53	984	S_658	1,44	1016	S_757	1,33
953	S_825	1,53	985	S_1092	1,44	1017	S_841	1,33
954	S_862	1,53	986	S_1231	1,44	1018	S_997	1,33
955	S_1435	1,53	987	S_782	1,43	1019	S_1356	1,33
956	S_46	1,52	988	S_826	1,42	1020	S_753	1,32
957	S_1513	1,52	989	S_842	1,42	1021	S_972	1,32
958	S_1536	1,52	990	S_1319	1,42	1022	S_1251	1,32
959	S_703	1,51	991	S_120	1,41	1023	S_1186	1,31
960	S_749	1,51	992	S_207	1,41	1024	S_1387	1,31
961	S_1717	1,51	993	S_1158	1,41	1025	S_445	1,3
962	S_171	1,5	994	S_1704	1,41	1026	S_1305	1,3
963	S_583	1,5	995	S_84	1,4	1027	S_1464	1,3
964	S_863	1,5	996	S_552	1,39	1028	S_523	1,28
965	S_17	1,49	997	S_682	1,39	1029	S_664	1,28
966	S_119	1,49	998	S_961	1,39	1030	S_816	1,28
967	S_321	1,49	999	S_293	1,38	1031	S_1446	1,28
968	S_763	1,49	1000	S_628	1,38	1032	S_725	1,27
969	S_1157	1,49	1001	S_1023	1,38	1033	S_853	1,27
970	S_1395	1,49	1002	S_1417	1,38	1034	S_1242	1,27
971	S_1681	1,49	1003	S_173	1,37	1035	S_1296	1,27
972	S_356	1,48	1004	S_211	1,37	1036	S_1380	1,26
973	S_512	1,48	1005	S_647	1,37	1037	S_634	1,25
974	S_1115	1,48	1006	S_730	1,37	1038	S_996	1,25
975	S_1434	1,48	1007	S_1184	1,37	1039	S_50	1,23
976	S_317	1,47	1008	S_1607	1,37	1040	S_1564	1,23

1041	S_1767	1,23	1073	S_652	1,05	1105	S_1447	0,86
1042	S_90	1,22	1074	S_861	1,05	1106	S_1719	0,86
1043	S_289	1,22	1075	S_1483	1,05	1107	S_651	0,85
1044	S_1168	1,22	1076	S_1622	1,05	1108	S_806	0,85
1045	S_1341	1,22	1077	S_81	1,04	1109	S_941	0,85
1046	S_1599	1,22	1078	S_1204	1,04	1110	S_96	0,84
1047	S_101	1,21	1079	S_1781	1,04	1111	S_476	0,84
1048	S_929	1,21	1080	S_689	1,03	1112	S_904	0,84
1049	S_1338	1,21	1081	S_744	1,03	1113	S_1117	0,84
1050	S_1355	1,21	1082	S_1627	1,03	1114	S_1589	0,84
1051	S_1169	1,2	1083	S_621	1,02	1115	S_477	0,83
1052	S_1426	1,2	1084	S_950	1,02	1116	S_1159	0,83
1053	S_835	1,19	1085	S_1225	1,02	1117	S_581	0,82
1054	S_896	1,19	1086	S_1154	1,01	1118	S_822	0,81
1055	S_1677	1,19	1087	S_1220	1,01	1119	S_805	0,8
1056	S_522	1,18	1088	S_1329	1	1120	S_336	0,79
1057	S_562	1,18	1089	S_687	0,98	1121	S_575	0,79
1058	S_1113	1,16	1090	S_1175	0,97	1122	S_577	0,79
1059	S_1535	1,16	1091	S_464	0,96	1123	S_882	0,79
1060	S_980	1,14	1092	S_648	0,96	1124	S_1027	0,79
1061	S_1342	1,14	1093	S_745	0,95	1125	S_729	0,78
1062	S_1254	1,13	1094	S_1120	0,95	1126	S_933	0,76
1063	S_1104	1,12	1095	S_915	0,94	1127	S_1303	0,76
1064	S_1552	1,11	1096	S_988	0,94	1128	S_1462	0,76
1065	S_830	1,1	1097	S_1182	0,91	1129	S_1567	0,76
1066	S_1682	1,1	1098	S_668	0,9	1130	S_397	0,75
1067	S_799	1,09	1099	S_1523	0,9	1131	S_1693	0,75
1068	S_1785	1,09	1100	S_798	0,89	1132	S_232	0,74
1069	S_719	1,08	1101	S_865	0,89	1133	S_820	0,74
1070	S_335	1,06	1102	S_1809	0,89	1134	S_1112	0,74
1071	S_435	1,06	1103	S_1222	0,87	1135	S_345	0,73
1072	S_956	1,06	1104	S_1111	0,86	1136	S_1324	0,73

1137	S_1623	0,73	1169	S_659	0,56	1201	S_62	0,33
1138	S_1688	0,73	1170	S_1322	0,56	1202	S_105	0,33
1139	S_646	0,71	1171	S_340	0,55	1203	S_1610	0,33
1140	S_858	0,71	1172	S_625	0,55	1204	S_249	0,32
1141	S_1436	0,71	1173	S_1181	0,55	1205	S_940	0,32
1142	S_213	0,7	1174	S_1081	0,53	1206	S_1274	0,31
1143	S_524	0,7	1175	S_1213	0,53	1207	S_685	0,3
1144	S_568	0,7	1176	S_1316	0,53	1208	S_986	0,29
1145	S_1291	0,7	1177	S_1430	0,49	1209	S_987	0,28
1146	S_814	0,69	1178	S_407	0,48	1210	S_530	0,26
1147	S_824	0,69	1179	S_1048	0,47	1211	S_1102	0,26
1148	S_912	0,69	1180	S_1087	0,47	1212	S_1132	0,26
1149	S_1600	0,69	1181	S_923	0,46	1213	S_1155	0,26
1150	S_1675	0,69	1182	S_1415	0,46	1214	S_1477	0,26
1151	S_1546	0,68	1183	S_1039	0,45	1215	S_546	0,24
1152	S_1538	0,66	1184	S_1245	0,45	1216	S_1256	0,24
1153	S_1340	0,65	1185	S_553	0,44	1217	S_688	0,23
1154	S_1591	0,65	1186	S_240	0,43	1218	S_1626	0,23
1155	S_739	0,63	1187	S_1731	0,43	1219	S_511	0,22
1156	S_1084	0,63	1188	S_22	0,42	1220	S_887	0,22
1157	S_1147	0,63	1189	S_531	0,42	1221	S_1499	0,21
1158	S_1148	0,63	1190	S_909	0,42	1222	S_1502	0,21
1159	S_1612	0,63	1191	S_1815	0,42	1223	S_1124	0,2
1160	S_803	0,62	1192	S_843	0,41	1224	S_103	0,19
1161	S_914	0,62	1193	S_584	0,4	1225	S_61	0,18
1162	S_370	0,61	1194	S_1450	0,38	1226	S_76	0,18
1163	S_1433	0,61	1195	S_695	0,37	1227	S_1537	0,18
1164	S_1609	0,6	1196	S_509	0,36	1228	S_1142	0,17
1165	S_151	0,59	1197	S_1125	0,36	1229	S_1650	0,17
1166	S_282	0,58	1198	S_1586	0,36	1230	S_34	0,16
1167	S_288	0,58	1199	S_1759	0,36	1231	S_1073	0,16
1168	S_982	0,58	1200	S_1253	0,35	1232	S_1766	0,16

1233	S_642	0,15	1265	S_1624	-0,09	1297	S_1083	-0,26
1234	S_776	0,15	1266	S_51	-0,11	1298	S_1077	-0,27
1235	S_1293	0,14	1267	S_263	-0,11	1299	S_257	-0,28
1236	S_510	0,12	1268	S_279	-0,11	1300	S_236	-0,29
1237	S_837	0,12	1269	S_1122	-0,11	1301	S_1318	-0,3
1238	S_59	0,11	1270	S_48	-0,12	1302	S_1569	-0,31
1239	S_482	0,1	1271	S_938	-0,12	1304	S_158	-0,32
1240	S_252	0,1	1272	S_684	-0,13	1305	S_1029	-0,32
1241	S_1813	0,09	1273	S_1202	-0,13	1306	S_1224	-0,32
1242	S_975	0,08	1274	S_783	-0,14	1307	S_1193	-0,33
1243	S_1689	0,08	1275	S_974	-0,14	1308	S_1655	-0,33
1244	S_576	0,07	1276	S_1079	-0,14	1309	S_772	-0,34
1245	S_1025	0,06	1277	S_131	-0,16	1310	S_478	-0,35
1246	S_44	0,05	1278	S_230	-0,16	1311	S_676	-0,35
1247	S_75	0,04	1279	S_706	-0,17	1312	S_13	-0,36
1248	S_801	0,03	1280	S_1114	-0,17	1313	S_330	-0,37
1249	S_1765	0,03	1281	S_1144	-0,17	1314	S_617	-0,37
1250	S_1012	0,01	1282	S_1743	-0,17	1315	S_271	-0,39
1251	S_1076	0,01	1283	S_792	-0,18	1316	S_1300	-0,4
1252	S_251	0	1284	S_1398	-0,18	1317	S_27	-0,41
1253	S_65	0	1285	S_1054	-0,19	1318	S_199	-0,43
1254	S_1273	0	1286	S_838	-0,2	1319	S_1494	-0,43
1255	S_89	-0,01	1287	S_1088	-0,2	1320	S_1108	-0,44
1256	S_148	-0,01	1288	S_1327	-0,21	1321	S_93	-0,45
1257	S_250	-0,01	1289	S_125	-0,22	1322	S_585	-0,46
1258	S_1024	-0,02	1290	S_716	-0,23	1323	S_693	-0,46
1259	S_58	-0,05	1291	S_1691	-0,23	1324	S_819	-0,46
1260	S_859	-0,05	1292	S_1265	-0,24	1325	S_1230	-0,46
1261	S_932	-0,05	1293	S_1127	-0,25	1326	S_139	-0,47
1262	S_88	-0,07	1294	S_1449	-0,25	1327	S_764	-0,48
1263	S_973	-0,08	1295	S_1601	-0,25	1328	S_1030	-0,48
1264	S_1668	-0,08	1296	S_913	-0,26	1329	S_1370	-0,49

1330	S_1487	-0,49	1362	S_20	-0,7	1393	S_36	-0,92
1331	S_248	-0,5	1363	S_762	-0,71	1394	S_1648	-0,95
1332	S_1236	-0,5	1364	S_41	-0,73	1395	S_42	-0,96
1333	S_962	-0,52	1365	S_1647	-0,73	1396	S_1575	-0,99
1334	S_1321	-0,52	1366	S_1512	-0,74	1397	S_518	-1
1335	S_1515	-0,52	1367	S_1396	-0,75	1398	S_694	-1
1336	S_73	-0,53	1368	S_1045	-0,76	1399	S_1282	-1,03
1337	S_701	-0,53	1369	S_264	-0,77	1400	S_1541	-1,07
1338	S_726	-0,54	1370	S_542	-0,78	1401	S_53	-1,08
1339	S_1540	-0,54	1371	S_681	-0,78	1402	S_1614	-1,1
1340	S_1197	-0,55	1372	S_1397	-0,78	1403	S_1178	-1,12
1341	S_1484	-0,56	1373	S_25	-0,79	1404	S_470	-1,13
1342	S_1645	-0,57	1374	S_1445	-0,79	1405	S_1774	-1,15
1343	S_1363	-0,59	1375	S_1481	-0,79	1406	S_720	-1,17
1344	S_1652	-0,61	1376	S_1082	-0,81	1407	S_234	-1,18
1345	S_1264	-0,62	1377	S_1320	-0,81	1408	S_1145	-1,18
1346	S_1686	-0,62	1378	S_922	-0,82	1409	S_1116	-1,19
1347	S_1131	-0,63	1379	S_1214	-0,82	1410	S_1325	-1,21
1348	S_1392	-0,63	1380	S_638	-0,83	1411	S_156	-1,22
1349	S_723	-0,64	1381	S_1107	-0,84	1412	S_554	-1,22
1350	S_1180	-0,64	1382	S_1172	-0,84	1413	S_969	-1,23
1351	S_1604	-0,64	1383	S_702	-0,86	1415	S_1109	-1,24
1352	S_1382	-0,65	1384	S_278	-0,87	1416	S_1311	-1,24
1353	S_775	-0,66	1385	S_603	-0,87	1417	S_1229	-1,25
1354	S_1373	-0,66	1386	S_959	-0,87	1418	S_1129	-1,26
1355	S_1425	-0,66	1387	S_463	-0,88	1419	S_1357	-1,26
1356	S_1680	-0,66	1388	S_1266	-0,88	1420	S_1763	-1,26
1357	S_64	-0,68	1389	S_1527	-0,88	1421	S_1207	-1,27
1358	S_150	-0,68	1390	S_592	-0,89	1422	S_591	-1,29
1359	S_620	-0,68	1391	S_258	-0,9	1423	S_1625	-1,29
1360	S_259	-0,69	1392	S_1419	-0,91	1424	S_1192	-1,3
1361	S_1206	-0,69				1425	S_1661	-1,31

1426	S_732	-1,34	1458	S_712	-1,76	1490	S_1454	-2,32
1427	S_848	-1,35	1459	S_985	-1,76	1491	S_233	-2,33
1428	S_223	-1,37	1460	S_1489	-1,76	1492	S_1706	-2,37
1429	S_741	-1,37	1461	S_1459	-1,79	1493	S_1735	-2,38
1430	S_857	-1,37	1462	S_465	-1,85	1494	S_15	-2,39
1431	S_24	-1,38	1463	S_1581	-1,85	1495	S_1328	-2,39
1432	S_1304	-1,39	1464	S_374	-1,88	1496	S_1103	-2,4
1433	S_460	-1,41	1465	S_1455	-1,88	1497	S_918	-2,42
1434	S_1795	-1,41	1466	S_836	-1,91	1498	S_1576	-2,43
1435	S_1516	-1,42	1467	S_856	-1,93	1499	S_157	-2,44
1436	S_1659	-1,42	1468	S_1529	-1,97	1500	S_993	-2,44
1437	S_1281	-1,44	1469	S_1518	-1,98	1501	S_165	-2,45
1438	S_1687	-1,46	1470	S_1653	-1,98	1502	S_1506	-2,45
1439	S_1133	-1,47	1471	S_1651	-1,99	1503	S_400	-2,46
1440	S_54	-1,48	1472	S_1802	-2	1504	S_1724	-2,48
1441	S_802	-1,5	1473	S_373	-2,01	1505	S_262	-2,49
1442	S_1478	-1,5	1474	S_1558	-2,01	1506	S_1070	-2,51
1443	S_1439	-1,54	1475	S_599	-2,02	1507	S_496	-2,55
1444	S_595	-1,55	1476	S_1471	-2,06	1508	S_724	-2,56
1445	S_422	-1,56	1477	S_976	-2,08	1509	S_329	-2,57
1446	S_385	-1,57	1478	S_1302	-2,1	1510	S_1047	-2,57
1447	S_1185	-1,6	1479	S_771	-2,15	1511	S_1173	-2,57
1448	S_272	-1,61	1480	S_1141	-2,18	1512	S_5	-2,58
1449	S_1715	-1,62	1481	S_11	-2,19	1513	S_560	-2,58
1450	S_26	-1,63	1482	S_1742	-2,2	1514	S_586	-2,59
1451	S_79	-1,68	1483	S_1053	-2,22	1515	S_1525	-2,62
1452	S_1286	-1,69	1484	S_1660	-2,23	1516	S_1167	-2,63
1453	S_1644	-1,69	1485	S_1057	-2,24	1517	S_277	-2,64
1454	S_164	-1,71	1486	S_21	-2,28	1518	S_1503	-2,65
1455	S_641	-1,71	1487	S_927	-2,28	1519	S_1511	-2,65
1456	S_1263	-1,74	1488	S_1528	-2,29	1520	S_1490	-2,66
1457	S_260	-1,76	1489	S_55	-2,31	1521	S_1279	-2,74

1522	S_1577	-2,74	1554	S_872	-3,37	1586	S_598	-4,07
1523	S_452	-2,75	1555	S_1754	-3,37	1587	S_57	-4,09
1524	S_796	-2,78	1556	S_981	-3,38	1588	S_1221	-4,13
1525	S_547	-2,79	1557	S_32	-3,4	1589	S_194	-4,14
1526	S_143	-2,8	1558	S_545	-3,41	1590	S_360	-4,14
1527	S_1044	-2,8	1559	S_1315	-3,41	1591	S_596	-4,15
1528	S_1377	-2,88	1550	S_1151	-3,45	1592	S_564	-4,18
1529	S_275	-2,89	1561	S_1058	-3,46	1593	S_1458	-4,18
1530	S_1312	-2,9	1562	S_578	-3,48	1594	S_1161	-4,21
1531	S_1255	-2,95	1563	S_967	-3,49	1595	S_1227	-4,21
1532	S_810	-2,97	1564	S_795	-3,53	1596	S_18	-4,26
1533	S_456	-3,02	1565	S_1072	-3,54	1597	S_86	-4,29
1534	S_625	-3,02	1566	S_19	-3,6	1598	S_328	-4,29
1535	S_1100	-3,02	1567	S_261	-3,61	1599	S_1267	-4,32
1536	S_219	-3,04	1568	S_1278	-3,68	1600	S_821	-4,34
1537	S_616	-3,08	1569	S_56	-3,69	1601	S_891	-4,38
1538	S_276	-3,09	1570	S_1726	-3,69	1602	S_1313	-4,47
1539	S_527	-3,09	1571	S_513	-3,7	603	S_968	-4,48
1540	S_1580	-3,13	1572	S_1268	-3,71	1604	S_851	-4,54
1541	S_1683	-3,14	1573	S_1712	-3,74	1605	S_339	-4,56
1542	S_849	-3,16	1574	S_451	-3,84	1606	S_162	-4,59
1543	S_1089	-3,18	1575	S_755	-3,85	1607	S_273	-4,62
1544	S_1764	-3,18	1576	S_192	-3,86	1608	S_880	-4,64
1545	S_1561	-3,23	1577	S_1678	-3,88	1609	S_1476	-4,67
1546	S_1699	-3,26	1578	S_274	-3,9	1610	S_936	-4,69
1547	S_868	-3,29	1579	S_237	-3,91	1611	S_984	-4,7
1548	S_221	-3,3	1580	S_40	-3,92	1612	S_494	-4,71
1549	S_1056	-3,32	1581	S_1198	-3,93	1613	S_244	-4,72
1550	S_1121	-3,34	1582	S_1467	-3,94	1614	S_526	-4,73
1551	S_270	-3,35	1583	S_1270	-3,96	1615	S_894	-4,75
1552	S_287	-3,36	1584	S_1582	-4,01	1616	S_1672	-4,75
1553	S_1208	-3,36	1585	S_1297	-4,06	1617	S_1140	-4,8

1618	S_1139	-4,83	1650	S_760	-6,03	1683	S_354	-7,62
1619	S_1337	-4,84	1651	S_879	-6,09	1684	S_756	-7,63
1620	S_395	-4,92	1652	S_255	-6,14	1685	S_605	-7,67
1621	S_777	-4,99	1653	S_661	-6,16	1686	S_1003	-7,73
1622	S_686	-5,06	1654	S_355	-6,3	1687	S_1043	-7,84
1623	S_1166	-5,07	1655	S_486	-6,34	1688	S_540	-7,91
1624	S_331	-5,09	1656	S_1480	-6,35	1689	S_1475	-7,91
1625	S_1269	-5,11	1657	S_1466	-6,36	1690	S_895	-8,13
1626	S_1052	-5,12	1658	S_324	-6,39	1691	S_1615	-8,23
1627	S_565	-5,14	1659	S_1472	-6,41	1692	S_1732	-8,28
1628	S_699	-5,15	1660	S_334	-6,46	1693	S_487	-8,33
1629	S_198	-5,35	1661	S_66	-6,47	1694	S_1200	-8,33
1630	S_1628	-5,41	1662	S_193	-6,49	1695	S_1119	-8,44
1631	S_700	-5,42	1663	S_955	-6,52	1696	S_361	-8,5
1632	S_85	-5,43	1664	S_1554	-6,59	1697	S_555	-8,55
1633	S_1796	-5,46	1665	S_1216	-6,63	1698	S_885	-8,61
1634	S_507	-5,61	1666	S_1740	-6,76	1697	S_1556	-8,61
1635	S_812	-5,62	1667	S_253	-6,77	1698	S_224	-8,69
1636	S_1428	-5,62	1668	S_1	-6,78	1699	S_644	-8,7
1637	S_983	-5,63	1669	S_727	-6,79	1700	S_30	-8,91
1638	S_1590	-5,76	1670	S_1162	-6,86	1701	S_256	-9,01
1639	S_1026	-5,8	1671	S_141	-6,95	1702	S_710	-9,11
1640	S_1150	-5,81	1672	S_1573	-7,06	1703	S_1468	-9,16
1641	S_459	-5,88	1673	S_839	-7,3	1704	S_1165	-9,17
1642	S_1228	-5,9	1674	S_266	-7,36	1705	S_1698	-9,35
1643	S_1075	-5,91	1675	S_1326	-7,36	1706	S_1741	-9,45
1644	S_561	-5,95	1677	S_1557	-7,41	1707	S_1666	-9,48
1645	S_1542	-5,95	1678	S_1738	-7,53	1708	S_153	-9,51
1646	S_1685	-5,95	1679	S_1233	-7,54	1709	S_396	-9,63
1647	S_600	-5,97	1680	S_615	-7,56	1710	S_541	-9,87
1648	S_1252	-5,97	1681	S_1474	-7,56	1711	S_1753	-9,91
1649	S_807	-5,99	1682	S_376	-7,58	1712	S_1171	-10,05

1713	S_559	-10,14	1745	S_977	-13,27	1777	S_711	-18,91
1714	S_433	-10,47	1746	S_1733	-13,33	1778	S_1137	-19,1
1715	S_498	-10,59	1747	S_601	-13,43	1779	S_919	-19,2
1716	S_1361	-10,66	1748	S_1177	-13,55	1780	S_39	-20,59
1717	S_1457	-10,66	1749	S_844	-14,07	1781	S_217	-20,68
1718	S_804	-10,68	1750	S_1562	-14,15	1782	S_1066	-21,02
1719	S_602	-10,72	1751	S_889	-14,23	1783	S_142	-21,12
1720	S_934	-10,73	1752	S_761	-14,86	1784	S_146	-21,34
1721	S_508	-10,74	1753	S_1331	-14,86	1785	S_83	-21,35
1722	S_965	-10,74	1754	S_1360	-14,88	1786	S_1442	-21,37
1723	S_1734	-10,78	1755	S_1223	-15,09	1787	S_4	-21,62
1724	S_267	-10,82	1756	S_1128	-15,12	1788	S_341	-22,07
1725	S_623	-10,85	1757	S_1163	-15,27	1789	S_411	-22,1
1726	S_280	-11	1758	S_1526	-15,4	1790	S_1485	-23,39
1727	S_722	-11,33	1759	S_140	-15,47	1791	S_1391	-23,5
1728	S_770	-11,33	1760	S_905	-15,57	1792	S_1649	-23,66
1729	S_195	-11,4	1761	S_155	-15,95	1793	S_144	-24,16
1730	S_606	-11,4	1762	S_1272	-16	1794	S_69	-24,32
1731	S_1486	-11,56	1763	S_780	-16,3	1795	S_231	-26,74
1732	S_1574	-11,64	1764	S_71	-16,39	1796	S_1215	-27,23
1733	S_935	-11,65	1765	S_72	-16,45	1797	S_149	-27,81
1734	S_1665	-11,66	1766	S_622	-16,66	1798	S_401	-28,29
1735	S_196	-11,71	1767	S_87	-16,8	1799	S_461	-28,38
1736	S_23	-11,76	1768	S_269	-16,84	1800	S_1736	-28,39
1737	S_624	-11,79	1769	S_265	-17,07	1801	S_1456	-29
1738	S_82	-12	1770	S_218	-17,23	1802	S_147	-30,04
1739	S_1164	-12,06	1771	S_1019	-17,46	1803	S_1463	-31,28
1740	S_254	-12,14	1772	S_1020	-18,06	1804	S_268	-32,65
1741	S_884	-12,47	1773	S_619	-18,32	1805	S_1152	-34,53
1742	S_1354	-12,74	1774	S_1605	-18,8	1806	S_80	-40,32
1743	S_1654	-12,77	1775	S_957	-18,81	1807	S_247	-45,47
1744	S_1572	-13,19	1776	S_31	-18,83	1808	S_216	-48,48

1809	S_154	-50,15	1813	S_1739	-64,49	1817	S_747	-70,89
1810	S_152	-52,39	1814	S_70	-65,24	1818	S_680	-75,07
1811	S_1381	-54,44	1815	S_145	-67,87	1819	S_432	-251
1812	S_68	-56,71	1816	S_67	-70,34	1820	S_855	/

The background features a complex, abstract design in shades of blue and white. It includes various geometric elements such as hexagons, circles, and lines, some of which are interconnected to form a network-like structure. Several arrows point in different directions, suggesting movement or flow. A gear-like shape is also visible, adding to the technical or industrial aesthetic. The overall composition is layered and dynamic, with elements appearing to float or be part of a larger system.

Résumés

Résumé

Notre mémoire présente une méthodologie novatrice reposant sur le docking moléculaire pour l'identification de nouveaux inhibiteurs de PD-L1, une cible thérapeutique cruciale dans le traitement du cancer. En utilisant le programme Surflex, nous avons évalué la capacité de 1820 composés naturels à se lier au PD-L1, avec pour objectif de surpasser l'efficacité de l'inhibiteur de référence 8YZ. Les résultats ont révélé que les composés S_347, S_136 et S_175 se sont distingués comme les meilleurs inhibiteurs de PD-L1, avec des affinités respectives de $6,12 \text{ M}^{-1}$, $5,42 \text{ M}^{-1}$ et $5,35 \text{ M}^{-1}$.

Une analyse approfondie des interactions entre ces composés et 8YZ a révélé leur supériorité en termes de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes. De plus, les propriétés ADME des composés étudiés ont été évaluées, confirmant leur potentiel en tant qu'inhibiteurs de PD-L1, avec des caractéristiques physico-chimiques et pharmacocinétiques favorables

Mots clés : PD-L1, cancer, Surflex, docking moléculaire, inhibiteur, EANPDB.

Abstract

Our thesis presents an innovative methodology based on molecular docking for the identification of new PD-L1 inhibitors, a crucial therapeutic target in cancer treatment. Using the Surflex program, we evaluated the binding capacity of 1,820 natural compounds to PD-L1, aiming to surpass the effectiveness of the reference inhibitor 8YZ. The results revealed that the compounds S_347, S_136, and S_175 stood out as the best PD-L1 inhibitors, with respective affinities of 6.12 M^{-1} , 5.42 M^{-1} , and 5.35 M^{-1} .

An in-depth analysis of the interactions between these compounds and 8YZ revealed their superiority in terms of hydrogen bonding and hydrophobic interactions. Additionally, the ADME properties of the studied compounds were evaluated, confirming their potential as PD-L1 inhibitors with favorable physicochemical and pharmacokinetic characteristics.

Key words: PD-L1, cancer, Surflex, molecular docking, inhibitor, EANPDB.

ملخص

تقدم مذكرتنا منهجية مبتكرة تعتمد على اللقاح الجزيئي لتحديد مثبطات جديدة لبروتين PD-L1 ، وهو هدف علاجي حاسم في علاج السرطان. باستخدام برنامج Surflex ، قمنا بتقييم قدرة 1820 مركب طبيعي على الربط بـ PD-L1 ، بهدف تجاوز آلية المثبط المرجعي YZ. 8 أظهرت النتائج أن المركبات S_347 ، S_136 ، و S_175 تميزت كأفضل مثبطات لـ PD-L1 ، بتفاعلات لكل منها بقيمة تصل إلى M-16.12 ، M-1 5.42 ، و M-1 5.35 على التوالي. أظهر تحليل متصل للتفاعلات بين هذه و YZ تنبؤها من حيث الروابط الهيدروجينية والتفاعلات المركبات الهيدرونبوية. بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم خصائص ADME للمركبات المدروسة، مما يؤكد إمكانية استخدامها كمثبطات لـ PD-L1 ، بخصائص تميزها بزيادة وصيدالوجية حوائية.

الكلمات الرئيسية: PD-L1 : السرطان ، Surflex ، اللقاح الجزيئي، مثبط. EANPDB.

Année universitaire : 2023-2024

**Présenté par : BOUTOUT Nouseiba
DIB Fedoua**

**Exploration des molécules naturelles pour l'inhibition de PD-L1 dans le traitement du cancer :
Approche par docking moléculaire**

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

Résumé

Notre mémoire présente une méthodologie novatrice reposant sur le docking moléculaire pour l'identification de nouveaux inhibiteurs de PD-L1, une cible thérapeutique cruciale dans le traitement du cancer. En utilisant le programme Surflex, nous avons évalué la capacité de 1820 composés naturels à se lier au PD-L1, avec pour objectif de surpasser l'efficacité de l'inhibiteur de référence 8YZ. Les résultats ont révélé que les composés S_347, S_136 et S_175 se sont distingués comme les meilleurs inhibiteurs de PD-L1, avec des affinités respectives de 6,12 M⁻¹, 5,42 M⁻¹ et 5,35 M⁻¹. Une analyse approfondie des interactions entre ces composés et 8YZ a révélé leur supériorité en termes de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes. De plus, les propriétés ADME des composés étudiés ont été évaluées, confirmant leur potentiel en tant qu'inhibiteurs de PD-L1, avec des caractéristiques physico-chimiques et pharmacocinétiques favorables.

Mots-clés : PD-L1, cancer, Surflex, docking moléculaire, inhibiteur, EANPDB.

Laboratoires de recherche : laboratoire de Biochimie appliquée (U Constantine 1 Frères Mentouri).

Président du jury : Mr. MOKRANI E.H. (MCA-U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : M^{me} GUENDOZ A. (MCB- U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examineur(s) : M^{me} TENIOU S. (MCB- UConstantine 1 Frères Mentouri),