



**République Algérienne Démocratique Et populaire**

**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE CONSTANTINE 1**

**Faculté des sciences de la nature et de la vie**

**Département de Biochimie – Biologie Moléculaire et cellulaire**

N° d'ordre :

N° de Série :

**Mémoire**

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master 2 en Biochimie  
Option : Biochimie Moléculaire et Santé

**Thème**

**Contribution à l'amélioration de l'activité  
biologique des alcaloïdes dans l'inhibition  
de la télomérase par docking moléculaire**

**Présenté par :**

Abdallah Chaouche Med Larbi

Soutenu le : 23 /06/2014

**Devant le jury :**

**Président :** Mr: Bensegni A.

Pr. Université de Constantine 1

**Encadreur :** M<sup>me</sup>. Teniou S.

M.A.B. Université de Constantine 1

**Examineur :** Mokrani El.

M.A.B. Université de Constantine 1

**Promotion**

**2013/2014**

# Remerciements

*Tout d'abord, je remercie **DIEU** de m'avoir accordé la santé et les moyens de réaliser ce travail.*

*J'exprime ma sincère gratitude à Madame **TENIOU SOUMIA** pour sa précieuse et honorable aide dans l'orientation et la direction de ce travail.*

*J'adresse mes respectueux remerciements à Monsieur le Docteur **BENSEGUENI Abderrahmane**, qui ma fait l'honneur d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Je remercie vivement Monsieur **MOKRANI El-Hassen**, qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de mémoire.*

*Mes remerciements bien sur à tous nos amis de la promotion pour leur sympathie et leurs soutien moral.*

*Je tiens sincèrement à remercier toute personne ayant collaboré de loin ou de prés a réalisé ce travail.*

**Sincères remerciements.**

# Dédicaces

Je dédie humblement ce manuscrit à :

A celle qui s'est toujours dévouée et sacrifiée pour moi ; celle qui m'a aidée du mieux qu'elle pouvait pour réussir ; celle qui m'a accompagnée tout au long de ce parcours Périlleux ; celle qui a toujours été là dans mes moments de détresse, **ma très chère Mère.**

A celui qui m'a toujours encouragée et soutenue moralement, **mon très cher père.**

A **ma très chère sœur Lina** et à **mon très cher frère Soheib** qui m'ont énormément aidée et à qui je témoigne mon affection et ma profonde reconnaissance.

**A ma grande mère et grand père** que dieu les garde.

A tous mes oncles et tantes, cousins et cousines

A mes meilleures amis : **Mouad, Doudi, Minou, Lokmen, Affef, Lamia, Wafa, Ratiba**

A mes collègues de la section Biochimie Moléculaire et Santé

A toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce projet

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Partie bibliographique</b>	
I. Cancer.....	3
1. Epidémiologie.....	3
2. Les facteurs de risque.....	5
2.1. Les facteurs de l'environnement.....	5
2.2. Les facteurs liés au mode de vie.....	6
3. Traitements.....	6
3.1. Les traitements locorégionaux.....	6
3.2. Les traitements systémiques.....	7
II. Télomérase.....	9
1. Définition.....	9
2. Structure.....	9
3. Le mode d'action.....	10
4. Les inhibiteurs de la télomérase.....	11
4.1. Stratégies d'inhibition de la télomérase.....	11
III. Les alcaloïdes.....	12
1. Généralité.....	12
IV. Docking moléculaire.....	15
1. Les interactions moléculaire.....	15
1.1. Les forces de Van Der Waals.....	15
1.2. La liaison hydrogène.....	15
1.3. Les interactions hydrophobes.....	16
1.4. Les interactions électrostatiques.....	16
2. Docking moléculaire (amarrage).....	17
2.1. Le principe de docking moléculaire.....	18
2.2. Les différents types de docking.....	18
3. Le processus de docking.....	18
3.1. Principe.....	18

3.2. Familles de fonction de score.....	19
4. Le programme de docking moléculaire Surflex.....	19

## **Partie Pratique**

I. Matériel et méthodes.....	21
1. Matériels.....	21
1.1. Les programme utilisés.....	21
2. Méthode.....	21
2.1. Préparation de la Protéine.....	21
2.2. Préparation des alcaloïdes.....	22
2.3. Docking .....	22
II. Résultats et discussion.....	23
1. Test de fiabilité du programme Surflex.....	23
2. L'analyse visuelle.....	24
3. Etude d'interaction.....	28
4. Substitution.....	34
5. Règle de Lipinski.....	37
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>39</b>

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1 :</b> Incidence de cancer en Algérie de 1996 à 2000 comparées aux données de Globocan 2000.....	4
<b>Tableau 2:</b> Valeurs du RMSD des six complexes protéines-ligand.....	24
<b>Tableau 3 :</b> Résultats théorique de l'affinité obtenue par docking des alcaloïdes dans le site actif de la télomérase et leurs relations avec les données expérimentales (IC <sub>50</sub> ).....	29
<b>Tableau 4 :</b> Critères de la règle de Lipinski.....	37

## Listes des figures

<b>Figure 1</b> : Les six altérations physiologiques de la cellule conduisant à la formation de cellules Cancéreuses (Hanahan & Weinberg, 2000).....	3
<b>Figure 2</b> : structure de la télomérase.....	9
<b>Figure 3</b> : Action de la télomérase humaine.....	10
<b>Figure 4</b> : Stratégies d'inhibition de la télomérase.....	11
<b>Figure 5</b> : les principaux cycles azotés des alcaloïdes.....	13
<b>Figure 6</b> : figure représente les dérivés des acridines : « Groupes (NR <sub>2</sub> ) fixé aux substituant amidoalkyle selon les travaux du R. John Harrison et al ».....	14
<b>Figure 7</b> : Interaction de Van Der Waals.....	15
<b>Figure 8</b> : La liaison hydrogène.....	16
<b>Figure 9</b> : Interaction Hydrophobes.....	16
<b>Figure 10</b> : Interaction électrostatiques.....	16
<b>Figure 11</b> : Représentation schématique du docking de deux molécules. (a) Molécules de Départ. (b) Complexe moléculaire.....	17
<b>Figure 12</b> : Résultats en % obtenus par SurfleX à deux intervalles de RMSD (A°).....	23
<b>Figure13</b> : Superposition du ligand donné (2BL) par rayon-X (coloré par type d'atome) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec SurfleX.....	25
<b>Figure 14</b> : superposition du ligand donné (EDM) par rayon-X (coloré par type d'atome) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec SurfleX.....	25

<b>Figure 15</b> : superposition du ligand donnée (UC1) par rayon-X (coloré par type d'atome) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec Surfex.....	26
<b>Figure 16</b> : superposition du ligand donnée (IM1) par rayon-X (coloré par type d'atome) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec Surfex.....	26
<b>Figure 17</b> : superposition du ligand donnée (MMO) par rayon-X (coloré par type d'atome) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec Surfex.....	27
<b>Figure18</b> : superposition du ligand (M22) par rayon-X (coloré par type d'atome) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec Surfex.....	27
<b>Figure 19</b> : Mode de liaison du composé 12 avec le site actif de la télomérase.....	31
<b>Figure 20</b> : Mode de liaison du composé 11 avec le site actif de la télomérase.....	32
<b>Figure 21</b> : Mode de liaison du composé 7 avec le site actif de la télomérase.....	32
<b>Figure 22</b> : Mode de liaison du composé 17 avec le site actif de la télomérase.....	33
<b>Figure 23</b> : Mode de liaison du composé 16 avec le site actif de la télomérase.....	33
<b>Figure 24</b> : structure du Composé 12.....	34
<b>Figure 25</b> : structure du nouveau dérivé.....	34
<b>Figure 26</b> : Résultat de l'affinité du nouveau dérivé des acridines donné par le programme Surfex.....	35
<b>Figure 27</b> : Mode de liaison entre le composé substitué et le site actif de la télomérase.....	36



## *Liste des abréviations*

**ADME:** Absorption, Digestion, Métabolisme, Excrétion.

**G4:** G-quadruplexe.

**hTERT:** *human TElomerase Reverse Transcriptase.*

**hTR:** *human TelomeraseRNA.*

**hTERC:** *human telomerase RNA component.*

**IC<sub>50</sub>:** Concentration inhibition à 50%.

**PDB:** *Protéine Data Bank.*

**PM :** poids moléculaire

**RMN :** Résonance magnétique nucléaire.

**RMSD:** *Root Mean Square Deviation.*

# Introduction

## Introduction

Le cancer est une maladie chronique multifactorielle. De nombreux facteurs génétiques, hormonaux, environnementaux (l'alimentation, le tabac, le rayonnement solaire et l'exposition professionnelle) peuvent concourir au développement du cancer et agir à différentes phases de la cancérogenèse [1].

L'Algérie est parmi les premiers pays de l'Afrique et du monde arabe qui détiennent un chiffre record des personnes atteintes de cancer. En effet, elle enregistre annuellement 30 000 nouveaux cas de différents types de cancer, soit une augmentation de 50% par rapport à l'année 2000 [2].

Les alcaloïdes sont parmi les plus importants groupes de produits naturels, en raison de leurs propriétés biologiques et de leur diversité structurale [3]. Dans le cas du cancer, les alcaloïdes agissent comme inhibiteurs de la télomérase [4, 5, 6, 7], enzyme joue un rôle clé dans le cycle de vie de la cellule.

L'interaction entre une protéine et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. Comprendre son mode de fonctionnement et définir quels sont les résidus mis en jeu, est donc primordial pour pouvoir expliquer les mécanismes qui influent sur l'affinité entre deux molécules. De même, la découverte de nouvelles drogues activant ou inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective. C'est dans ce but que des techniques de modélisations moléculaires, regroupées sous le nom "amarrage" ou "docking" moléculaire ont été développées [8].

Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales *in vitro* [9].

C'est dans ce même contexte que s'inscrit notre travail de recherche sur les alcaloïdes en tant qu'inhibiteurs de la télomérase. En faisant appel aux méthodes de modélisation par docking moléculaire, nous avons pu élucider les mécanismes d'interactions de ces substances et contribuer au développement d'une nouvelle molécule théorique plus puissante de la télomérase.

Pour atteindre ces objectifs, il était primordial de réaliser le travail en cinq étapes :

- Tester la fiabilité du programme de docking moléculaire "Surflex" utilisé dans cette étude. Nous nous sommes servis du RMSD (*Root Mean Square Deviation*) où critère de déviation de la structure du ligand calculée par le programme par rapport à sa conformation donnée par diffraction des rayons X. Le test a été réalisé sur 120 complexes pris de la Protéine Data Bank "PDB".
- Calculer les affinités des interactions entre les alcaloïdes et la télomérase.
- Mettre en évidence les différents types de liaisons impliqués dans la formation des complexes alcaloïdes-télomérase.
- Proposer une nouvelle structure moléculaire inhibant plus fortement la télomérase.
- Etudier *in silico* les propriétés biologiques ADME d'hypothèse structurale précédent.

# Etude Bibliographique

## I. Cancer :

Il est admis que le cancer dérive d'une succession d'anomalies dans le génome. L'initiation du processus néoplasique est due à une mutation initiale située dans un oncogène, dans un gène suppresseur de tumeur ou d'autres gènes impliqués dans la croissance et la prolifération cellulaire [10]. La protéine mutée résultante, dite oncoprotéine, confère alors un avantage sélectif à la cellule qui prolifère de façon clonale [11].

Les cellules sont génétiquement instables et se multiplient en accumulant des anomalies génétiques et chromosomiques.

Hanahan et Weinberg ont proposé six altérations nécessaires à la croissance tumorale [12], selon les auteurs, ces altérations sont caractéristiques de la plupart des types de cancer mais les mécanismes et l'ordre chronologique d'apparition varient selon les cancers. Ces différentes altérations physiologiques sont représentées sur la figure 1.



**Figure 1** : Les six altérations physiologiques de la cellule conduisant à la formation de cellules Cancéreuses (Hanahan & Weinberg, 2000).

### 1. Epidémiologie :

Le cancer est une cause majeure de décès dans le monde, à l'origine de 7.4 millions de décès en 2004, soit 13% de la mortalité mondiale. D'après les projections, leur nombre devrait augmenter pour atteindre, 12 millions en 2030 à l'échelle mondiale [13].

L'Algérie est parmi les premiers pays de l'Afrique et du monde arabe qui détiennent un chiffre record des personnes atteintes de cancer. En effet, elle enregistre annuellement 30 000 nouveaux cas de différents types de cancer, soit une augmentation de 50% par rapport à l'année 2000[14]. Entre 1996 et 2000, 3472 nouveaux cas de cancer, toutes localisations confondues, ont été enregistrés à travers la wilaya de Sétif avec 1747 cas de sexe masculin et 1725 du sexe féminin donnant un nombre annuel moyen de 350 cas chez les hommes et de 345 cas chez les femmes.

Les estimations de l'organisation mondiale de la santé pour l'année 2000 donnent des chiffres qui se rapprochent plus ou moins de ceux du registre d'Alger. Cependant, on note une surestimation pour celui d'Oran et une sous-estimation pour celui de Sétif, et ceux-là pour les deux sexes [15].

Registre		Oran	Alger	Sétif	Globogon2000
Nombre de cas	Homme	659	1199	350	12386
	Femme	692	1111	345	13518
Taux brut	Homme	103 .5	94.3	53.2	77 .7
	Femme	109.6	88.4	53 .7	86.9
T S A	Homme	138.7	117.8	88.5	128.3
	Femme	130	103.1	81.1	124.7

**TSA:** taux standardisé selon l'âge.

**Tableau 1:** Incidence de cancer en Algérie de 1996 à 2000 comparées aux données de Globogon 2000 [16, 17, 18, 19].

## 2. Les facteurs de risque :

Les facteurs de risques du cancer peuvent être classés en deux catégories :

### 2.1. Les facteurs de l'environnement :

Les agents de l'environnement ont un rôle essentiel dans le développement des cancers acquis. Plusieurs types d'agents ont été incriminés :

#### - Les radiations :

Certains cancers sont beaucoup plus répandus chez les sujets exposés aux radiations atomiques, ou aux rayons X [20].

#### - Les produits chimiques :

De nombreuses substances sont considérées comme cancérogènes. Des associations ont été mises en évidence entre :

- \* Goudrons et cancers de la peau, du poumon et de la vessie.
- \* Arsenic et cancers de la peau, du poumon et du foie (angiosarcome).
- \* Pétrole et cancer de la peau.
- \* Nickel et cancers des os de la face, du poumon
- \* Chlorure de vinyle monomère et angiosarcome du foie [21].

#### - Les virus :

La responsabilité des virus a été prouvée dans certaines variétés de cancer

- \* Le virus Epstein-Barr est impliqué dans le lymphome de Burkitt et dans le cancer du nasopharynx.
- \* Certains papillomavirus, les numéros 16 et 18 surtout, augmentent le risque de cancer du col utérin.
- \* Les virus des hépatites B et C favorisent le cancer du foie [22, 23, 24].



## 2.2. Les facteurs liés au mode de vie :

### - Le surpoids, l'obésité :

L'augmentation de la corpulence est associée à une augmentation du risque de plusieurs cancers : œsophage, endomètre, rein, côlon-rectum, pancréas, sein (après la ménopause) et vésicule biliaire [25].

### - Le tabagisme :

Il est depuis longtemps admis que le tabagisme est une cause importante de cancers et qu'il explique environ 30% des cas de cancers et des décès par cancers. L'exposition à la fumée du tabac augmente le risque de plusieurs types de cancer, notamment le cancer de la vessie, du col de l'utérus, du colon et du rectum, de l'œsophage, du rein, du larynx, du poumon, de la cavité buccale et pancréas [26].

### - Les habitudes alimentaires :

Il est plus que probable que l'alimentation est également hautement responsable du développement de certains cancers. L'influence de l'alimentation est encore mal connue et la législation dans ce domaine quasi nulle, même si les travaux scientifiques pointant sa responsabilité partielle sont de plus en plus nombreux et dans certains cas concordants. Une certitude au moins, des effets importants sur notre santé sont liés à nos modes de vie, nos déséquilibres alimentaires, notre surcharge pondérale [27].

## 3. Traitements :

Pour traiter les cancers, il existe deux grands types de traitements. Les traitements Locorégionaux qui agit directement sur la tumeur, et les traitements systémiques qui ne sont pas ciblés. Les différents traitements sont généralement couplés [30].

### 3.1. Les traitements locorégionaux :

#### 3.1.1. La chirurgie :

La chirurgie a été le premier traitement utilisé pour lutter contre le cancer, notamment pour traiter les petites tumeurs localisées ou les tumeurs solides à développement lent qui représentent 70% des cancers.

Elle consiste en l'ablation de la tumeur et est souvent associée à d'autres thérapies telles que la chimiothérapie, la radiothérapie ou l'hormonothérapie. Ce traitement est le seul moyen de traiter les zones peu vascularisées où la chimiothérapie n'accède pas [30].

### **3.1.2. La radiothérapie :**

L'alternative à la chirurgie, lorsque l'organe atteint doit être préservé, est la radiothérapie. La radiothérapie agit localement sur la région irradiée. Tous les types de radiothérapie sont basés sur l'ionisation. Il existe différents types de radiothérapie :

- La radiothérapie transcutanée : ce traitement est basé sur un générateur de rayonnement qui se situe en dehors du corps. Les faisceaux de radiations émis par ce générateur traitent la tumeur.
- L'irradiation interstitielle ou curiethérapie : cette technique consiste à implanter temporairement dans la tumeur ou à proximité des sources radioactives.
- La radiothérapie métabolique : cette méthode repose sur l'utilisation de molécules à pouvoir ionisant se fixant sélectivement sur la tumeur. La molécule est injectée dans l'organisme [30].

## **4.2. Les traitements systémiques :**

### **4.2.1 L'hormonothérapie :**

Certains cancers sont hormono-dépendants. Le but des traitements hormonaux sera d'empêcher l'action ou la production de ces hormones. Il y a essentiellement deux cancers hormono-dépendants: le cancer du sein et de la prostate [28].

### **4.2.2. L'immunothérapie :**

L'approche immunothérapeutique est basée sur la modification et l'exploitation des mécanismes cellulaires de défense de l'hôte ou sur le contrôle de la régulation de la prolifération et de la différenciation des cellules du système immunitaire [30].

### **4.2.3. La chimiothérapie :**

La chimiothérapie isolée n'est indiquée que dans de très rares cas. Dans la plupart des cas une combinaison de deux ou de trois approches est nécessaire [29].

Lorsque le cancer prolifère et crée des tumeurs secondaires, les traitements locaux tels que la radiothérapie et la chirurgie ne sont plus adaptés. La chimiothérapie est utilisée afin de

soigner un cancer en bloquant la prolifération cellulaire, en réduisant la taille de la tumeur, et en prévenant la formation des tumeurs secondaires [30].

Les principaux agents chimio-thérapeutiques utilisés actuellement peuvent être regroupés en trois catégories selon leur mode d'action [31] :

- les premiers perturbent la synthèse d'ADN.
- les seconds introduisent des dommages à l'ADN.
- les troisièmes inhibent les fonctions du fuseau mitotique.

L'ADN et les microtubules sont donc les deux cibles essentielles des agents chimio-thérapeutiques. Plusieurs dizaines de composés naturels ou synthétiques sont utilisés en chimiothérapie anticancéreuse. Parmi ces agents, plus de 60% sont soit directement isolés de sources naturelles, soit dérivés de produits naturels après modification chimique ou encore entièrement synthétiques mais dont la structure est inspirée de produits naturels.

La diversité des agents utilisés en chimiothérapie anticancéreuse a permis d'augmenter le nombre de rémission et également leur durée mais les traitements restent lourds, difficiles à supporter et présentent de nombreux effets secondaires. C'est pourquoi il est important de trouver de nouvelles molécules plus sélectives sur certains types de cancers.

Ces dernières années, l'évolution des connaissances a permis de comprendre de manière plus approfondie le mécanisme d'action de médicaments déjà utilisés et ainsi, d'envisager de nouvelles perspectives thérapeutiques [32].

Parmi les différents agents thérapeutiques les inhibiteurs de la télomérase retiennent d'avantage notre attention. En effet les nombreux rôles exécutés par la télomérase en font des cibles privilégiées de certains médicaments déjà utilisés comme antitumoraux et qui agissent en inhibant l'activité de ces enzymes [33,34]. Ceci révèle l'importance d'approfondir l'étude biochimique de cette enzyme en passant par une meilleure connaissance de leur mécanisme d'action afin de contribuer au développement *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la télomérase.

## II. Téломérase :

### 1. Définition :

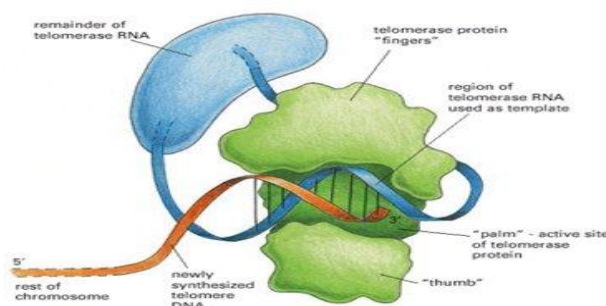
Une enzyme particulière, la téломérase, découverte en 1985 chez les ciliés et clonée chez l'homme beaucoup plus récemment est capable de compenser le raccourcissement des téломères par la synthèse de répétitions Téломériques. La téломérase est une transcriptase inverse. Elle est exprimée dans presque toutes les cellules tumorales (90%), mais elle est inactive dans la plupart des cellules somatiques normales[35], qui permet de rallonger les extrémités téломériques par addition de séquences spécifiques répétées, et ainsi de limiter leur érosion au cours des divisions cellulaires, cette enzyme catalyse la réaction qui produit l'addition de la séquence répétée de nucléotides spécifique aux téломères (TTAGGG). Elle répare donc les téломères et permet de conserver leur longueur [36].

### 2. Structure :

La téломérase humaine est une ribonucléoprotéine composée d'une sous-unité catalytique à activité transcriptase inverse, hTERT (*human TElomerase Reverse Transcriptase*), et d'une sous-unité ribonucléique composée d'une matrice d'ARN, hTR (ou hTER pour *human TelomeraseRNA*) ou hTERC (*human telomerase RNA component*), permettant l'addition de séquences TTAGGG à l'extrémité 3' du téломère [37].

- La sous-unité protéique ou TERT (*telomerase reverse transcriptase*) : c'est une enzyme à activité, ADN-polymérase qui assure la synthèse de la séquence téломérique en utilisant l'autre sous-unité ARN.

- La sous-unité ARN ou hTERC (*telomerase ARN component*) : c'est un ARN structuré de plusieurs centaines de nucléotides comportant plusieurs régions en tige et boucles. Une de ces boucles contient la séquence qui sert de matrice à la répétition téломérique.



**Figure 2** : structure de la téломérase.

### 3. Le Mode d'action :

La téломérase est une transcriptase réverse spécialisée (figure 3). Qui maintient les structures de protection aux extrémités des chromosomes eucaryotes, appelé téломères. Dans la plupart des cellules somatiques humaines, l'expression de la téломérase est réprimée, et les téломères se raccourcissent progressivement à chaque division cellulaire. En revanche, la plupart des tumeurs humaines expriment la téломérase, ce qui stabilisé la longueur des téломères. Ces observations indiquent que le maintien des téломères est essentiel à la prolifération des cellules tumorales. Nous montrons ici que L'expression d'une sous-unité catalytique mutant de résultats d'une téломérase humaine dans l'inhibition complète de l'activité de la téломérase, la réduction de la longueur des téломères et de la mort des cellules tumorales. En outre, l'expression de ce mutant téломérase éliminé tumorigène *in vivo*. Ces observations démontrent que la perturbation de maintien des téломères limite la durée de vie cellulaire dans les cellules cancéreuses humaines, validant ainsi la transcriptase inverse de la téломérase humaine comme une cible importante pour le développement de thérapies antinéoplasiques [38].

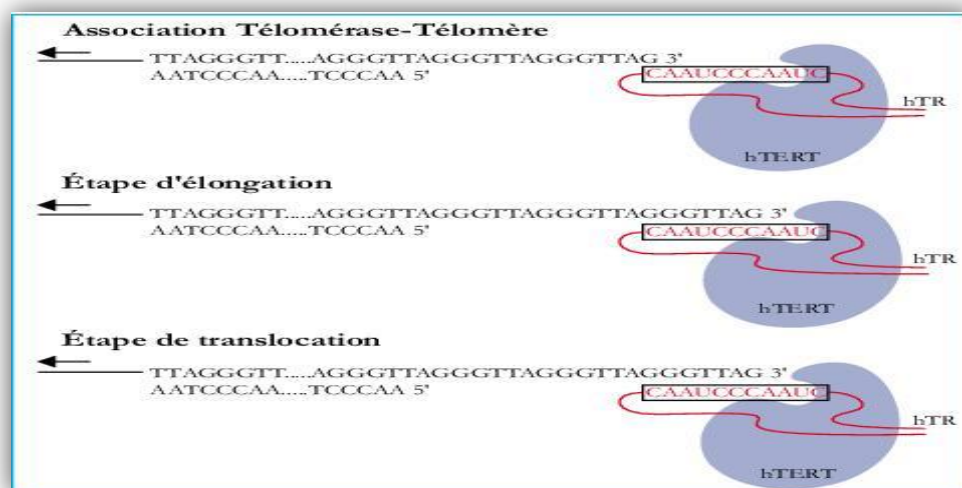


Figure 3 : Action de la téломérase humaine.

### 4. Les inhibiteurs de la téломérase :

La téломérase représente une cible pour les traitements anticancéreux puisqu'elle est exprimée de manière quasi ubiquitaire dans les cellules cancéreuses et qu'elle est absente de

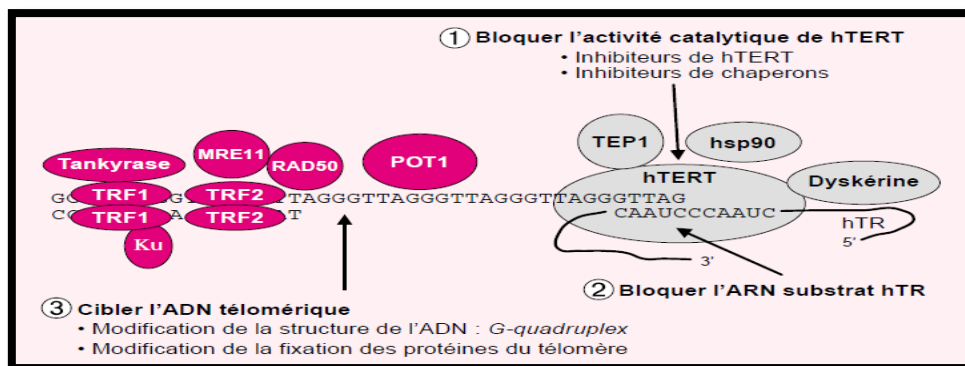
la plupart des cellules normales [40]. Son inhibition pourrait entraîner un arrêt de proliférations selon un processus analogue à la sénescence réplivative ou bien à la crise.

D’ores et déjà, de nombreuses drogues (Cisplatine, inhibiteurs des transcriptases inverses) ou systèmes d’inhibition (anti-sens) ont permis une diminution significative de l’activité télomérasique dans les lignées cellulaires immortalisées. D’une façon générale, l’inhibition de l’activité télomérasique est accompagnée d’une diminution de la taille des télomères qui aboutit à terme à l’apparition de phénomène de sénescence et/ou à une mort par apoptose [41]. *In vivo*, peu d’essais chez l’animal ont été réalisés jusqu’à présent [42, 43]. Plus récemment, certaines équipes ont cherché à inhiber la télomérase grâce à des molécules qui stabilisent les structures G-quadruplexes présentes au niveau des télomères [44, 45, 46, 47]. En effet, la stabilisation des structures G4 empêche la fixation de la télomérase sur l’ADN télomérique et ainsi son activité enzymatique.

**4.1. Stratégies d’inhibition de la télomérase :**

Différentes stratégies sont développées afin d’inhiber l’activité de la télomérase (figure 4) :

- 1- L’inactivation de la sous-unité catalytique en inhibant directement hTERT ou les protéines chaperons
- 2- Le blocage de l’ARN substrat, hTR, par des oligonucléotides antisens
- 3- Le ciblage du télomère, soit en modifiant la structure de l’ADN télomérique (G-quadruplex), soit en s’attaquant aux protéines associées au télomère [48].



**Figure 4 :** Stratégies d’inhibition de la télomérase.

Les inhibiteurs de la télomérase occupent une place très importante dans la lutte contre le cancer. Cependant les effets secondaires et de résistances posent des problèmes majeurs [49], auxquels il faut faire face à chaque fois. Ace titre, nous avons orienté nos travaux de recherche sur les substances naturelles issues du métabolisme secondaire des végétaux, les alcaloïdes en particulier.

### III. Les alcaloïdes :

#### 1. Généralités :

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Depuis l'identification du premier alcaloïde - à savoir la morphine - à partir de l'opium en 1806[50], plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés des plantes [51].

Les alcaloïdes sont principalement extraits des plantes fleurissantes, mais on les trouve également chez quelques animaux comme les fourmis, les grenouilles et les coccinelles [52, 53, 54].

Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques, la plupart du temps à partir des acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane [55, 56].

Selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes.

- des phénylalanines: capsaïcine du piment, colchicine du colchique;
- des alcaloïdes isoquinoléïques : morphine, éthylmorphine, codéïne et papavérine contenues dans l'opium du pavot; et des alcaloïdes indoliques: ergométrine, ergotamine, ergotoxine de l'ergot des céréales;
- des alcaloïdes quinoléïques : tige feuillée de la rue commune;
- des alcaloïdes pyridiques et pipéridiques : ricinine du ricin, trigonelline du fenugrec, conine (poison violent) de la ciguë;
- des alcaloïdes dérivés du tropane : scopolamine et atropine de la belladone;

- des alcaloïdes stéroïdes: racine de vétrate, douce-amère ou aconite (aconitine) par exemple. [57].

Les principaux cycles azotés des alcaloïdes sont de type : Indole (a), Quinoline (b), Isoquinoline (c), Tropane (d), Pyridine (e), quinolizidine (f), la morphine (g) et solanidine (h) (Stéroïde).

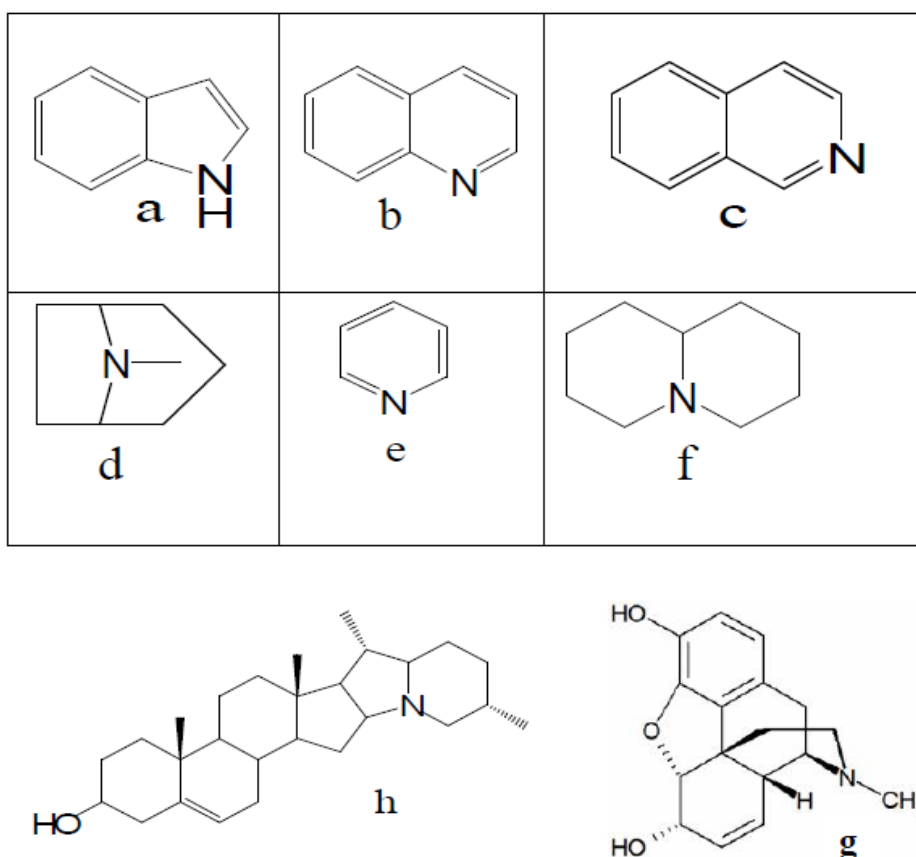
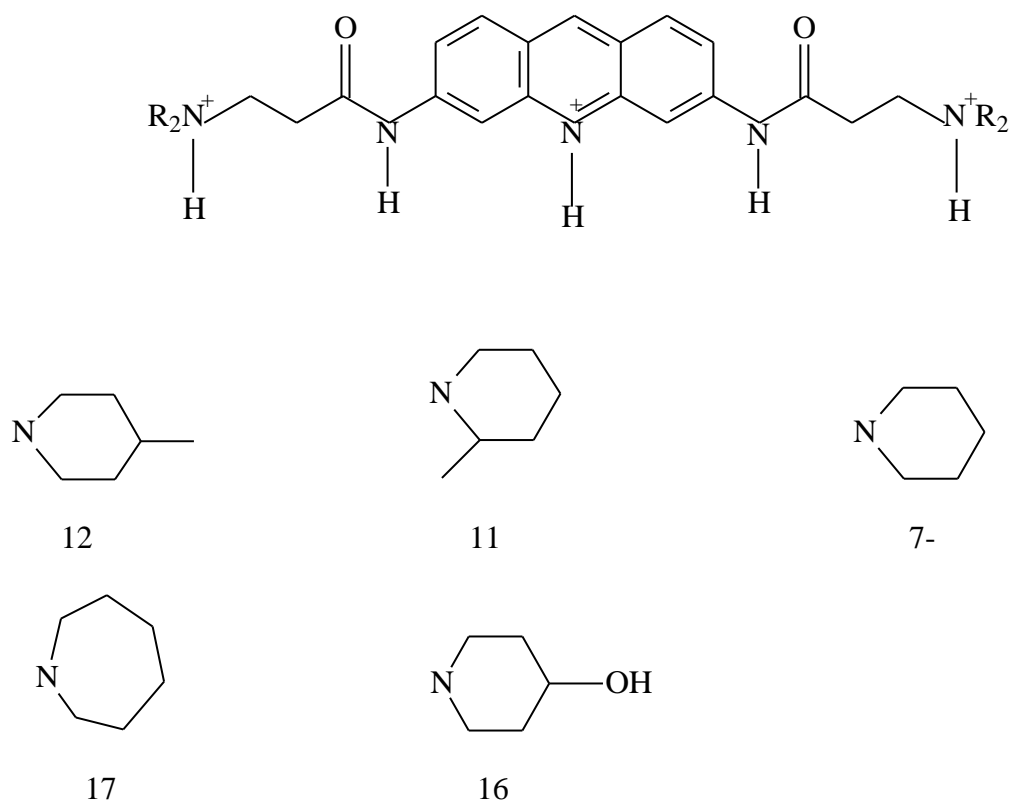


Figure 5 : les principaux cycles azotés des alcaloïdes.

Les chercheurs R. John Harrison et *al*, ont prouvés en 1999 que les alcaloïdes " acridines et ses dérivés" sont des inhibiteurs de la télomérase, par l'inactivation de la sous unité catalytique (h TERT) [58], basant sur ces travaux, nous nous sommes attachés à mieux comprendre les mécanismes mis en jeu dans l'inhibition de la télomérase par ces dérivés à l'aide des méthodes de modulation par docking moléculaire.





**Figure6 :** figure représente les dérivés des acridines : « Groupes (NR<sub>2</sub>) fixé aux substituant amidoalkyle selon les travaux du R. John Harrison et *al* [58] »

**Remarque :** nous avons gardé la même numérotation des radicaux que celle de l'article.

## IV. Docking moléculaire

### 1. Les interactions intermoléculaires :

Mises à part quelques exceptions, les atomes ne sont pas isolés dans les conditions habituelles. Ils établissent entre eux des liaisons chimiques covalentes, ou liaisons fortes, afin de former des molécules. Une particularité des molécules biologiques qui rend leur étude d'autant plus complexe est l'importance, aussi bien dans leur structure que lors d'interactions de la formation de liaisons non covalentes, ou liaisons faibles. Dans cette partie nous allons développer les liaisons chimiques faibles d'importance biologique.

Ces liaisons sont essentielles pour expliquer les propriétés des molécules biologiques. Du fait de leur faible énergie (généralement comprise entre 4 et 30 kJ/mol), elles peuvent se rompre et se rétablir très facilement à la température physiologique, permettant ainsi des interactions temporaires entre molécules [59, 60,61].

#### 1.1. Les forces de Van Der Waals :

Ces forces résultent de l'interaction des nuages électroniques d'atomes ou de molécules proches les uns des autres. Pour des atomes distants de 3-4 Å, l'énergie de liaison est seulement comprise entre 0.4 et 4 kJ/mol. Les interactions de Van der Waals sont très faibles, mais dans le cas des macromolécules, leur nombre élevé va produire au total une force importante [62, 63, 64].



**Figure 7** :Interaction de Van Der Waals.

#### 1.2. La liaison hydrogène :

Cette liaison, intervient lorsqu'un atome d'hydrogène lié par covalence à un atome électronégatif (le donneur D) est attiré par un autre atome électronégatif (l'accepteur A). Le nuage électronique de l'hydrogène est attiré par l'atome donneur qui est relativement plus électronégatif que l'atome d'hydrogène créant ainsi une charge partielle positive sur

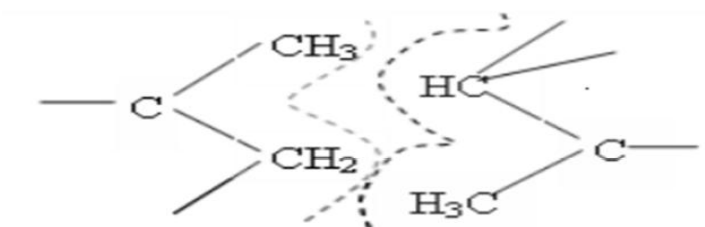
l'hydrogène. Cette charge positive est attirée par la charge partielle négative portée par l'atome accepteur donnant ainsi naissance à une interaction désignée par pont hydrogène, sa force est de l'ordre de 2 à 4 kcal/mol [65]. Elle agit, à très courte distance (0,8 à 2,8 Å). Les liaisons hydrogène sont peu nombreuses et s'adaptent très bien à la flexibilité (l'angle peut varier de 120° à 180°).



**Figure 8 :** La liaison hydrogène.

### 1.3. Les interactions hydrophobes :

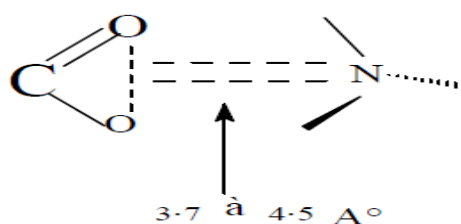
Les molécules dépourvues de groupes chargés ou d'atomes capables de former des liaisons hydrogène ne peuvent donc pas s'hydrater ; on les nomme pour cette raison substances hydrophobes. L'effet hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence de façon à minimiser les contacts avec l'eau [66].



**Figure 9 :** Interaction Hydrophobes.

### 1.4. Interactions électrostatiques :

Les interactions électrostatiques agissent à plus grande distance entre dipôles chargés. La distance pour une liaison saline, par exemple, est de 3,7 à 4,5 Å, et sa force est l'ordre de 8 Kcal/mol. En présence de solvant, ces interactions sont favorisées du fait de la polarité et de la petite taille de la molécule d'eau.

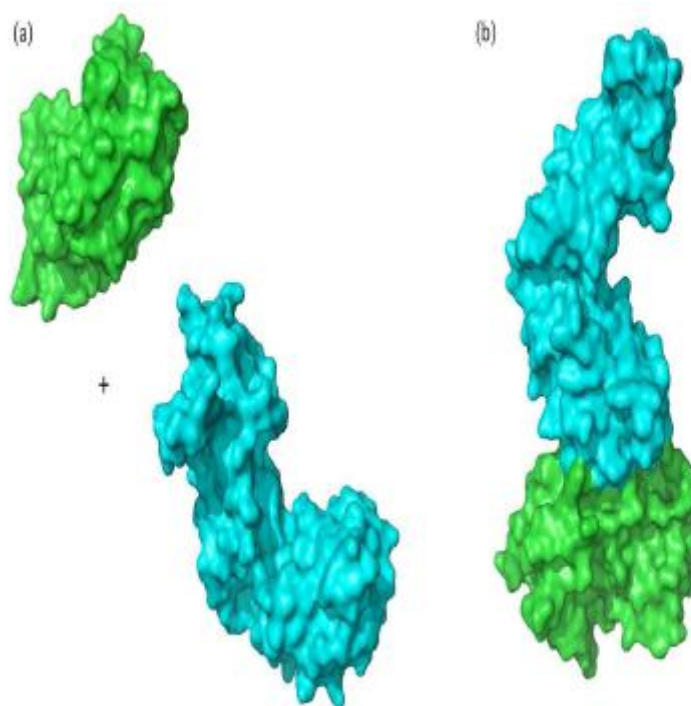


**Figure 10 :** Interaction électrostatiques.

## 2. Docking moléculaire (amarrage) :

Les interactions protéine-protéine et protéine-ligand jouent un rôle clé dans l'organisation des systèmes biologiques. Elles permettent la régulation de certains processus biologiques, la transmission des signaux ou encore la catalyse de diverses réaction biochimiques [67]. Les détails de ces interactions, au niveau moléculaire, sont donc d'un très grand intérêt et peuvent être étudiés par cristallographie aux rayons X ou résonance magnétique nucléaire (RMN). Malheureusement, ces techniques ne permettent pas de détailler la totalité de ces interactions étant donné le nombre incalculable de molécules différentes au sein d'une seule cellule.

Le docking moléculaire consiste à prédire la conformation optimale entre deux molécules afin de créer un complexe de molécules stable (figure 11). Le docking moléculaire permet soit de découvrir de nouvelles molécules (par assemblage de deux ou plusieurs molécules), soit de comprendre la nature d'un complexe de molécules obtenu par cristallographie [68].



**Figure 11** – Représentation schématique du docking de deux molécules. (a) Molécules de Départ. (b) Complexe moléculaire

### 2.1. Le principe de docking moléculaire :

Le plus important problème pour l'étape de Docking est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel. La complexité de ce problème est fonction du nombre de degrés de liberté, de translation, de rotation en plus des conformations de départ possibles du ligand. Afin d'éviter des calculs que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants, plusieurs approximations sont possibles. Les algorithmes de recherche de la flexibilité du ligand peuvent se classer en trois principes, nommés combinatoire, stochastique, et déterministe [69].

### 2.2. Les différents types de docking :

Il existe deux grands types de docking moléculaire. Le docking rigide consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéine-ligand en considérant que chacune des deux molécules conserve une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité, en interaction dans le complexe, n'est pas prise en compte. Cependant, il est tout à fait concevable que les structures de la protéine et du ligand soient modifiées durant le processus de docking moléculaire afin d'optimiser au mieux l'interaction entre les deux entités. On parle, dans ce cas, de docking flexible [70].

## 3. Le processus de scoring :

### 3.1. Principe :

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique est le suivant [71] :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}}$$

Concrètement, le score est une estimation de l'affinité entre la macromolécule et la petite molécule organique. Un score ne prédit donc en rien une activité mais bien une affinité. Un grand nombre de programmes (commerciaux ou non) de docking moléculaire sont d'ores et déjà disponibles. Parmi ceux-ci, nous citerons par exemple AUTODOCK, FLEXX, GOLD, DOCK et SURFLEX etc. Ils diffèrent les uns des autres sur la manière de représenter le système moléculaire et la manière de déterminer le score de docking (fonction de score). Deux approches sont principalement employées pour la modélisation du système protéine-ligand [69].

## 3.2. Familles de fonction de score :

Dans les programmes de docking, on trouve différents type de fonction de score :  
Celles utilisant un champ de force de mécanique moléculaire, celles reposant sur les connaissances statistiques et les méthodes empiriques.

### -Les fonctions basées sur un champ de force :

Le score est calculé en faisant la somme de l'énergie d'interaction protéine-ligand et de l'énergie interne du ligand.

### -les fonctions basées sur des connaissances statistiques :

Ces fonctions sont construites à partir de règles fondées sur l'analyse des structures tridimensionnelles de complexes ligand-protéine déterminés de manière expérimentale [70].

### -les fonctions empiriques :

Ces fonctions de score se basent sur un décompte du nombre d'interactions dans le système protéine-ligand comme par exemple le nombre de liaison hydrogène, les contacts hydrophobes, les contacts hydrophiles, les contraintes de torsion dues à la formation du complexe protéine- ligand, etc. [72]. La plupart des programmes de docking implémentent ce type de fonction de score témoignant de leur efficacité en termes de rapport précision/rapidité [70].

## 4. Le programme de docking moléculaire Surflex :

Pour réaliser le travail de recherche, nous avons utilisé le programme Surflex. Dans ce programme le docking se base sur la construction d'une pseudo-molécule comme cible sur laquelle doit s'aligner le ligand. Il s'agit de fragments de molécules placés dans le site actif de manière à occuper idéalement et de manière redondante celui-ci, à partir de critères morphologiques. Il est important de préciser que cette pseudo molécule peut être construite à partir du ligand dans le site à condition de bénéficier d'une structure, ou bien à partir du récepteur sans aucun ligand : il utilise dans ce cas 3 types de fragments CH<sub>4</sub>, C=O et N-H mais il est nécessaire de connaître l'emplacement du site actif.

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

- la première est une méthode incrémentale dite Hammerhead. Dans ce cas le programme fractionne le ligand et cherche à trouver le meilleur appariement pour chaque fragment, il essaye d'adapter les fragments à ceux de la pseudo-molécule. Les fragments ayant la plus

haute affinité sont utilisés pour reconstruire le ligand. À la différence de la recherche incrémentale de Dock il n'y a pas de recherche systématique des angles de torsion mais une étape de minimisation entre chaque ajout de fragment.

- la deuxième méthode dite "molécule entière" reprend la même étape de fractionnement que précédemment. Le changement se fait au niveau des fragments du ligand conservés. Dans la méthode Hammerhead ne sont conservés pour l'étape de docking que les meilleurs fragments qui s'alignent avec ceux de la pseudo-molécule. Ici tous les fragments sont pris en compte pour la recherche de configuration optimale du ligand [73].

Ainsi le résultat des configurations retenues pour s'apparier avec le ligand contient des molécules proches de l'alignement initial du ligand qui ont été localement modifiées par le processus de fragmentation. Les fragments de ces configurations sont évalués puis une étape de sélection et de fusion des meilleurs fragments entre configurations permet d'obtenir un « Conformère » global. Cette deuxième méthode se montre beaucoup plus rapide que la méthode Hammerhead pour des résultats au moins équivalents [69].

Partie

Pratique



## I. Matériels et méthodes :

### 1 .Matériels :

Dans cette étude, nous avons utilisé des programmes installés dans un microordinateur ayant une mémoire vive 2Go et un processeur 2,40 GHz Intel core I3.

#### 1.1. Les programmes utilisés :

**Surflex** : le docking a été réalisé en utilisant le programme Surflex1.3 [74].

**Open Babel 2.3.0** : c'est un programme utilisé pour faire la conversion des formats.

**Titan** : c'est un programme qui permet la construction de tous les groupements chimiques éventuels.

**Viewerlite 4.2** : nous avons utilisé ce programme pour la visualisation des différentes interactions formées entre les alcaloïdes étudiés et le site actif de la télomérase.

**ChemWindow** : logiciel utilisée pour dessiner les structures des alcaloïdes.

## 2. Méthode :

### 2.1. Préparation de la protéine :

*Protéine Data Bank* ou la PDB est un dépôt pour les données de structure tridimensionnelle (structure 3D) de grandes molécules biologiques telles que les protéines et les acides nucléiques . Les données, généralement obtenues par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie de RMN.

Dans notre étude nous avons utilisées le complexe « 3DU6 », ce complexe a été télécharger à partir de la PDB, au format *pdb*, les deux molécules du complexe (télomérase humaine et le ligand) ont été bien séparé dans deux fichiers différents, et ils ont été convertis du format *pdb* au format *mol2* en utilisant le programme Open Babel.

## 2.2 Préparation des alcaloïdes :

Les structures des alcaloïdes étudiés dans ce travail ont été construites avec le programme de construction moléculaire Titan, ils sont enregistrés sous format *pdb* et ensuite sont convertis en format *mol2* par le programme Open Babel.

## 2.3. Docking :

Le docking moléculaire a été réalisé en utilisant le programme Surflex 1.3 [74]. Trois étapes nécessaires pour le bon fonctionnement de ce programme :

- Identification du site actif (protomol), en utilisant la commande suivante :

```
Suflex-dock proto ligand.mol2 protéine.mol2 pl
```

- Docking du ligand :

Le docking se fait par une fragmentation du ligand, puis l'assemblage des fragments pour obtenir les meilleures conformations du ligand dans le site actif de l'enzyme.

Pour réaliser cette étape il faut utiliser la commande suivante :

```
Surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 protéine.mol2
```

- Traitement du résultat :

Les résultats pour les dix meilleurs conformères sont fournis dans un même fichier.

Chaque conformère possède trois scores :

- Le premier correspond à l'affinité.
- Le second au degré de pénétration impropre du ligand dans la protéine.
- Le troisième correspond au niveau de contribution des interactions polaires.

## II. Résultats et discussions :

### 1 .Test de fiabilité du programme Surfex :

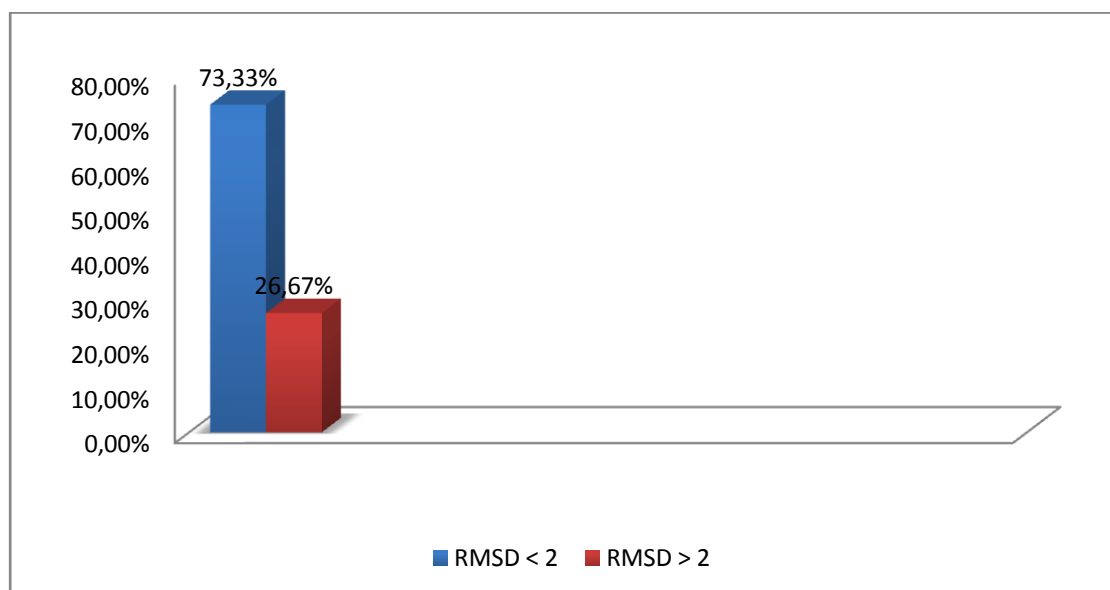
La performance du logiciel a été évaluée sur 120 complexes protéines-ligands (annexe1) tirés de façon aléatoire de la PDB.

Les écarts quadratiques moyens entre la position du ligand du complexe cristallographique et celles des ligands amarrés par Surfex, ont été calculés. Une prédiction correcte (résultat positif) est définie par un RMSD entre le mode d'interaction prédit et la structure cristalline, inférieur à 2 angströms [75,76].

Après séparation de la protéine et du ligand dans des fichiers différents, ces derniers sont convertis du format *pdb* au format *mol2* grâce au programme OpenBabel, une fois la reconstruction du complexe protéine-ligand est réalisée par docking moléculaire, Surfex calcule le RMSD en utilisant la commande suivante :

```
Surfex-dock rms final-0.mol2 ligand.mol2
```

Dans le graphe suivant, les résultats sont donnés en pourcent (%), à deux intervalles de RMSD représentés par différentes couleurs pour le programme surfex.



**Figure 12** : Résultats en % obtenus par Surfex à deux intervalles de RMSD (Å°).

La figure montre que seulement 26.67% des valeurs sont supérieures à  $2\text{\AA}$ , alors que 73.33% des complexes présentent des valeurs de RMSD inférieures à  $2\text{\AA}$ , selon les travaux de vieth M. et *al* (1997) et Chikhi A., Bensegueni A. (2008) [75,76], ces résultats montrent que le programme Surflex est un outil de modélisation par docking moléculaire à haute performance.

## 2. L'analyse visuelle :

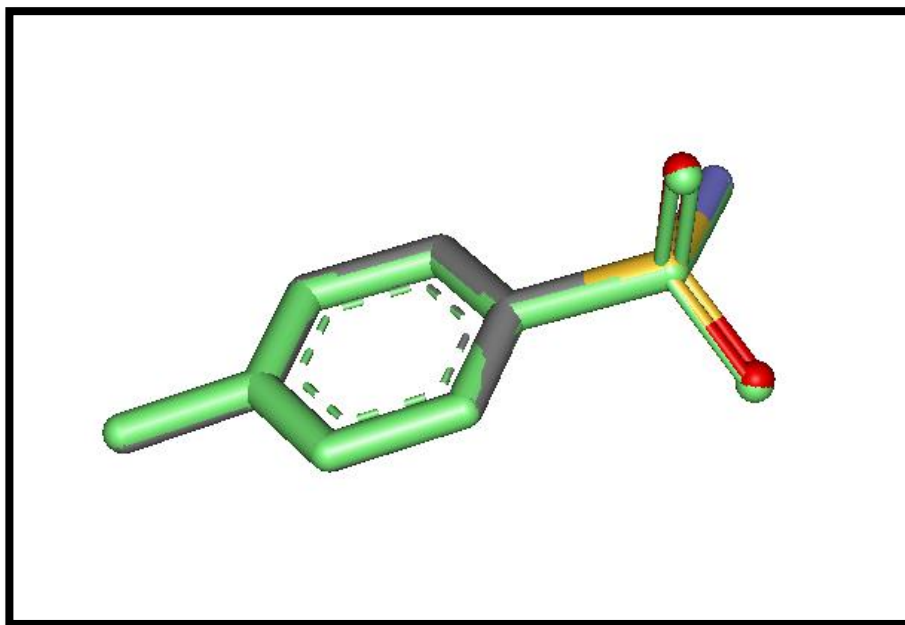
L'analyse visuelle faisant suite au test RMSD est aussi une étape essentielle pour juger la performance du programme Surflex. La visualisation des résultats du docking moléculaire réalisée avec six inhibiteurs du tableau n° 2, montre que les modèles des ligands simulés par surflex sont correctement placés dans le site actif de la télomèrase.

Tableau 2: Valeurs du RMSD des six complexes protéine-ligand

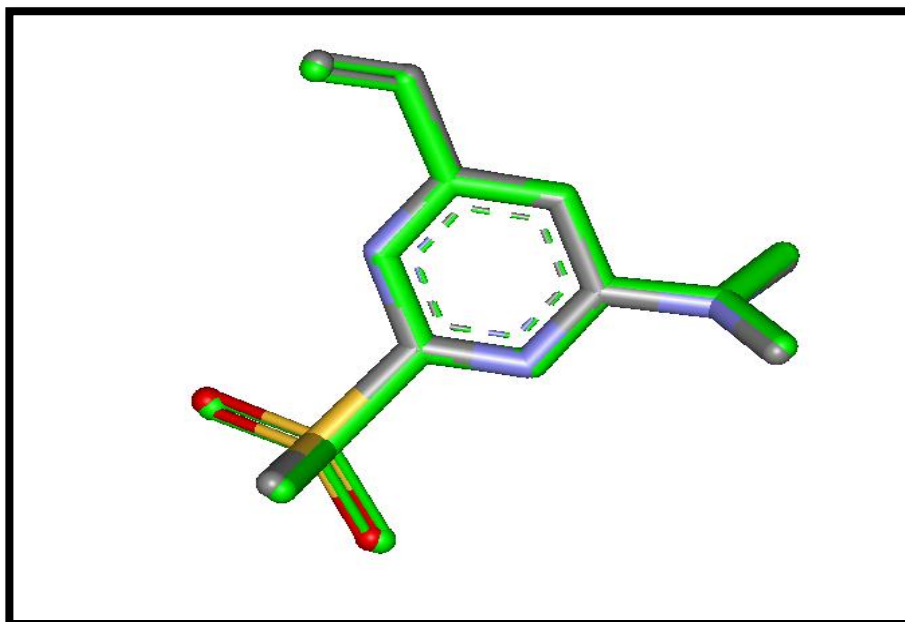
Code PDB du complexe	Code PDB du ligand	RMSD ( $\text{\AA}$ )
1BTU	2BL	0.041
3ISN	EDM	0.053
1S1W	UC1	0.570
1BDR	IM1	1.105
3DU6	MMO	1.209
3C6U	M22	1.839

Le tableau montre que dans tous les cas, les valeurs de RMSD sont inférieures à  $2\text{\AA}$ .

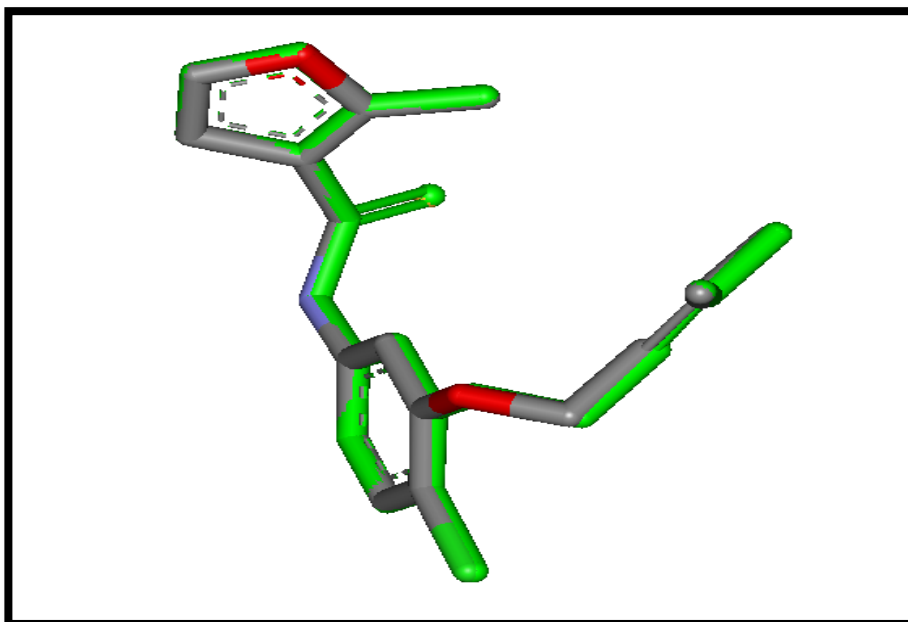
Dans tous les figures les hydrogènes ne sont pas représentés pour une meilleure clarté de l'image (figure : 13, 14, 15, 16, 17, 18).



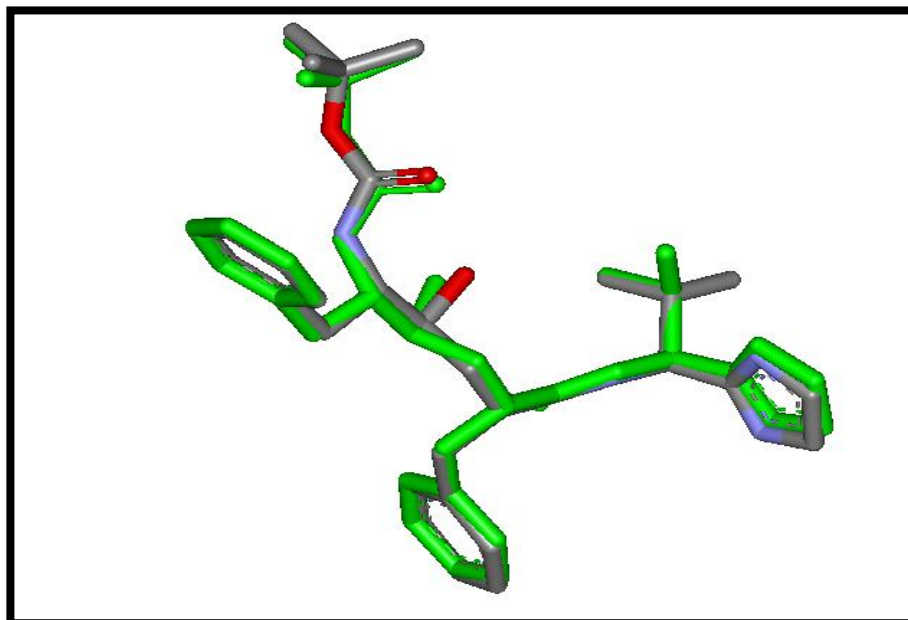
**Figure13** : Superposition du ligand donné (2BL) par rayon-X (coloré par type d'atome) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec Surflex.



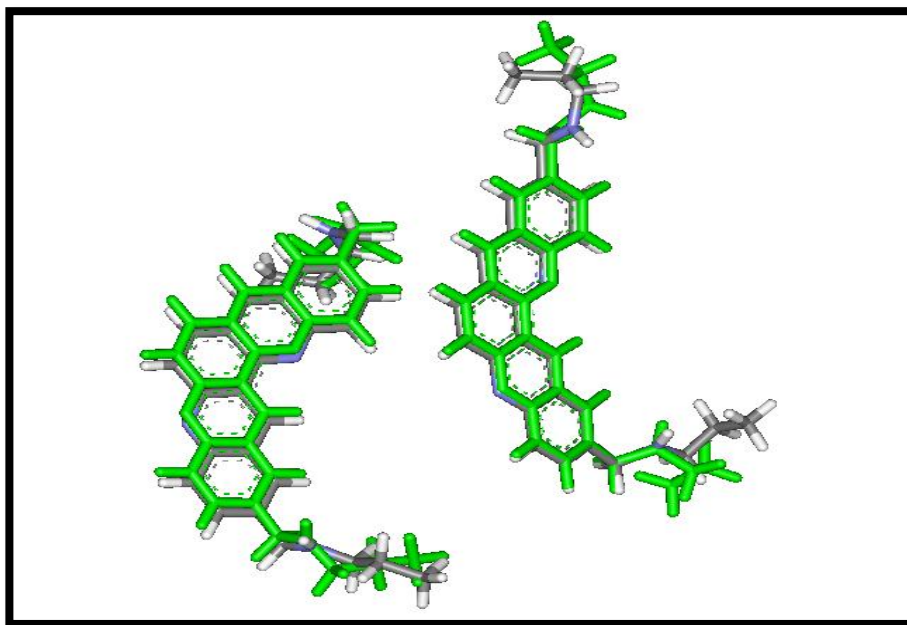
**Figure 14** : superposition du ligand donné (EDM) par rayon-X (coloré par type d'atome) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec Surflex.



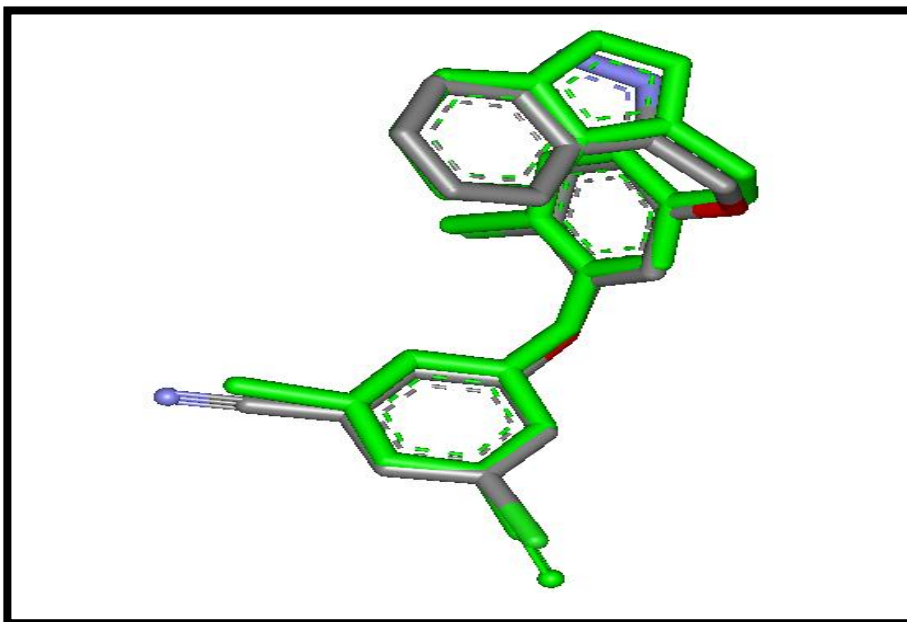
**Figure 15** : superposition du ligand donnée (UC1) par rayon-X (coloré par type d'atome) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec Surflex.



**Figure 16** : superposition du ligand donnée (IM1) par rayon-X (coloré par type d'atome) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec Surflex.



**Figure 17** : superposition du ligand donnée (MMO) par rayon-X (coloré par type d'atome) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec Surflex.



**Figure18** : superposition du ligand (M22) par rayon-X (coloré par type d'atome) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec Surflex.

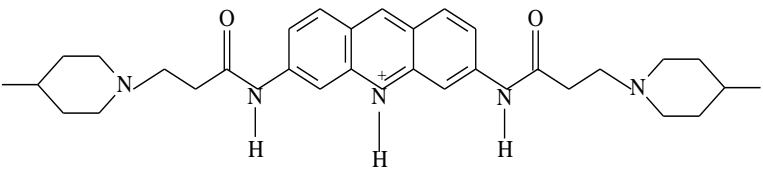
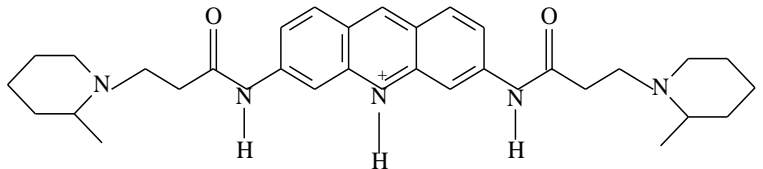
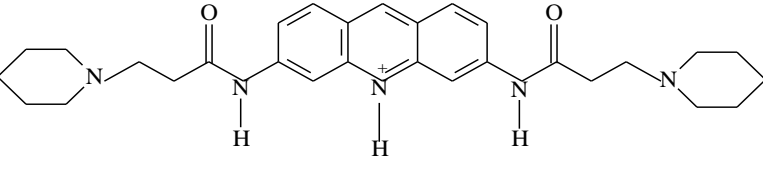
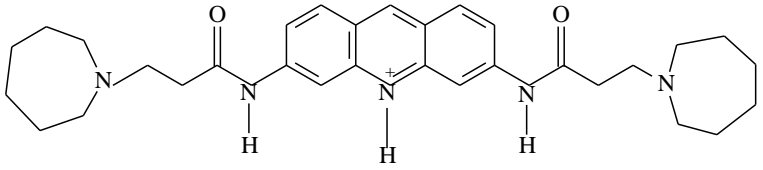
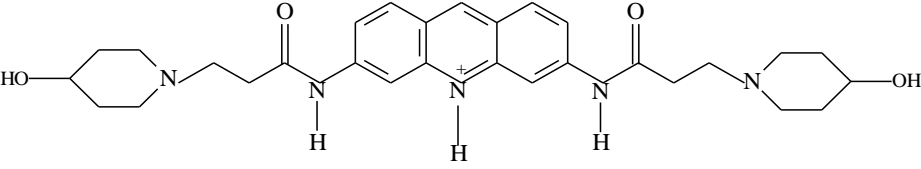
L'analyse visuelle montre à chaque fois une superposition maximale de la conformation optimale du ligand calculée par Surflex avec la géométrie du même ligand donnée par diffraction des rayons-X.

### 3. Etude d'interaction :

Pour effectuer le docking de ces molécules nous avons utilisé une série de molécules d'acridine 3,6-di substituée [58]. Les résultats du docking des alcaloïdes, dans le site actif de la télomérase sont représentés dans le Tableau N°3.

Tableau 3. Résultats théoriques de l'affinité obtenue par docking des alcaloïdes dans le site actif de la télomérase et leurs relations avec les données expérimentales ( $IC_{50}$ ).



composé	Structure	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )	Affinité ( $\text{M}^{-1}$ )
12		1.35	2.21
11		2.6	1.59
7		2.8	1.37
17		3.1	1.13
16		8	0.29

Les résultats de l'affinité obtenue par surflex seront trouvés dans l'annexe N°2.

Le tableau montre que le score d'affinité du Composé 12 est le meilleur par rapport aux autres composés, il présente le meilleur score d'affinité ( $2.21 \text{ M}^{-1}$ ). Ces résultats révèlent que les scores d'affinité des cinq alcaloïdes sont en parfait accord avec les résultats expérimentaux des  $\text{IC}_{50}$  obtenus dans des tests *in vitro* par R. John Harrison et al [58].

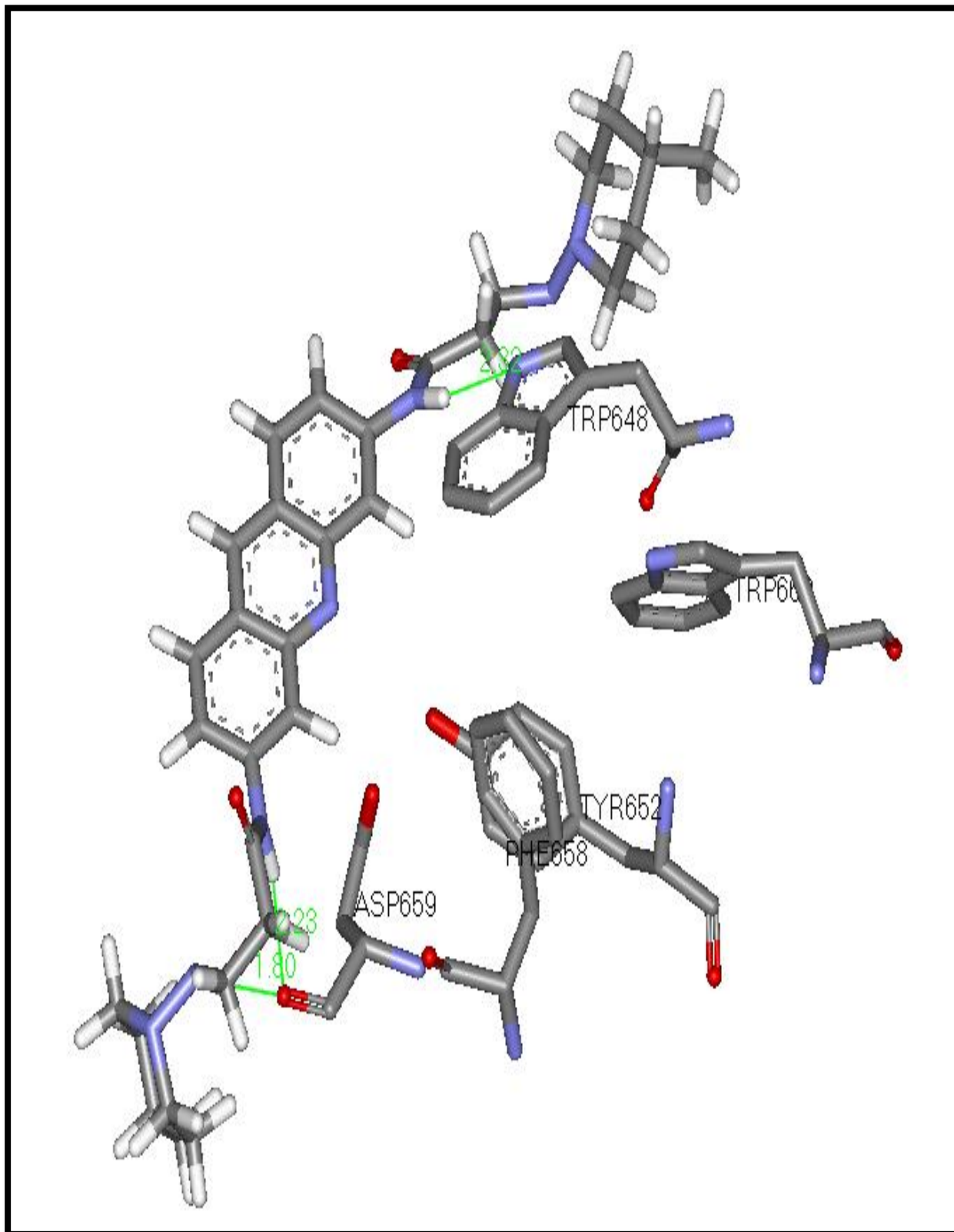
Nos résultats sont complétés par une analyse visuelle des interactions de ces composés alcaloïdes. Figure (19, 20, 21, 22, 23).

Ces résultats s'expriment visuellement par la mise en place de nombreuses interactions de type hydrophobe et hydrogènes entre le composé alcaloïdes et le site actif de la télomérase.

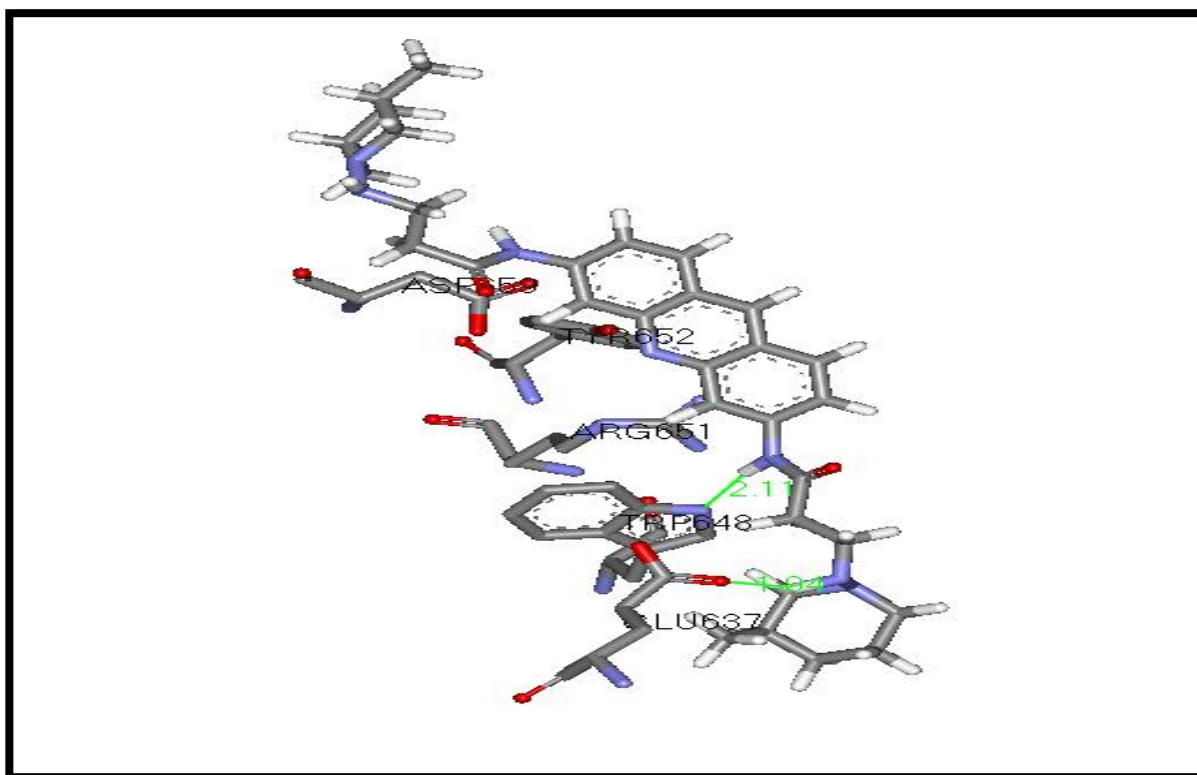
Il est utile de rappeler que parmi les cinq composés alcaloïdes étudiés, le composé 12 avec le meilleur résultat sur l'affinité d'interaction ( $2.21 \text{ M}^{-1}$ ) et sur l' $\text{IC}_{50}$  ( $1.35 \mu\text{M}$ ) se présente comme l'inhibiteur le plus puissant de la télomérase, pour cela nous avons choisis ce composé comme modèle afin d'interpréter leurs différentes interactions établies entre l'enzyme et l'inhibiteur.

On observe la présence de trois ponts hydrogène formés par les groupes nitrogènes du composé 12 et les résidus du site actif de l'enzyme : (composé12-N... O-TRP648;  $d = 2.32 \text{ \AA}$ ), (composé12-N... O-ASP659;  $d = 2.23 \text{ \AA}$ ), (composé12-N... O-ASP659;  $d = 1.80 \text{ \AA}$ )

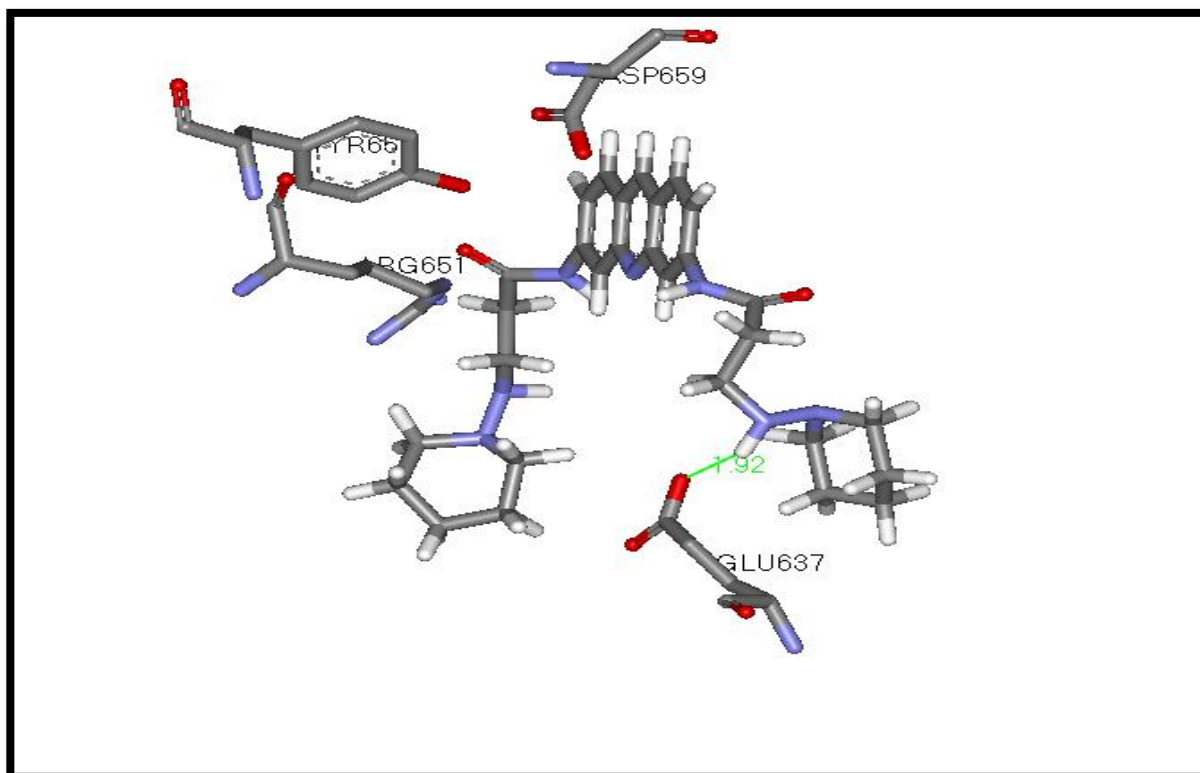
En fin la molécule est stabilisée par des interactions hydrophobiques par les résidus : TRP669, TYR652, PHE658. (Figure19)



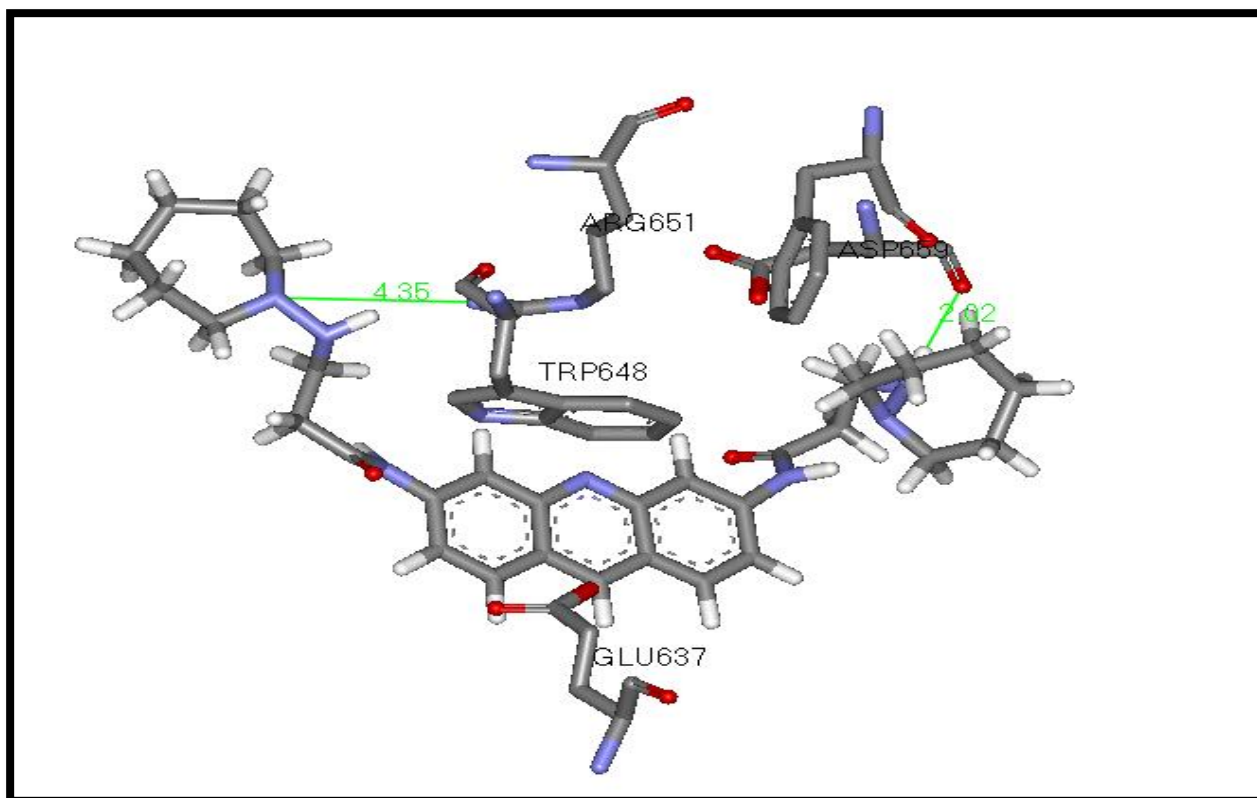
**Figure 19** : Mode de liaison du composé 12 avec le site actif de la télomérase.



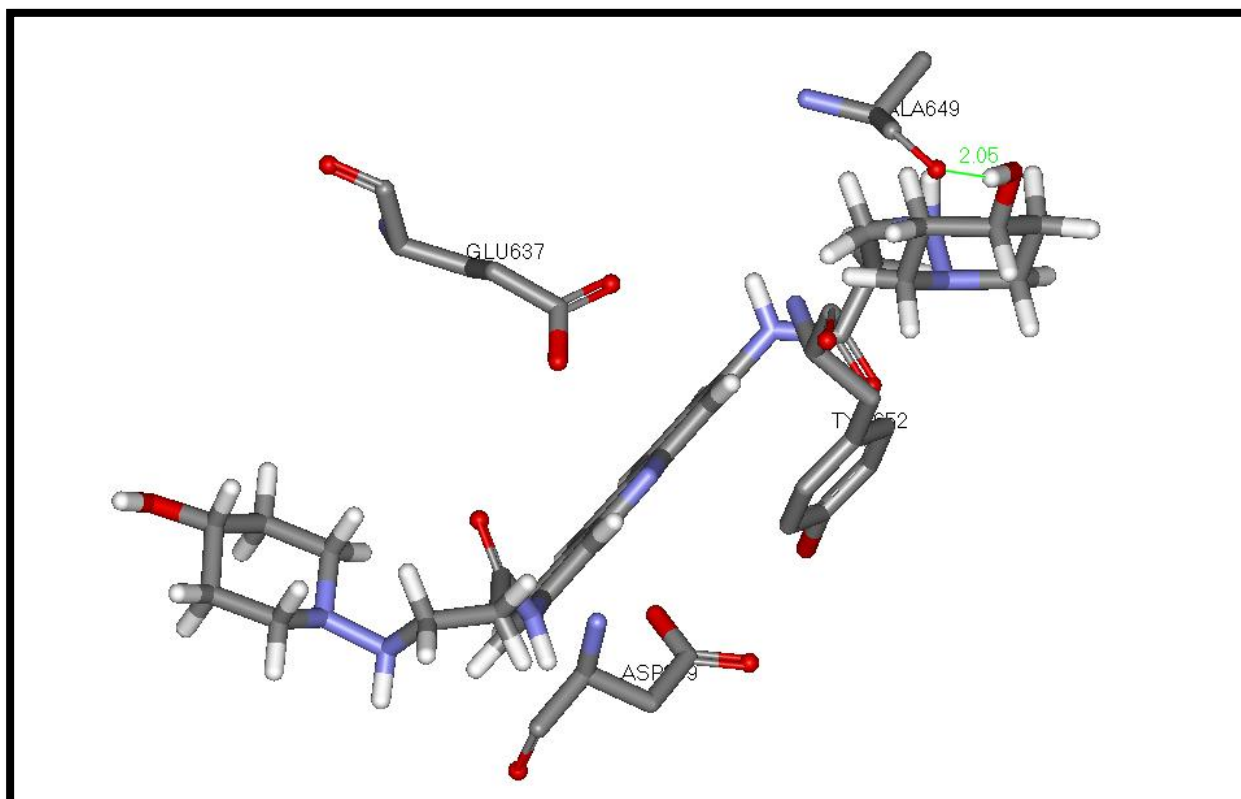
**Figure 20** : Mode de liaison du composé 11 avec le site actif de la télomérase.



**Figure 21** : Mode de liaison du composé 7 avec le site actif de la télomérase.



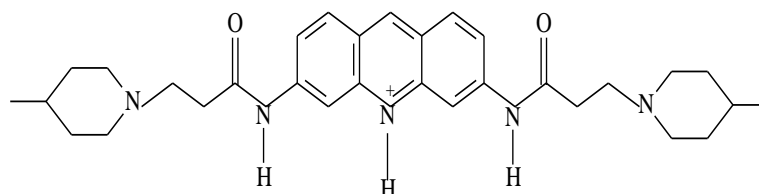
**Figure 22** : Mode de liaison du composé 17 avec le site actif de la télomérase.



**Figure 23** : Mode de liaison du composé 16 avec le site actif de la télomérase.

#### 4. Substitution :

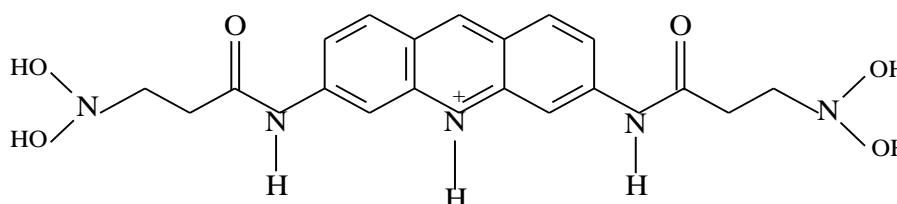
Dans le but de développer de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la télomérase, nous avons utilisé comme structure de départ, le meilleur inhibiteur parmi les alcaloïdes étudiés : le composé 12 (Figure 24).



**Figure 24** : structure du Composé 12.

Afin d'améliorer l'affinité de ce composé, plusieurs groupements fonctionnels présentant la capacité d'engager des liaisons hydrogène avec le site actif de l'enzyme ont été introduits sur différentes positions de la molécule, par exemple les fonctions: alcool (-OH); thiol (-SH); acide (-COOH) et amine (-NH<sub>2</sub>), (Nous avons réalisé plus de 120 substitutions). Les résultats montrent que le score d'affinité des différentes substitutions réalisées est inférieur à celle du composé 12 qui est 2.21 M<sup>-1</sup>, aucune amélioration d'affinité n'a été observée sur les différentes substitutions. Pour cela nous avons remplacés le radicale R<sub>2</sub> du dérivé 12 par d'autres radicaux dans le but de créer des nouveaux dérivés des acridines ayant une affinité supérieur à 2.21 M<sup>-1</sup>.

Parmi les différents dérivés réalisés, seule une structure a présenté une affinité supérieure à celle du composé 12 (Affinité = 3.87 M<sup>-1</sup>), il s'agit de la molécule suivante :



**Figure 25**: structure du nouveau dérivé

```
f -1.66] [ret_conf -1.29] [ret_conf -1.23] final-0: 3.87 <crash -1.45 <self -0.56>>
final-1: 1.62 <crash -0.87 <self -0.50>>
final-2: 1.27 <crash -0.78 <self -0.47>>
final-3: 1.15 <crash -0.94 <self -0.46>>
final-4: 1.09 <crash -0.81 <self -0.48>>
final-5: 0.98 <crash -0.66 <self -0.44>>
final-6: 0.86 <crash -1.49 <self -0.60>>
final-7: 0.62 <crash -0.62 <self -0.52>>
final-8: 0.58 <crash -0.59 <self -0.40>>
final-9: 0.49 <crash -1.06 <self -0.56>>
```

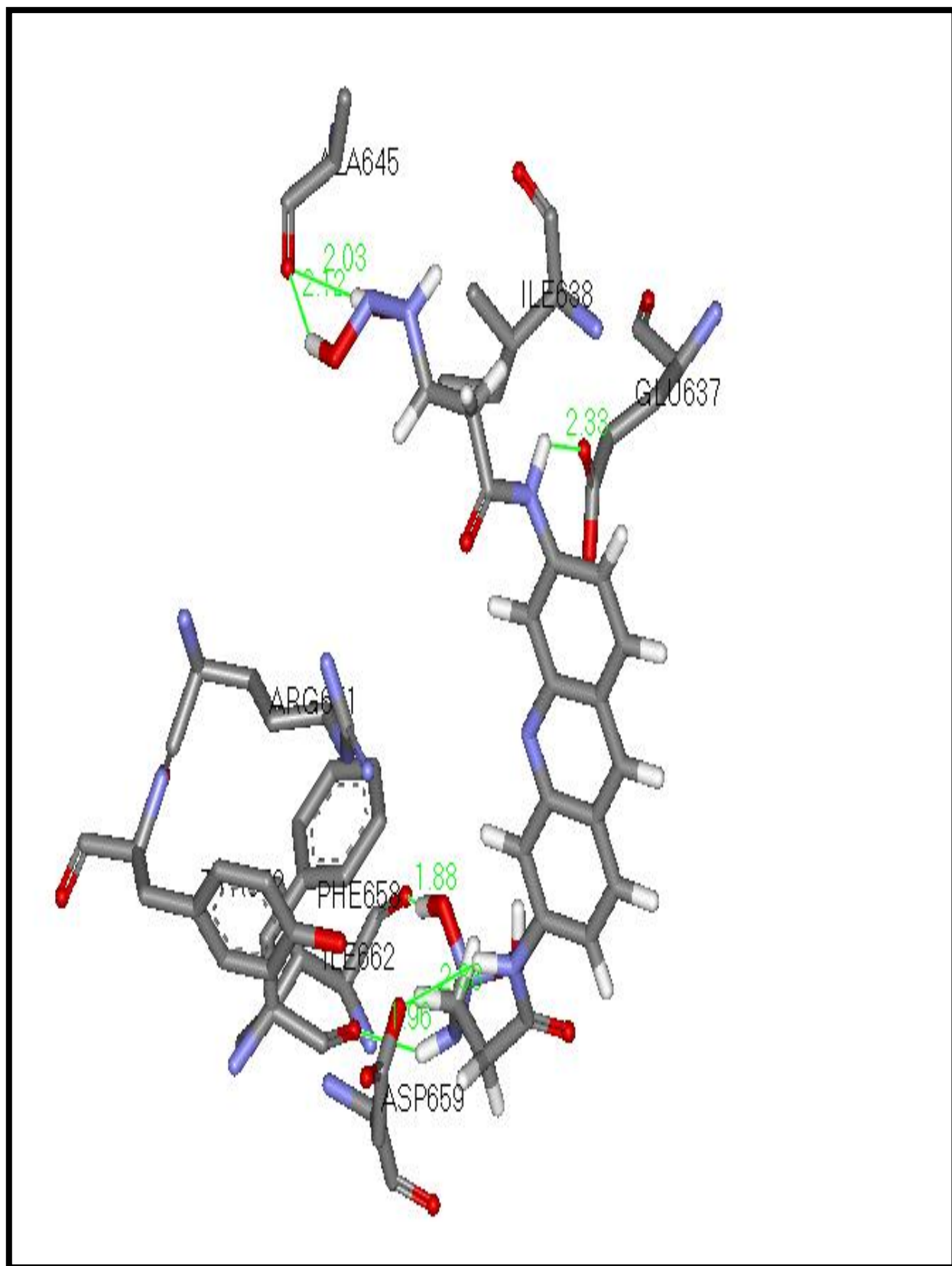
**Figure 26** : Résultat de l'affinité du nouveau dérivé des acridines donné par le programme Surflex

Les résultats des affinités des quelques différentes substitutions réalisées seront retrouvés dans l'annexe 3

➤ **Etude des interactions de la nouvelle structure :**

Afin de compléter l'étude de la substitution, nous avons réalisé une visualisation des interactions établit entre la nouvelle molécule et la télomérase. Nous avons observé l'apparition de six ponts hydrogènes, dont trois ponts sont formés avec les nouveaux groupements hydroxyles ajoutés de la molécule et les résidus du site actif de l'enzyme comme suit: (Molécule-OH...O-ALA645;  $d = 2.12 \text{ \AA}$ ), (Molécule-OH... O-ALA645;  $d = 2.03 \text{ \AA}$ ), (Molécule-OH...O-ILE662;  $d = 1.88 \text{ \AA}$ ). Les trois autres liaisons hydrogènes sont formées avec deux azotes du dérivé et les acides aminés du site actif : (Molécule-N...O-GLU637;  $d = 2.33 \text{ \AA}$ ), (Molécule-N... O-ASP659;  $d = 2.38 \text{ \AA}$ ) (Molécule-N...O-PHE658;  $d = 1.96 \text{ \AA}$ ).

La molécule est stabilisée par des interactions hydrophobiques par les résidus : ILE 638, TYR 652, ARG 651. (Figure 27)



**Figure 27** : Mode de liaison entre le composé substitué et le site actif de la télomérase.



**5. Règle de Lipinski :**

L'étude a été complétée par l'application de la règle de 5 de lipinski énoncée en 1997 par Christopher Lipinski, sur la nouvelle molécule. Cette règle décrit les propriétés physico-chimiques d'un composé, doit se conformer des barèmes associer à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité[77], repose sur cinq propriétés physico-chimiques qui sont :

- pas plus de 5 obligation d'hydrogène donateurs (groupes de l'OH et de NH)
- pas plus de 10 accepteurs d'obligation d'hydrogène (notamment N et O)
- un poids moléculaire au-dessous de 500
- le coefficient de partition octanol/eau (LogP) au-dessous de 5
- le nombre de liaison retables inférieurs à 15.

Le tableau suivant représente de la règle de lipinski.

**Tableau 4 :** Critères de la règle de Lipinski.

Critères Ligand	PM	nOH, NH	nO, N	ClogP	nrotb
Molécule 4	412,382	3	11	-0,833	8

PM : poids moléculaire

nOH, NH : nombre de donneurs de liaisons H

nO, N : nombre d'accepteurs de liaisons H

clogP : logP ou coefficient de partition calculé

nrotb : liaisons rotables.

Le tableau montre que parmi les cinq conditions de la règle de Lipinski, une seule n'est pas respectée. Il s'agit d'accepteur d'hydrogène dont le nombre est égal à 11 alors que le maximum est fixé à 10, cependant la nouvelle molécule est capable de présenter une activité

biologique très importante conformément aux résultats de Lipinski., et *al* (1997)[77], qui montre que toute molécule validant au moins trois conditions de la règle de Lipinski est considérée comme candidat potentiel.

# Conclusion et perspectives

## Conclusion et perspectives :

L'objectif primordial de notre travail c'est le développement *in silico* par docking moléculaire des nouvelles structures hypothétiques agissant comme inhibiteurs très puissants de la télomérase. Pour cela nous nous sommes appuyés sur des travaux expérimentaux montrant que cinq alcaloïdes (dérivés de l'acridine) sont des inhibiteurs de la télomérase. Dans cette optique, à partir de modifications structurales variées, nous avons cherché à développer une nouvelle molécule anticancéreuse. Afin d'atteindre cet objectif nous sommes passés par plusieurs étapes.

Dans un premier temps nous avons testé la fiabilité du programme Surfex utilisé dans ce travail. Pour cela nous avons fait appel au test RMSD (*root-mean-square derivation*), permettant de comparer la déviation entre la structure simulée par Surfex et celle obtenue par cristallographie. Sur les 120 complexes pris arbitrairement de la PDB, 73.33% ont présenté un RMSD inférieur à 2 Å, témoignant ainsi de la haute performance du programme Surfex. L'application de ce test sur le complexe de la télomérase disponible dans la PDB a donné un RMSD inférieur à 2 Å, l'analyse visuelle de six complexes montre une superposition maximale de la conformation optimale du ligand calculée par Surfex et la géométrie du même ligand pris initialement de la PDB. Ce test nous a permis de conclure que Surfex est un programme de docking moléculaire très fiable qu'on peut utiliser en toute confiance pour modéliser les interactions des cinq alcaloïdes cités plus haut avec le site actif de la télomérase.

Dans un deuxième temps, la modélisation par docking moléculaire nous a permis d'évaluer l'affinité des alcaloïdes étudiés et de retenir le dérivé 12 avec une valeur de  $2.21 \text{ M}^{-1}$  comme le meilleur inhibiteur de la télomérase.

Ce résultat est en parfait accord avec les travaux de R. John Harrison et *al*, (1999), dont les tests *in vitro* sur l'effet inhibiteur de ce composé donnent la plus faible valeur de l'IC<sub>50</sub> ( $1.35 \mu\text{M}$ ).

Dans un troisième temps, nous avons pu élucider les mécanismes d'interactions entre les cinq dérivés d'acridines et la télomérase par visualisation des différents types de liaisons faibles mis en jeu.

Dans un quatrième temps nous avons développé un nouveau inhibiteur plus puissant que le dérivé 12, avec une affinité égale à  $3.87 \text{ M}^{-1}$ . Enfin, la dernière partie de ce travail nous a permis de se renseigner sur les éventuelles propriétés biologiques d'absorption, de

digestion, de métabolisme et d'excrétion de la nouvelle molécule par simple application de la règle de 5 de Lipinski. Les résultats montrent que ce composé se présente comme un nouveau inhibiteur théoriquement puissant de la télomérase.

Sur la base de ces résultats préliminaires, nous envisageons d'approfondir l'étude de l'effet des alcaloïdes sur l'inhibition de la télomérase, en faisant appel à d'autres programmes d'étude de docking et de simulation *in silico* des propriétés ADME notamment. Notre étude ici n'étant qu'initiale, une étude expérimentale complémentaire *in vitro* et/ou *in vivo* devra permettre de vérifier les résultats théoriques obtenus *in silico*.

# Bibliographie

### **Références bibliographiques:**

- [1] Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. AICR, Washington DC, 517 p.
- [2] Le cancer, des chiffres record pour l'Algérie. L'expression, Le 11 Juin 2006.
- [3] Harborne, J. B., ET Herbert B. Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants. Bristol: Taylor & Francis. 1995
- [4] Caprio, V et *al.*, A Novel Inhibitor of Human Telomerase Derived from 10H-Indolo[3,2-b]quinoline. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 10 (2000) 2063-2066
- [5] Bouchrit.H: étude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de *mycobacterium tuberculosis* par diverses molécules. Université Mentouri Constantine.2012.1p.
- [6] Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. 2007. 90p.
- [7] Vogelstein B., Kinzler K. W. Cancer gènes and the pathways they control. *Nat Med* (2004) **10**, 789-799.
- [8] Robert J. De la chimiothérapie classique à la chimiothérapie ciblée : les mécanismes De l'oncogénèse aux niveaux cellulaire et moléculaire. *Bull Cancer* (2006) **93**, 5-16.
- [9] Hanahan D., Weinberg R. A. The hallmarks of cancer. *Cell* (2000) **100**, 57-70.
- [10] Organisation Mondiale de la Santé – « Le cancer » Centre des médias – 2009. Site [www.who.int/fr/](http://www.who.int/fr/)
- [11] Bouzid K., 2002. Le cancer, des chiffres record pour l'Algérie. L'expression, le 11 Juin 2006.
- [12] Laouamri S., Hamdi-Cherif M., Bedadra W., Laouamri A., Laifa L. et Mahnane A., 2002. Incidence du cancer en Algérie. Données de registres et estimations
- [13] Hamdi-Cherif M., Nouasria N., Benlatreche K., Sankaranarayanan R. et Kramarova E., 1995. Le cancer à Sétif. Incidence mortalité, survie. 1986-1993. Registre des Tumeurs Sétif, Algérie : 35-37.
- [14] INSP, 2000-2001. Ministère de la santé et de la population. Registre des tumeurs D'Alger
- [15] CHU Oran, 2001. Service d'épidémiologie et de la médecine préventive. Registre du Cancer d'Oran.
- [16] Globocan, 2000: *Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide, version 1.0*

*IARC Cancer Base No 5.* Lyon, IARC Press

[17] Joyeux H., 1994. Changer d'alimentation. Manger mieux et meilleur. Prévention des Cancers, éd. F.-X. de Guibert (O.E.I.L.), Paris.

[18] Bergeret A. et Normand J.C., 2000. Cancers chimio-induits. *Rev. Prat.* ; 50: 391-395.

[19] Vousden K.H. et Farrell P. J., 1994. Viruses and human cancer. *Br. Med. Bull.* ; 50: 560-581

[20] Gessain A., 2000. Virus oncogènes chez l'homme. *Médecine Thérapeutique* ; 6: 826-836.

[21] Kuper H., Adami H.O. et Trichopoulos D., 2000. Infections as a major preventable Cause of human cancer. *Journal of Intern of Medcin.*; 248:171-181

[22] Latino-Martel P., Barrandon E., Druesne-Pecollo N. et Hercberg S., 2008. Corpulence et risque de cancer. *Obésité*; 3: 61-65.

[23] Stewart B.W. et Kleihues P., 2005. Le cancer dans le monde. IARC Press

[24] Calle E. E. et Kaaks R., 2004. Overweight, obesity & cancer: epidemiological evidence & proposed mechanisms. *Nat. Rev. Cancer.* 4:579-91.

[25] E. Clevers. La Chimiothérapie Orale : Amélioration de la prise en charge du patient et du lien ville-hopital. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. UER de Médecine de Pharmacie de Rouen. 2011.

[26] Lechat, P. (2006) Pharmacologie - DCEM1. In Faculté de médecine Pierre et Marie Curie: Paris-VI.

[27] V. Pasquet. Recherche bioguidée de molécules anticancéreuses issues de microalgues marines. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur de l'Université de la Rochelle. Université de la Rochelle. 2011.

[28] Pottier. A. Conception, synthèse et évaluation pharmacologique de pyrrolo [3,4-b] Quinoleines condensées, ligands potentiels de l'ADN. Thèse de Doctorat : Pharmacochimie. Lille: Université de Lille. France. 2003. 238p.

[29] Dufort. S. Vectorisation de biomolécules pour l'imagerie et la thérapie des cancers. Thèse de Doctorat : Biologie cellulaire. Grenoble : Université de Grenoble. France. 2010. 150p.

[30] Hahn WC, Stewart SA, Brooks MW, et al. Inhibition of telomerase limits the growth of human cancer cells. *Nat Med* 1999; 5: 1164-70.

[31] Zhang XL, Mar V, Zhou W, Harrington L, Robinson MO. Telomere shortening and apoptosis in telomerase-inhibited human tumor cells. *Genes Dev* 1999; 13: 2388-99.



- [32] Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, et al. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 1998 ; 279 : 349-52.
- [33] N. Prade-Houdellier. These Doctorat d'université. Régulation de la télomérase dans les cellules hématopoïétiques normal et leucémiques. Université Toulouse. 2007. 10p.
- [34] N. Prade-houdellier. Régulation de la télomérase dans les cellules hématopoïétiques normales et leucémiques
- [35] Sun D, Thompson B, Cathers BE, et al. Inhibition of human telomerase by a G-quadruplex- interactive compound. *Journal of Medcin & Chemi* 1997 ; 40 : 2113-6.
- [35] Télomères et télomérase comme cibles thérapeutiques dans le traitement du cancer. Bulletin du cancer Volume 97. N°9 september 2010.
- [36] Sharma, S., Raymond, E., et coll. (1997). "Preclinical and clinical strategies for development of telomerase and telomere inhibitors" *Ann Oncol* **8**(11): 1063-74.
- [37] Boklan, J., Nanjangud, G., ET coll. (2002). "Limited proliferation and telomere dysfunction following telomerase inhibition in immortal murine fibroblasts" *Cancer Res* **62**(7): 2104-14.
- [38] Mata, J. E., Joshi, S. S., et coll. (1997). "A hexameric phosphorothioate oligonucleotide telomerase inhibitor arrests growth of Burkitt's lymphoma cells in vitro and in vivo." *Toxicol Appl Pharmacol* **144**(1): 189-97.
- [39] Kondo, Y., Koga, S., ET coll. (2000). "Treatment of prostate cancer in vitro and in vivo with 2-5A-anti- telomerase RNA component" *Oncogene* **19**(18): 2205-11.
- [40] Gowan, S. M., Harrison, J. R., ET coll. (2002). "A G-quadruplex-interactive potent small-molecule inhibitor of telomerase exhibiting in vitro and in vivo antitumor activity." *Mol Pharmacol* **61**(5): 1154-62.
- [41] Riou, J. F., Guittat, L., ET coll. (2002). "Cell senescence and telomere shortening induced by a new series of specific Gquadruplex DNA ligands." *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**(5): 2672-7.
- [42] Shi, D. F., Wheelhouse, R. T., ET coll. (2001). "Quadruplex-interactive agents as telomerase inhibitors: synthesis of porphyrins and structure-activity relationship for the inhibition of telomerase." *Journal of Medcin & Chemie* **44**(26): 4509-23.

- [43] Gowan, S. M., Heald, R., ET coll. (2001). "Potent inhibition of telomerase by small-molecule pentacyclic acridines capable of interacting with G-quadruplexes." *Mol Pharmacol* 60(5): 981-8.
- [44] Mini-synthèse : Inhibiteur de la télomérase : conséquences pour la thérapeutique anticancéreuse ; médecine/sciences 2001 ; 17 1076-81.
- [45] Genoux E. Dérivés de flavonoïdes et de vérapamil comme ligands des transporteurs MRP1 et ABCG2 : De la conception à l'activité Anticancéreuse. Thèse de Doctorat: Chimie-Biologie. Grenoble : Université de Grenoble. France. 2011. 134p
- [46] Harborne, J. B., ET Herbert B. *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants. Bristol: Taylor & Francis. 1995.*
- [47] Hesse, M. Alkaloids – Nature's Curse or Blessing, *VHCA, Zürich. 2002.*
- [48] Kutchan, T. M. *Plant Cell. 1995, 7, 1059.*
- [49] Wink, M. *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. Sheffield, UK, and Boca Raton, FL: Sheffield Academic Press and CRC Press.*
- [50] Mann, J. ; Davidson, R. S. ; Hobbs, J. B. ; Banthorpe, D. V. ; Harborne, J. B. *Natural Products. Longman. 1994, Ch. 7, 389.*
- [51] Dewick, P. M.; *Medicinal Natural Products. Wiley. 2001, Ch. 6, 291.*
- [52] Bhat, S. V.; Nagasampagi, B. A.; Sivakumar, M. *Chemistry of Natural Products. Narosa, New Delhi, India. 2005, Ch. 4, 237.*
- [53] Seghiri. R. Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires du genre *Centaurea : C. afrirana, C. nicaensis*. Université Mentouri Constantine .2003. 17p.
- [54] R.J. Harisson et al. Human telomerase inhibition by substituted acridine derivatives. *Bioorg. Med. Lett. 9 (1999) 2463-2468*
- [55] Karp G. *Biologie moléculaire et cellulaire. 3ème édition. France : De Boeck. 2004. 850p.*
- [56] Voet D., Voet J. G. *Biochimie. 2ème édition. France : De Boeck. 2005. 1600p.*
- [57] Gauchard P. A. Les interactions de faible énergie. [En ligne]. [http://www.umvf.biomedicale.univ-paris5.fr/.../gauchard\\_pierre\\_alexis\\_P05.pdf](http://www.umvf.biomedicale.univ-paris5.fr/.../gauchard_pierre_alexis_P05.pdf). Consulté le: [16/03/2011].
- [58] Rosen E. D., O'Donnell A. L., Koenig R. J. 1991. Protein-protein interactions involving erbA superfamily receptors: through the TRAP door. *Molecular and Cellular Endocrinology.78: C83-C88.*
- [59] Kitchen D. B., Decornez H., Furr J. R., Bajorath J. 2004. Docking and scoring in virtual

screening for drug discovery: methods and applications. *Drug discovery*. **3**: 935-949.

[60] Warren G. L., Andrews C.W., Capelli A. M., Clarke B., LaLonde J., Lambert M.H., Lindvall M., Nevins N., Semus S. F., Senger S., Tedesco G., Wall I.D., Woolven J. M., Peishoff C. E., Head M. S. 2006. A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions. *Journal of Medicinal Chemistry*. **49**: 5912-5931.

[61] Bensegni A. etude théorique des métabolisme secondaire des végétaux et des composés des synthèse sur le plan de j'activité biologique : Simulation par docking moléculaire sur lipoxigénase et la cyclooxygénase. Thèse de Doctorat. Université constantine.

[62] Fischer E. Einfluss der configuration auf die wirkung der enzyme. *Ber.* 1894 ; **27** : 2985-2993

[63] Teniou S. Conception « *in silico* » de nouveaux inhibiteurs de la Topoisomérase I de cellules cancéreuses. Thèse Magistrale d'université : Technologie des Explorations Biochimique. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie 2012. 103p.

[64] Chikhi A. W. Calculs et modelisation des interactions peptide deformylase – substances antibactériennes à l'aide de technique de « Docking » (arrimage) moléculaire. Thèse Doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2007. 126 p.

[65] Thiriote E. Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques : Développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Méthionine Sulfoxyde Réductases de classe A. thèse de doctorat d'université : Chimie informatique et théorique. Nancy : Université de Nancy. France. 2009. 291 p.

[66] Kitchen D. B., Decornez H., Furr J. R., Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Drug discovery*. 2004; **3**: 935-949.

[67] Koollman P.A., Massova I., Reyes C., Kuhn B. et al. structures and free energies of complex molecules: combining molecular mechanics and continuum models. *Acc. Chem. Res.* 2000; **33**: 889-897.

[68] Beautrait A. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel. Thèse de Doctorat : chimie informatique et théorique. Nancy : Université de Nancy. France. 2008. 122p.

[69] Bouchrit H. Etude théorique des intervenants dans l'inhibition de la methioniner aminopeptidase de mycobacterium tuberculosis par divers molécules. Magistère D'université : Technologie des Exploration biochimique. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 110p.

[70] Jay A., Jain N. Surflex-Dock 2.1: Robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *Journal Comput Aided Mol Des.* 2007, **21**:281–306.

[71] Vieth M., Hirst J. D., Kolinski A., Brooks C. L. Assessing energy functions for flexible docking. *Journal of Computational Chemistry.* 1998; **19**: 1612-22.

[72] Chikhi A., Bensegueni A. Comparative Study of the Efficiency of Three Protein-Ligand Docking Program. *Journal of Proteomics and Bioinformatics.* 2008; **1**: 161-165.

[73] Lipinski C. A., Lombardo F., Domini B. W., Feney P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1997; **23**: 3-25.

# Annexes

# Annexe 1

Liste des 120 complexes et leur RMSD utilisées pour tester le programme Surfex.

NUMERO	CODE	RMSD
1	1BTU	0,041
2	1HVI	0,183
3	1IKV	0,268
4	1OHB	0,036
5	1R4Z	2,124
6	1S1W	0,570
7	1S6P	0 ,473
8	1SV5	2,815
9	1THG	1,929
10	1TKX	1,667
11	1TKZ	0 ,986
12	1TL1	1,516
13	1VFM	1,781
14	1VRT	1,214
15	1VRU	1,656
16	1HX1	1,474
17	2B5J	0,298
18	2BAN	0.756
19	2BE2	0.713

20	1HVJ	0,227
21	1TKT	1,473
22	2DXU	2.185
23	2FP4	3.501
24	2NW6	1.206
25	2O78	0.689
26	2QMK	1.055
27	2QV4	2.261
28	2RKI	0.308
29	2VG5	0.844
30	2VG6	0.450
31	2VG7	0.585
32	2WOM	1.167
33	2WON	0.772
34	2ZD1	2.177
35	2ZE2	0.590
36	3BGR	1.029
37	3BSH	0.975
38	3C6T	1.113
39	3D8V	1.706
40	3DI6	1.739
41	3DLE	1.794
42	2RF2	0.633
43	3DLG	1.510

44	3DM2	0.824
45	3DOK	0.919
46	3DOL	0.905
47	3DRP	1.619
48	3EO1	1.469
49	3FFI	0.252
50	3HVI	1.702
51	3IOR	0.658
52	3IOS	1.038
53	3IRX	1.989
54	3IS9	2.268
55	3ISN	0.053
56	3ITH	1.628
57	3LAK	0.526
58	3LAL	1.539
59	3M8P	0.493
60	3MAK	1.254
61	3NBP	0.562
62	3VXO	0.212
63	1QBR	1.623
64	4EU4	11.329
65	4EUC	2.061
66	1FUO	1.063
67	4GQR	1.892



68	4HA8	3.592
69	4HPW	1.306
70	4LEG	0.982
71	4LIP	2.680
72	4LJP	5.874
73	4LLP	3.081
74	4N8D	18.626
75	4N8E	1.878
76	4N8S	0.059
77	4O9K	0.563
78	1A2Z	34.545
79	1BQN	2.481
80	1C1B	5.556
81	1COT	1.379
82	1COT	1.379
83	1COU	4.846
84	1DTQ	5.728
85	1DTT	5.389
86	2RX2	1.235
87	1LND	4.598
88	1LNE	3.238
89	1LNF	4.341
90	1NQC	0.814
91	3RXF	3.153

92	1SV5	0.816
93	3RXJ	1.702
94	4FIV	1.875
95	3U50	2.704
96	1DFF	2.654
97	1M7G	2.961
98	3C6C	1.836
99	2PEV	1.927
100	3MC5	0.635
101	1TV5	0.821
102	3LAL	0.539
103	1FKO	0.058
104	2PZN	0.109
105	3DME	0.824
106	3ONC	0.703
107	1EET	1.811
108	1EP4	1.548
109	3QI6	1.738
110	3LQL	1.334
111	1HNI	3.861
112	3C6U	1.836
113	4N19	0.029
114	1AQN	0.188
115	1AU9	0.109

116	1BDL	2.256
117	1BDQ	1.553
118	1BDR	1.105
119	1C6X	3.422
120	1LNC	2.935

## Annexe 2

Résultats de l'affinité des Cinq alcaloïdes obtenus par le programme SurfleX

### Dérivé 12

```
ret_conf -2.581 [ret_conf 1.291] final-0: 2.21 (crash -1.31 (self -0.77))
final-1: 2.10 (crash -1.03 (self -0.56))
final-2: 2.09 (crash -1.23 (self -0.77))
final-3: 1.89 (crash -0.80 (self -0.54))
final-4: 1.87 (crash -1.05 (self -0.51))
final-5: 1.84 (crash -0.92 (self -0.72))
final-6: 1.77 (crash -0.77 (self -0.62))
final-7: 1.66 (crash -1.25 (self -0.79))
final-8: 1.59 (crash -1.02 (self -0.72))
final-9: 1.38 (crash -1.10 (self -0.75))
```

### Dérivé 11

```
[ret_conf -0.95] [ret_conf -1.55] [ret_conf -1.36] final-0: 1.59 (crash -1.09 (self -0.71))
final-1: 1.42 (crash -1.48 (self -0.67))
final-2: 1.33 (crash -0.92 (self -0.62))
final-3: 1.11 (crash -1.03 (self -0.72))
final-4: 0.94 (crash -1.42 (self -0.98))
final-5: 0.70 (crash -1.07 (self -0.78))
final-6: 0.52 (crash -1.02 (self -0.53))
final-7: 0.40 (crash -0.98 (self -0.79))
final-8: 0.35 (crash -0.92 (self -0.56))
final-9: 0.28 (crash -1.10 (self -0.92))
```

## Dérivé 7

```
ret_conf 1.55] [ret_conf 2.51] [ret_conf 1.72] [ret_conf 3.75] [ret_conf 3.
64] [ret_conf -4.87] [ret_conf -5.40] [ret_conf -2.37] final-0: 1.37 (crash -1.4
8 (self -1.10))
final-1: 0.32 (crash -1.50 (self -0.95))
final-2: 0.05 (crash -1.17 (self -0.78))
final-3: 0.02 (crash -1.99 (self -1.25))
final-4: -0.01 (crash -1.56 (self -0.90))
final-5: -0.27 (crash -1.99 (self -1.13))
final-6: -0.32 (crash -1.70 (self -0.83))
final-7: -0.53 (crash -1.85 (self -1.22))
final-8: -0.85 (crash -1.24 (self -1.09))
final-9: -1.15 (crash -2.15 (self -1.60))
```

## Dérivé 17

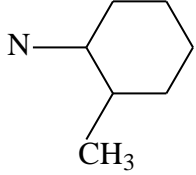
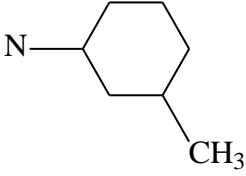
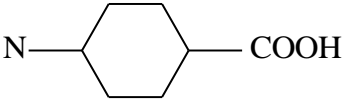
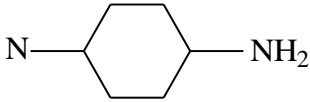
```
ret_conf -2.63] [ret_conf -2.99] [ret_conf -2.97] [ret_conf -2.84] [ret_conf -1.94] [r
et_conf -3.78] [ret_conf -0.84] [ret_conf -2.41] final-0: 1.13 (crash -1.11 (sel
f -0.71))
final-1: -0.09 (crash -1.24 (self -0.90))
final-2: -0.18 (crash -1.89 (self -1.26))
final-3: -0.20 (crash -1.08 (self -0.73))
final-4: -0.34 (crash -1.53 (self -0.67))
final-5: -0.63 (crash -0.64 (self -0.48))
final-6: -0.76 (crash -1.15 (self -0.74))
final-7: -0.94 (crash -1.49 (self -1.34))
final-8: -1.09 (crash -0.83 (self -0.62))
final-9: -1.34 (crash -2.32 (self -1.88))
```

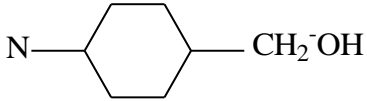
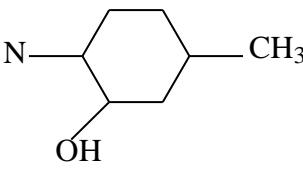
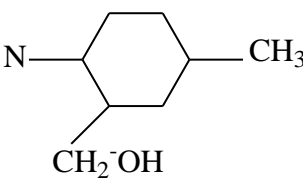
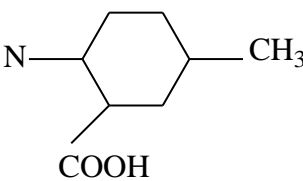
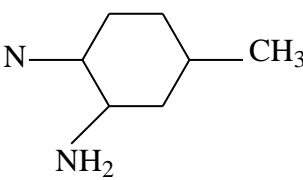
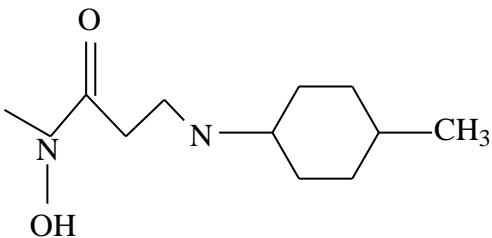
## Dérivé 16

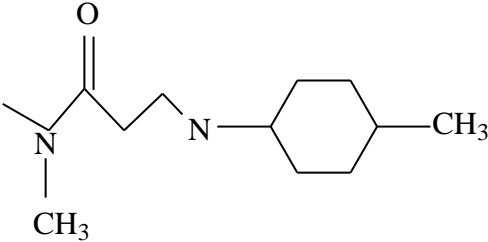
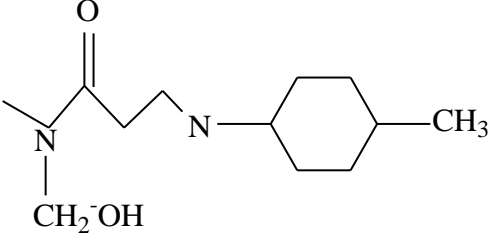
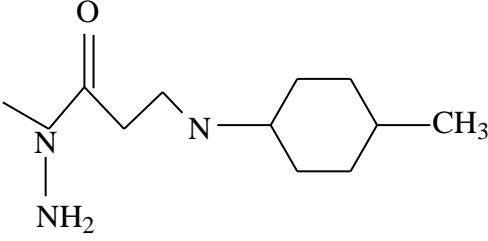
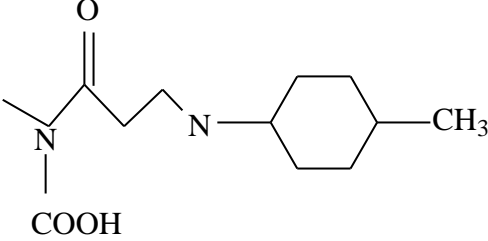
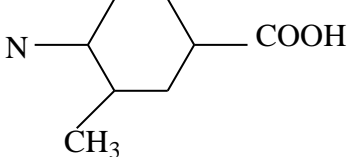
```
2287.04] [ret_conf 740.61] [ret_conf 0.20] [ret_conf 107.
] [ret_conf 0.18] final-0: 0.29 (crash -1.07 (self -0.76))
final-1: 0.29 (crash -1.07 (self -0.76))
final-2: 0.22 (crash -0.98 (self -0.69))
final-3: 0.22 (crash -0.98 (self -0.69))
final-4: 0.10 (crash -0.72 (self -0.65))
final-5: -0.11 (crash -0.65 (self -0.43))
final-6: -0.22 (crash -0.94 (self -0.57))
final-7: -0.22 (crash -0.94 (self -0.57))
final-8: -1.28 (crash -0.62 (self -0.45))
final-9: -1.42 (crash -0.72 (self -0.56))
```

### Annexe 3

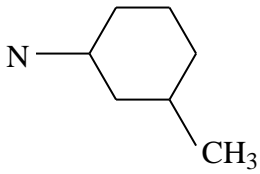
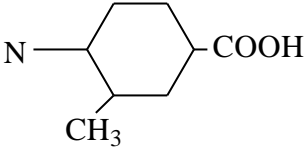
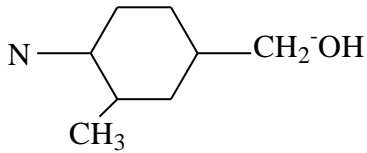
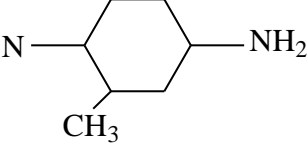
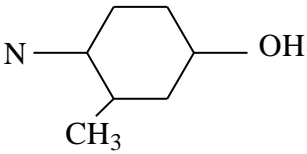
Résultats des affinités des quelques différentes substitution réaliser

Groupes(NR <sub>2</sub> ) substitués	Affinité (M <sup>-1</sup> )
	0.83
	0.76
	0.80
	1.78

 <p>Chemical structure: A cyclohexane ring with an amino group (N) at the 1-position and a hydroxymethyl group (CH<sub>2</sub>OH) at the 4-position.</p>	-0.76
 <p>Chemical structure: A cyclohexane ring with an amino group (N) at the 1-position, a methyl group (CH<sub>3</sub>) at the 4-position, and a hydroxyl group (OH) at the 3-position.</p>	0.64
 <p>Chemical structure: A cyclohexane ring with an amino group (N) at the 1-position, a methyl group (CH<sub>3</sub>) at the 4-position, and a hydroxymethyl group (CH<sub>2</sub>OH) at the 3-position.</p>	1.40
 <p>Chemical structure: A cyclohexane ring with an amino group (N) at the 1-position, a methyl group (CH<sub>3</sub>) at the 4-position, and a carboxyl group (COOH) at the 3-position.</p>	1.24
 <p>Chemical structure: A cyclohexane ring with an amino group (N) at the 1-position, a methyl group (CH<sub>3</sub>) at the 4-position, and an amino group (NH<sub>2</sub>) at the 3-position.</p>	-0.58
 <p>Chemical structure: A propionamide derivative where the nitrogen is substituted with a methyl group and the carbonyl carbon is bonded to a propyl chain. The terminal nitrogen of the propyl chain is substituted with a 4-methylcyclohexyl group.</p>	0.26

 <p>Chemical structure: N-(4-methylcyclohexyl)propanamide with a methyl group on the amide nitrogen.</p>	1.59
 <p>Chemical structure: N-(4-methylcyclohexyl)propanamide with a hydroxymethyl group on the amide nitrogen.</p>	-0.06
 <p>Chemical structure: N-(4-methylcyclohexyl)propanamide with an amino group on the amide nitrogen.</p>	0.46
 <p>Chemical structure: N-(4-methylcyclohexyl)propanamide with a carboxylic acid group on the amide nitrogen.</p>	-0.71
 <p>Chemical structure: 4-methyl-1-cyclohexanecarboxylic acid.</p>	0.83

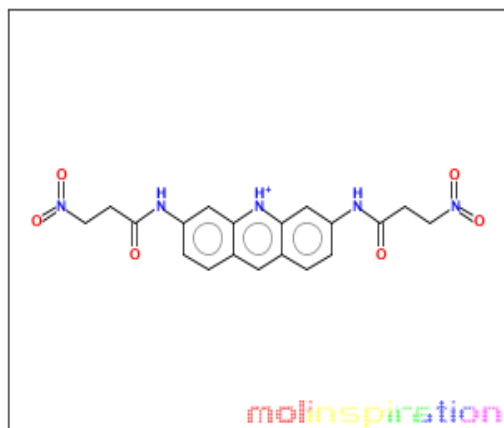


	0.78
	-2.68
	0.66
	-0.25
	0.10

## Annexe 4

Résultat de l'application des propriétés physico-chimiques sur la molécule 4

miSMILES O=C(CCN(=O)=O)Nc3ccc2cc1ccc(NC(=O)CCN(=O)=O)cc1[nH+]c2c3



[Molinspiration property engine](#) v2013.09

<a href="#">miLogP</a>	-0.833
<a href="#">TPSA</a>	163.981
<a href="#">natoms</a>	30.0
<a href="#">MW</a>	412.382
<a href="#">nON</a>	11
<a href="#">nOHNH</a>	3
<a href="#">nviolations</a>	1
<a href="#">nrotb</a>	8
<a href="#">volume</a>	347.368

[Get data as text](#) (for copy / paste).

[Get 3D geometry](#) BETA

les résumés

**Thème :** Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des alcaloïdes dans l'inhibition la télomérase par méthode de docking moléculaire.

**Résumé :**

La télomérase représente une cible importante pour les traitements anticancéreux, son inhibition entraînant la mort des cellules cancéreuses. Plusieurs alcaloïdes ont montré une activité anticancéreuse en inhibant cette enzyme. Dans ce contexte, le programme Surflex a été utilisé afin d'évaluer l'activité biologique (inhibition) de la télomérase, par cinq molécules d'alcaloïdes "dérivés des acridines" : Le dérivé 12 présentant l'IC<sub>50</sub> le plus bas (1.35 μM), a donné par simulation avec Surflex la meilleure affinité d'interaction (2.21 M<sup>-1</sup>). En fin nous avons développé un nouveau dérivé plus puissant que le dérivé 12, le changement du radical NR<sub>2</sub> du dérivé augmente nettement l'affinité qui passe de 2,21 M<sup>-1</sup> à 3,87 M<sup>-1</sup>. L'application de la règle de 5 de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADME de cette nouvelle molécule théorique qui se présente comme un inhibiteur potentiellement plus actif que les cinq alcaloïdes.

**Mots clés :** Télomérase; Alcaloïdes ; Docking ; Inhibition ; Surflex ; Affinité.

**Title:** Contribution to improvement of biological activity of alkaloids in the inhibition of telomerase by molecular docking.

### **Summary**

Telomerase is an important target for cancer therapy, his inhibition result the death of cancer cell. Several alkaloids have shown anticancer activity by inhibiting this enzyme.

In this context, the Surflex program was used to assess the biological activity (inhibition) of telomerase, by five alkaloids molecules derived from acridine. The derivative 12 having the lowest  $IC_{50}$  (1 .35 microM), present the best affinity with Surflex ( $2.21 M^{-1}$ ). We made the substitution to develop new, more powerful derivative than derivative 12, change  $NR_2$  radical of the derivative increases the affinity ( $2.21 M^{-1}$  to  $3.87 M^{-1}$ ).Lipinski rule was made for verified pharmacokinetics (ADME) of this new theoretical molecule wish presents itself as potentially more active than the other five alkaloids.

**Key words:** Telomerase; Alkaloids; Docking; Inhibition; Surflex; Affinity.

**العنوان:** تحسين النشاط البيولوجي للاقلويدات في تثبيط Télomérase بواسطة النمذجة الجزيئية

**الملخص:**

Télomérase تمثل هدفا مهما لعلاج السرطان, تثبيطها ينتج عنه موت الخلايا السرطانية وقد أظهرت العديد من القلويدات النشاط المضاد للسرطان عن طريق تثبيط هذا الإنزيم في هذا السياق, تم استخدام برنامج Surfex لتقييم النشاط البيولوجي (التثبيط) من Télomérase بواسطة خمس جزيئات من القلويدات "مشتقات Acridine" المشتق 12 يملك أقل  $IC_{50}$  ( 1.35 ميكرو مول) يعطينا مع Sutflex أفضل جاذبية  $2.21 M^{-1}$  وأخيرا قمنا بتطوير مشتق جديد افضل من المشتق 12 وذلك بتبديل الجذر  $NR_2$  مما يؤدي إلى تحسين الجاذبية (من 2.21 إلى 3.87) قاعدة Lipinski من أجل مراقبة الخصائص (ADME) للجزيئية الجديدة التي ظهرت كمثبط أقوى من نشاط الجزيئات الخمس الأخرى.

**الكلمات المفتاحية :**

Surfex, Telomérase, القلويدات, التثبيط, الجاذبية, النمذجة الجزيئية.

Nom : ABDALLAH CHAOUCHE

Date de soutenance : 23/06/2014

Prénom : Med LARBI

**Thème : Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des alcaloïdes dans l'inhibition de la télomérase par docking moléculaire**

**Résumé :**

La télomérase représente une cible importante pour les traitements anticancéreux, son inhibition entraînant la mort des cellules cancéreuses. Plusieurs alcaloïdes ont montré une activité anticancéreuse en inhibant cette enzyme. Dans ce contexte, le programme Surflex a été utilisé afin d'évaluer l'activité biologique (inhibition) de la télomérase, par cinq molécules d'alcaloïdes "dérivés des acridines" : Le dérivé 12 présentant l'IC<sub>50</sub> le plus bas (1.35 µM), a donné par simulation avec Surflex la meilleure affinité d'interaction (2.21 M<sup>-1</sup>). En fin nous avons développé un nouveau dérivé plus puissant que le dérivé 12, le changement du radical NR<sub>2</sub> du dérivé augmente nettement l'affinité qui passe de 2,21 M<sup>-1</sup> à 3,87 M<sup>-1</sup>. L'application de la règle de 5 de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADME de cette nouvelle molécule théorique qui se présente comme un inhibiteur potentiellement plus actif que les cinq alcaloïdes.

**Mots clés :** Télomérase; Alcaloïdes ; Docking ; Inhibition ; Surflex ; Affinité.

**Devant le jury :**

**Président :** Mr. Chikhi A.

Pr. Université de Constantine 1

**Encadreur :** M<sup>me</sup>. Teniou S.

M.A.B. Université de Constantine 1

**Examineur :** Mokrani El.

M.A.B. Université de Constantine 1