



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

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 Moléculaire et Santé*

Intitulé :

**Contribution à la mise en évidence de nouveaux
inhibiteurs de l'ECA par criblage virtuel**

Présenté et soutenu par : ZOUAGHI Khaoula

Le : 12-06-2016

HAMDI Abir

Jury d'évaluation :

Président du jury : BENSEGUENI A.

(Pr-UFM Constantine)

Rapporteur : MOKRANI E.H

(MAA-UFM Constantine)

Examineur : TENIOU. S.

(MAA-UFM Constantine)

Année universitaire

2015 – 2016

Remerciements:

Avant tout, nous remercions Allah qui nous a donné la force et la puissance pour réaliser et achever ce travail dans des bonnes conditions.

*Nous avons le plaisir d'exprimer notre profonde gratitude à notre encadreur **Mr MOKRANI E.H.** Maitre assistant « A » à l'Université des Frères Mentouri pour l'effort fourni, les conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi de ce travail.*

*Un grand merci à **Mr BENSEGUENI A.** professeur à l'université Frères Mentouri, pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce jury.*

*Nos profonds remerciements vont aussi à **Mme TENIOU S.** Maitre assistant « A » à l'université Frères Mentouri, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

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

Dédicaces:

Je dédie ce travail:

*À mon cher **papa** et ma chère **maman** qui ont toujours été là pour moi, qui m'ont donné la force de surmonter tous les obstacles et les difficultés,*

*À mon mari, le plus cher de mon cœur **AHMED**, qui m'a donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'il trouvera dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.*

*À mon adorable frère **YASSER**,*

*À mes fleures, mes chères sœurs: **AIDA, MAROUA, BOCHRA** et **NOUR**,*

*À ma nièce **HADIL**,*

*À ma chère tante **SOUHAILA**,*

*À ma chère tante **INESS**,*

*À mon binôme **ABIR**,*

À tous mes collègues,

À mes amis,

À tous ceux qui, par un mot, m'ont donnés la force de continuer.

khaoula

Dédicaces:

*A ma fleur de mes espérances, la source de la tendresse à la plus personne, à **ma mère**,*

Je te dis que vous resterez toujours la plus adorable dans ma vie.

*A celui qui a sert que donner l'espoir et le courage, à **mon père** (à la miséricorde de dieu), je vous estime fort ainsi que je vous aime.*

*A mon cher neveu **didou** pour leur amour.*

*A ma sœur et à mes frères les plus chères de mon cœur **SARA., OTHMAN** et **ARON** qui m'ont donnés la volonté de surmonter tous les embarras.*

*A mes chers oncles et tantes, exceptionnellement mon oncle **Boubaker** et ma tantine **Soher**,*

*A ma chère grande mère "**Nina**",*

*A mes amis **khaoula** et **romaissa**.*

Et a tous ceux qui m'ont encouragé tout au long de mes études.

Abir

Introduction.....1

Revue bibliographique

Chapitre 1 : le criblage virtuel

1. Introduction3

2. Les outils du criblage virtuel4

 2.1. Chimiothèque4

 2.1.1 Chimiothèque nationale Française4

 2.1.2 Zinc.....5

 2.1.3 PubChem5

 2.2. La cible5

 2. 3. Les programmes5

3. Différents types de criblage6

 3.1. Criblage virtuel « ligand-based »6

 3.2. Le criblage virtuel « structure-based»7

4. L'évaluation du criblage virtuel8

 4.1. Le RMSD8

 4.2. Enrichissement9

5. Choix de la cible10

 5.1. L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)10

Partie pratique

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

1. Matériels.....	11
2. Méthodes.....	11
2.1. Choix et préparation du récepteur.....	11
2.2. Définition de la cavité	12
2.3. Préparation de la chimiothèque	13
2.4. Génération du protomol	14
2.5. Criblage virtuel.....	15

Chapitre 3 : Résultats et Discussions

1. Test de fiabilité du programme surflex.....	17
2. Etude d'interactions « ECA-composé actif CHMBL329801-1 »	18
3. Etude d'interactions ECA-composés proposés.....	20
3.1. Le complexe ECA-15255-7.....	21
3.2. Le complexe ECA-comp 15254-6.....	22
3.3. Le complexe ECA-comp 11532-2.....	23
3.4. Le complexe ECA-comp 2424.....	24
3.5. Le complexe ECA- comp 15253-2.....	25
3.6. Le complexe ECA-comp 12241-15	26
4. Filtrage ADME/ TOX.....	27

Table des matières:

Conclusion	29
-------------------------	----

Liste des tableaux:

Tableau N° 1: Résultats des meilleures molécules sorties du criblage virtuel.....20

Tableau N° 2: Critères de la règle de Lipinski pour les inhibiteurs proposés.....28

Liste des figures:

Figure N° 1 : Principales étapes de l'élucidation d'un pharmacophore.....	7
Figure N° 2 : disponibilité de la structure 3D et les approches du criblage virtuel.....	8
Figure N° 3 : Exemples de courbes d'enrichissement de deux modèles.....	10
Figure N° 4 : Superposition des résidus de la cavité de l'ECA des 8 structures PDB étudiées.....	12
Figure N° 5 : représentation de la cavité du site actif de l'ECA (code 4BZR en complexe avec l'inhibiteur K26)	13
Figure N° 6 : Protomol généré pour l'ECA par extension de 6 Å autour du ligand de référence (code PDB: 4BZR).....	14
Figure N° 7 : courbe d'enrichissement représentant 22210 molécules.....	17
Figure N° 8 : courbe d'enrichissement représentant 10% de la chimiothèque totale.....	18
Figure N° 9 : interactions entre le composé CHMBL329801-1 et le site actif de l'ECA.....	19
Figure N° 10 : positionnement du composé CHEMBL329801-1 dans le site actif de l'ECA.....	20
Figure N° 11 : interactions entre le composé 15255-7 et le site actif de l'ECA.....	21
Figure N° 12 : positionnement du composé 15255-7 dans le site actif de l'ECA.....	22
Figure N° 13 : interactions entre le composé 15254-6 et le site actif de l'ECA.....	22
Figure N° 14 : positionnement du composé 15254-6 dans le site actif de l'ECA.....	23
Figure N° 15 : interactions entre le composé 11532-2 et le site actif de l'ECA.....	23
Figure N° 16 : positionnement du composé 11532-2 dans le site actif de l'ECA.....	24
Figure N° 17 : interactions entre le composé 2424 dans le site actif de l'ECA.....	24
Figure N° 18 : positionnement du composé 2424 dans le site actif de l'ECA.....	25
Figure N° 19 : interactions entre le composé 15253-2 et le site actif de l'ECA.....	25

Liste des figures:

- Figure N° 20** : positionnement du composé 15253-2 dans le site actif de l'ECA.....26
- Figure N° 21** : interactions entre le composé 12241-15 et le site actif de l'ECA.....26
- Figure N° 22** : positionnement du composé 12241-15 dans le site actif de l'ECA.....27

Liste des abréviations:

3D: Trois dimensions.

Å: Angström.

ADME : Absorption, Distribution, Métabolisation, Excrétion.

ADN: Acide désoxyribonucléique.

AH : Liaisons accepteur d'Hydrogène.

C : Carbone.

CNRS: Centre national de la recherche scientifique.

DH : Liaisons donneur d'Hydrogène.

DUD-E: Directory of Useful Decoys-Enhanced.

ECA : L'enzyme de conversion de l'angiotensine.

H : Hydrogène.

HTA: Hypertension artérielle.

HTS: High Throughput Screening.

IC50 : Inhibitory Concentration 50.

IECA : Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.

KDa: Kilo Dalton.

LogP : Le coefficient de partition octanol / eau.

LF : Liaisons rotatives ou flexibles.

N: Azote.

PDB: Protein Data Bank.

PM : Poids moléculaire.

QSAR : Relation de Structure – Activité Quantitative.

Liste des abréviations:

RMSD: Root Mean Square Deviation.

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire.

UCSF: Université de Californie à San Fransisco.

VIH: Virus de l'immunodéficience Humaine.

VMD: Visuel Molecular Dynamics.

Asn: Asparagines.

Gln: Glutamine.

Thr: Thréonine.

His: Histidine.

Ala: Alanine.

Ser: Sérine.

Trp: Tryptophane.

Asp: Acide aspartique.

Val: Valine.

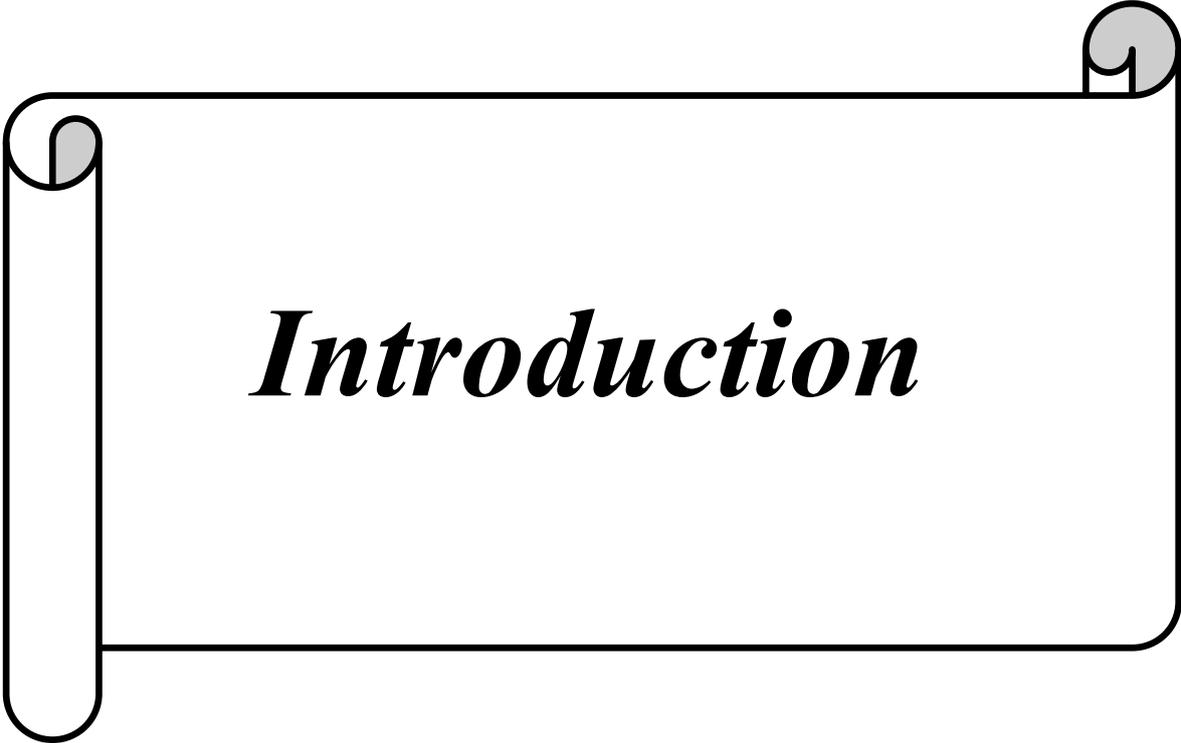
Glu: Acide glutamique.

Phe: Phenylalanine.

Lys: Lysine.

Tyr: Tyrosine.

Arg: Arginine.



Introduction

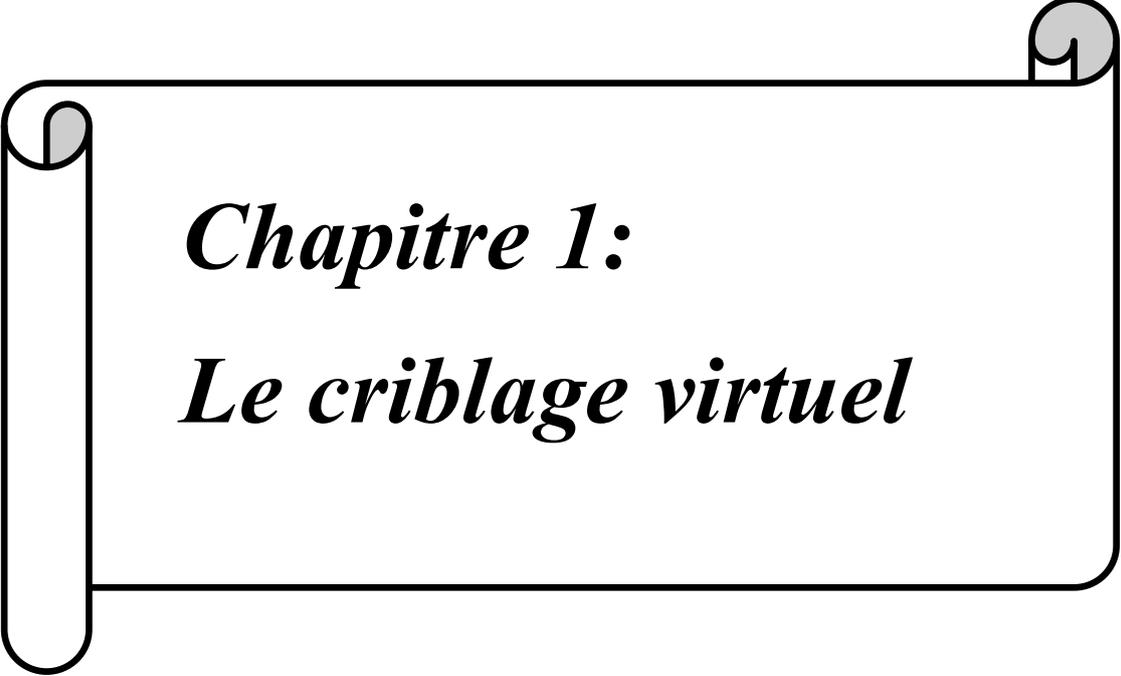
La recherche en biologie ne peut actuellement se passer que par des outils informatiques pour traiter le flot de données produites et améliorer ses avancées. L'un de ces outils est le criblage virtuel. Il consiste à prédire l'affinité d'un très grand nombre de molécules (collectées en chimiothèques) pour le site actif ciblé afin d'aboutir à une liste très réduite de molécules présentant l'activité souhaitée. Seules, ces molécules seront testées expérimentalement pour valider la prédiction [1]. Etant plus facile à mettre en œuvre et moins coûteuse que les criblages expérimentaux, cette démarche est aujourd'hui couronnée de succès en mettant sur le marché un bon nombre de médicaments, citons à titre d'exemple : indinavir ; un inhibiteur puissant de protéases du VIH [2] et célécoxib inhibant sélectivement la cyclo-oxygénase2 [3].

À l'heure actuelle, il existe un bon nombre de logiciels de criblage virtuel (commerciaux ou libres) parmi lesquels: Glide [4], Gold [5], FlexX [6] et spécialement Surflex [7]. Ce dernier, étant fréquemment servi pour la conception de nouveaux médicaments, nous avons utilisé ce logiciel dans notre travail pour cribler virtuellement 21557 composés appartenant à la chimiothèque nationale française en vue de rechercher de nouveaux inhibiteurs de l'ECA. Cette éventuelle enzyme, fortement impliquée dans l'Hypertension artérielle, joue un rôle capital dans l'homéostasie du système rénine-angiotensine-aldostérone en catalysant la transformation de l'angiotensine I en angiotensine II (un octapeptide qui augmente la pression artérielle d'une façon significative). Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine(ECA) contribuent donc à la diminution du taux de l'angiotensine II dans l'organisme, ce qui abaisse significativement la tension artérielle chez les hypertendus.

L'objectif du présent travail est, dans un premier temps, de tester la fiabilité du programme Surflex en traçant la courbe d'enrichissement afin de juger la capacité de ce programme à discriminer les molécules réellement actives sur l'ECA vis-à-vis des autres molécules de la chimiothèque.

Cribler virtuellement une liste de 21557 composés issus de la chimiothèque nationale française vis-à-vis de l'ECA en évaluant leur score. La visualisation des interactions ainsi que le positionnement de ces composés dans la cavité étudiée nous permettra, dans un deuxième temps, de sélectionner les meilleurs composés pouvant inhiber sélectivement l'ECA.

Enfin, l'application de la règle de Lipinski nous permettra de nous renseigner sur les propriétés Absorption, Distribution, Métabolisme et Elimination (ADME) des composés proposés.



Chapitre 1:
Le criblage virtuel

1-Introduction :

Le développement d'un nouveau médicament est un processus complexe, long, très coûteux et fortement encadré juridiquement à cause des risques de santé publique. En réalité, seules les plus grandes entreprises de l'industrie pharmaceutique sont capables d'assurer le développement d'un médicament de A à Z. Celui-ci est divisé en plusieurs phases dont chacune nécessite la validation de la précédente pour pouvoir continuer. Ainsi, le temps s'écoulant entre la première étape, correspondant au choix d'une cible thérapeutique adéquate et pertinente, et la dernière étape qu'est la mise sur le marché d'un médicament, est estimé entre 12 et 14 ans avec un coût total entre 800 millions et 1 milliard de dollars [8].

Par le passé, l'activité (ou plutôt l'affinité) d'un très grand nombre de composés est systématiquement testée *in vitro* afin d'identifier des composés prometteurs qui seront par la suite optimisés et testés *in vivo* ; c'est ce qu'on appelle le criblage à haut débit « HTS ». Cette méthode, quasiment expérimentale, s'est rapidement trouvée confrontée à de nombreux problèmes scientifiques, techniques, méthodologiques, financiers et organisationnels. Si l'on teste expérimentalement un nombre de molécules assez grand sur une cible donnée, on finira sans doute par trouver une molécule active sur cette cible, mais quand et à quel prix ? C'est à ces deux questions que le développement de nouvelles approches telle que le criblage virtuel était nécessaire [9].

Le criblage virtuel est une nouvelle approche consistant à prédire l'affinité d'un très grand nombre de ligands (chimiothèque) pour le site actif d'une cible thérapeutique donnée. Grâce à cette stratégie, les compagnies pharmaceutiques peuvent aboutir plus rapidement à des listes réduites de molécules présentant l'activité souhaitée (souvent entre 100 et 1000). Seules, ces molécules seront testées expérimentalement pour valider la prédiction. Etant plus facile et moins coûteuse que les criblages expérimentaux, cette démarche s'est développée pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de nouvelles molécules bioactives.

D'intéressants résultats ont été obtenus grâce au criblage virtuel en identifiant de nouvelles molécules têtes de série. Par exemple, un criblage virtuel de 350000 molécules sur l'ADN gyrase, cible antibactérienne validée, a permis d'identifier parmi les 150 molécules validées expérimentalement sept nouveaux squelettes chimiques. L'optimisation du meilleur

d'entre eux a produit un inhibiteur 10 fois plus affiné que la novobiocin, antibiotique ciblant l'ADN gyrase. De même, la recherche d'inhibiteurs de la caséine kinase 2, cible anti-tumorale, par criblage virtuel de 400000 composés, a permis l'identification d'un composé ayant une IC_{50} de 80 nM. [10].

2-Les outils du criblage virtuel :

2- 1-Chimiothèque :

Le criblage virtuel consiste à tester *in silico* l'activité d'un très grand nombre de molécules vis-à-vis une cible donnée. Les compagnies pharmaceutiques ont donc dû créer des collections pour organiser cette masse de données. Ces collections, pouvant contenir de plusieurs dizaines à plusieurs millions de composés chimiques, sont aussi appelées chimiothèques.

Il existe à l'heure actuelle deux grands types de chimiothèques : les **chimiothèques réelles** et les **chimiothèques virtuelles**. Les chimiothèques réelles sont souvent sous forme de plaques de puits contenant chacun un produit différent. Ces plaques sont donc prêtes à être testées. Les chimiothèques virtuelles qui nous intéressent dans le présent travail représentent un ensemble d'informations plus ou moins organisées et hiérarchisées regroupant des données concernant un ensemble de composés pouvant aller jusqu'à 2 millions. Dans ce type de chimiothèques, les coordonnées de chaque composé sont enregistrées dans de fichiers avec les formats SMI, SDF, MOL2 et PDB [9]. Parmi les chimiothèques virtuelles nous citons : La chimiothèque Nationale Française, la chimiothèque de l'institut de curie, ZINC, PubChem...etc.

2-1-1 Chimiothèque nationale Française:

La Chimiothèque nationale, coordonnée dans un groupement de service du CNRS, a été créée en 2003 par une convention entre le CNRS et 17 organismes d'enseignement supérieur de recherche. Cette chimiothèque a pour mission principale de regrouper les collections de produits de synthèse, de composés naturels et d'extraits naturels existants dans les laboratoires publics français et d'en promouvoir la valorisation scientifique et industrielle. En mars 2016, la chimiothèque nationale française répertoire plus que 63 000 molécules à vendre en vrac ou en plaques [11].

2-1-2 Zinc:

C'est une base de données contenant des composés disponibles à vendre appropriés pour le criblage virtuel. Elle compte actuellement environ 35 millions de composés qui peuvent être achetés tout simplement. Gouvernée par le Laboratoire Shoichet dans le département de chimie pharmaceutique à l'Université de Californie à San Francisco (UCSF), cette base est accessible gratuitement pour l'ensemble des scientifiques [12].

2-1-3 PubChem :

PubChem est une banque de données américaine de molécules chimiques, elle répertorie plusieurs millions de composés en mettant en ligne, gratuitement, pour chaque substance une grande quantité de données de divers ordres : chimique, biochimique, pharmacologique, production, toxicologie, environnemental...etc. Cette chimiothèque contient les structures chimiques de petites molécules ainsi que l'information sur leurs activités biologiques [13].

2-2- La cible :

La structure tridimensionnelle de la protéine cible utilisée dans le présent travail provient de la PDB ; (*Protein Data Bank*) c'est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle de macromolécules biologiques : protéines, essentiellement, et acides nucléiques. Ces structures sont par la quasi majorité résolues par cristallographie aux rayons X. En Mai 2016, la PDB compte 118 280 structures dont la majorité sont des protéines [14].

Il est important de signaler que certaines protéines ne sont pas encore disponible dans cette banque de donnée et si cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, il devient alors possible de construire la structure 3D la de la cible souhaitée, en faisant appel à la modélisation par homologie.

2- 3-les programmes :

A présent, un bon nombre de programmes de criblage virtuel sont disponibles. Les plus fréquemment utilisés sont: AutoDock Vina, Gold, Flex X, Glide et Surflex. Ce dernier (utilisé dans le présent travail) repose sur l'ajustement de fragments en commençant par construire un modèle «en négatif» du site actif dit protomol. Ce modèle est constitué par le volume accessible du site et les points d'interaction tels que les sites de liaison hydrogène, les

charges ou les sites lipophiles. Son algorithme est appelé également de fragmentation incrémentale car, dans un premier temps, la molécule est découpée en parties rigides et en liaisons flexibles. Par la suite, les parties rigides sont positionnées en premier et le ligand est reconstruit de proche en proche, explorant diverses conformations lors de la mise en place des liaisons flexibles ce qui permet un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés [15].

3-Différents types de criblage :

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

3-1-Criblage virtuel « *ligand-based* » :

Cette démarche repose sur les connaissances acquises concernant des molécules de référence interagissant avec la cible d'intérêt biologique. Ces molécules peuvent être utilisées afin d'en dériver un pharmacophore (voir figure N°1) qui définit le minimum de caractéristiques que doit posséder la molécule afin d'interagir avec le système biologique d'intérêt. Ici, le manipulateur détermine une relation de structure-activité quantitative (QSAR) dans laquelle une corrélation entre les propriétés des molécules calculées et leur activité biologique, expérimentalement déterminée, est établie. À leur tour, ces relations QSAR peuvent être utilisées pour la prédiction de nouveaux analogues.

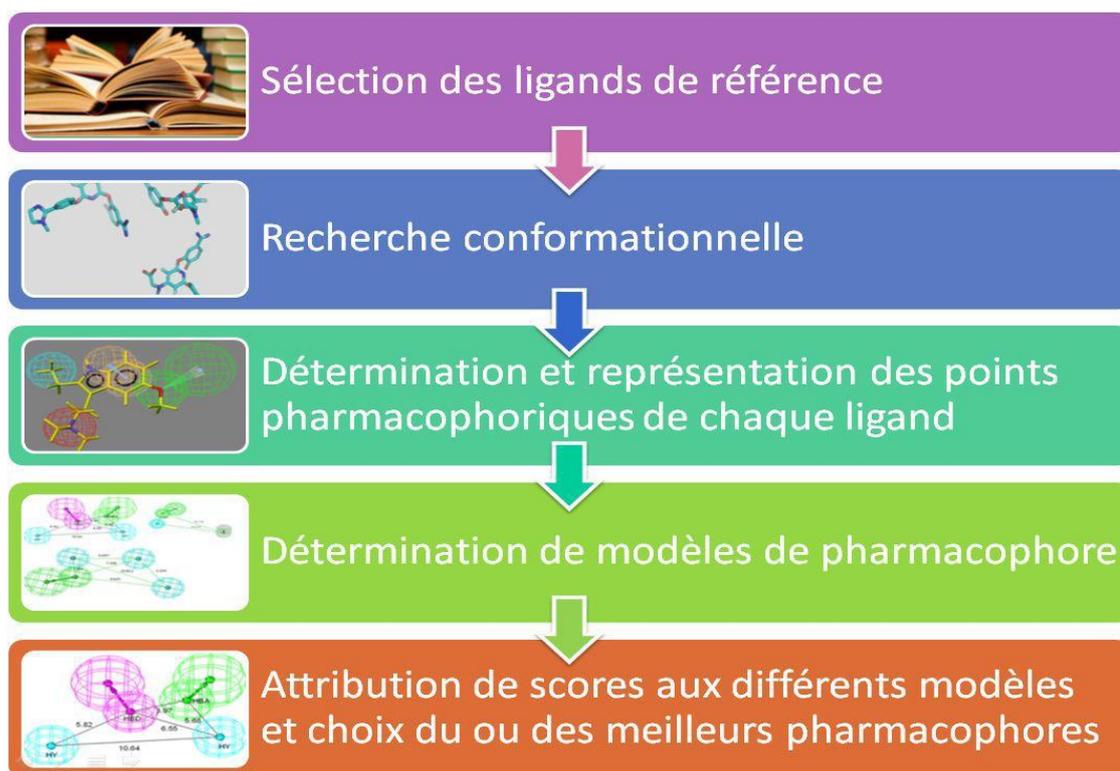


Figure N°1: Principales étapes de l'élucidation d'un pharmacophore [8].

3- 2- le criblage virtuel « *structure-based* » :

En utilisant la structure de la cible biologique, la conception de molécules ayant une grande affinité sélective à la cible se fait à l'aide d'outils graphiques et de procédures de calculs automatisés. Avec le développement des méthodes expérimentales (Cristallographie aux Rayons X, spectroscopie RMN), la quantité d'informations des structures 3D des cibles biomoléculaires connaît elle aussi un grand essor. En même temps, les informations relatives aux propriétés des ligands sont en continuelle expansion. Tous ces développements se répercutent positivement sur l'évolution des approches « *structure-based* » de la conception des médicaments. D'où la division de ce type d'approche en deux :

- a- La première catégorie s'intéresse à trouver un ligand pour une cible donnée dans une base de données. Ce ligand de référence sert comme point de départ pour la recherche d'autres structures similaires dans cette base de données afin de les cribler virtuellement en gardant que ceux qui s'adaptent à la poche de liaison du récepteur. L'avantage de cette méthode consiste en l'économie d'efforts de synthèse dans la recherche de nouveaux « composés de tête-série » (*lead compound*).

b- La deuxième catégorie consiste, quant à elle, à cribler un grand nombre de ligands sans tenir compte contraintes structurales dues à la poche de liaison. L'avantage de cette méthode, qui connaît de plus en plus d'engouement, réside dans la possibilité de concevoir de molécules originales actives pour la cible en question [16].

Les approches de criblage virtuel « *structure-based* » et « *ligand-based* » peuvent s'avérer complémentaires, et leur application nécessite l'accès soit à la structure du récepteur, soit à un ensemble d'inhibiteurs connus (voire figure N°2). Le choix de l'approche utilisée dépend donc des données disponibles au démarrage du projet [8].

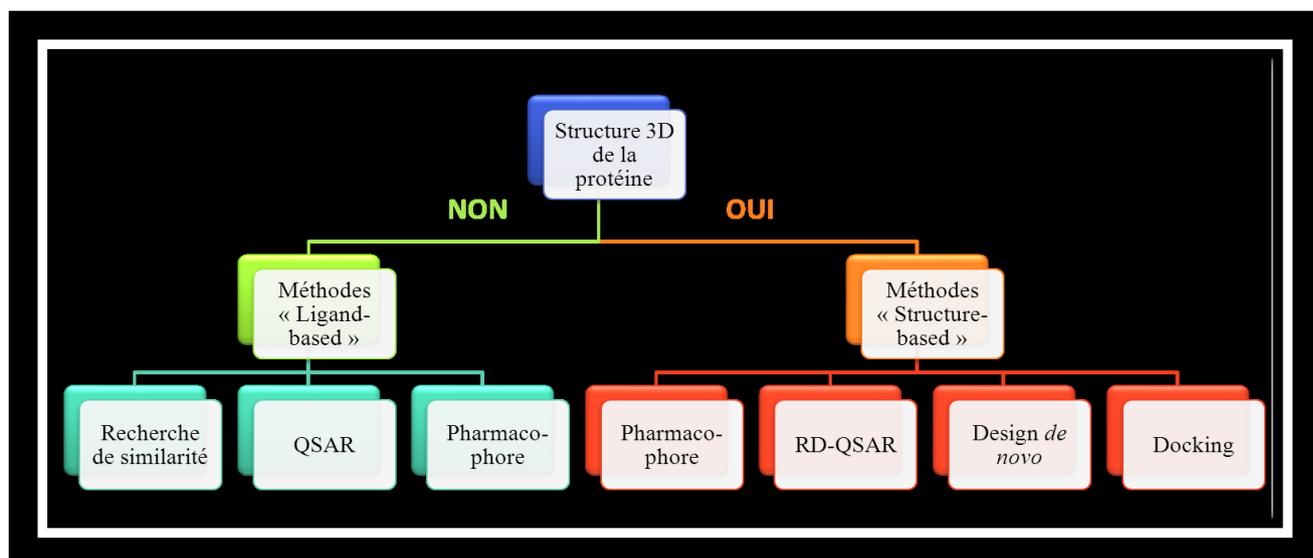


Figure N°2: disponibilité de la structure 3D et les approches du criblage virtuel

4-Evaluation du criblage virtuel :

Deux critères sont étudiés pour évaluer la performance d'un processus de criblage virtuel: le premier critère consiste à juger la capacité de la méthode à retrouver le mode de liaison correct du ligand (RMSD). Le deuxième critère fait état sur la capacité du programme à discriminer les actifs des inactifs.

4-1-Le RMSD :

La prédiction du mode d'interaction consiste à déterminer l'emplacement correct du ligand au sein de son récepteur. Cela nous amène à comprendre qu'un programme du docking est aussi performant s'il est capable à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux. Cette capacité est habituellement jugée au moyen de la déviation quadratique

moyenne ou RMSD qui représente la moyenne des différences de positions du ligand simulée par le programme vis-à-vis celle déterminée expérimentalement existant au niveau de la PDB. Les résultats de simulation sont fiables si les valeurs du RMSD sont inférieures à 2 Å [17,18].

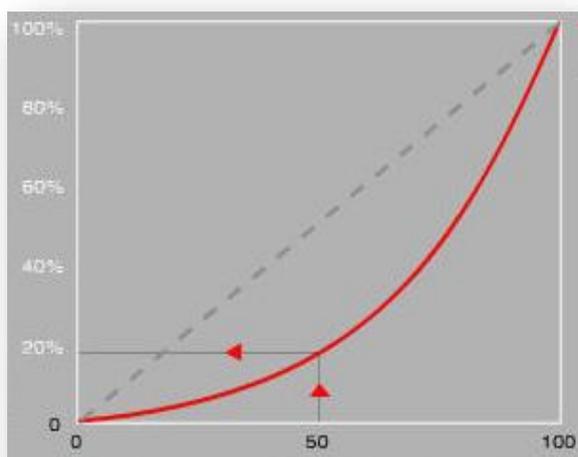
Le RMSD peut être calculé en appliquant la formule suivante [19] :

$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - Y_i)^2}{n}}$$

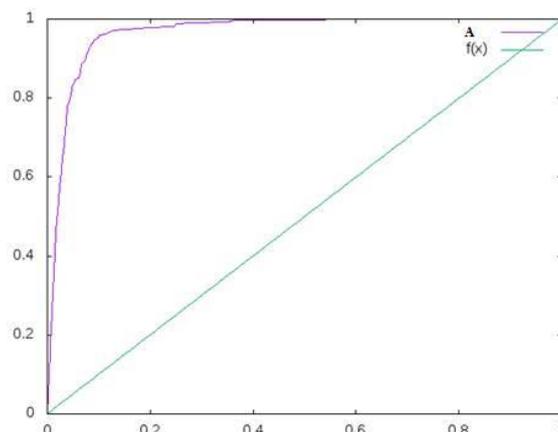
4- 2- Enrichissement :

Le deuxième critère d'évaluation est la capacité d'une fonction de score à discriminer les actifs des inactifs. C'est essentiel car le criblage *in silico* doit permettre de tester expérimentalement certaines molécules (parmi celles ayant les meilleurs scores) et d'en laisser d'autres de côté (les moins bien classées). Plusieurs banques d'évaluation ont été mises en place pour évaluer ce critère. Celle la plus utilisée est connue sous le nom DUD-E (*Directory of Useful Decoys Enchanced*) comprenant des molécules actives vis-à-vis de 102 protéines dont l'ECA, objet de notre étude.

Après un criblage virtuel d'une chimiothèque donnée, avec laquelle intégrée une chimiothèque d'évaluation, il est possible de classer les composés selon leurs scores. À partir de ces données, des courbes d'enrichissement (encore appelées courbes d'accumulation) sont déduites, représentant le pourcentage de molécules biologiquement actives récupérées durant le criblage en fonction de leur classement sur l'ensemble total des molécules criblées. Selon les auteurs, un programme de criblage virtuel est aussi performant s'il est capable de bien prédire les molécules actives en les classant dans les premières portions du classement. La courbe d'enrichissement du modèle A représentées dans la figure N°3 montre que le programme utilisé pour effectuer ce criblage est capable de distinguer les molécules actives vis-à-vis des autres molécules de la chimiothèques en les sortant dans les premières portions du classement. Contrairement au modèle B, dont l'allure de la courbe est bien au dessous du *random* (ligne discontinue en noir). Le programme du criblage virtuel utilisé dans ce cas classe les molécules actives dans les dernières portions du classement [20].



Courbe représentant le modèle B



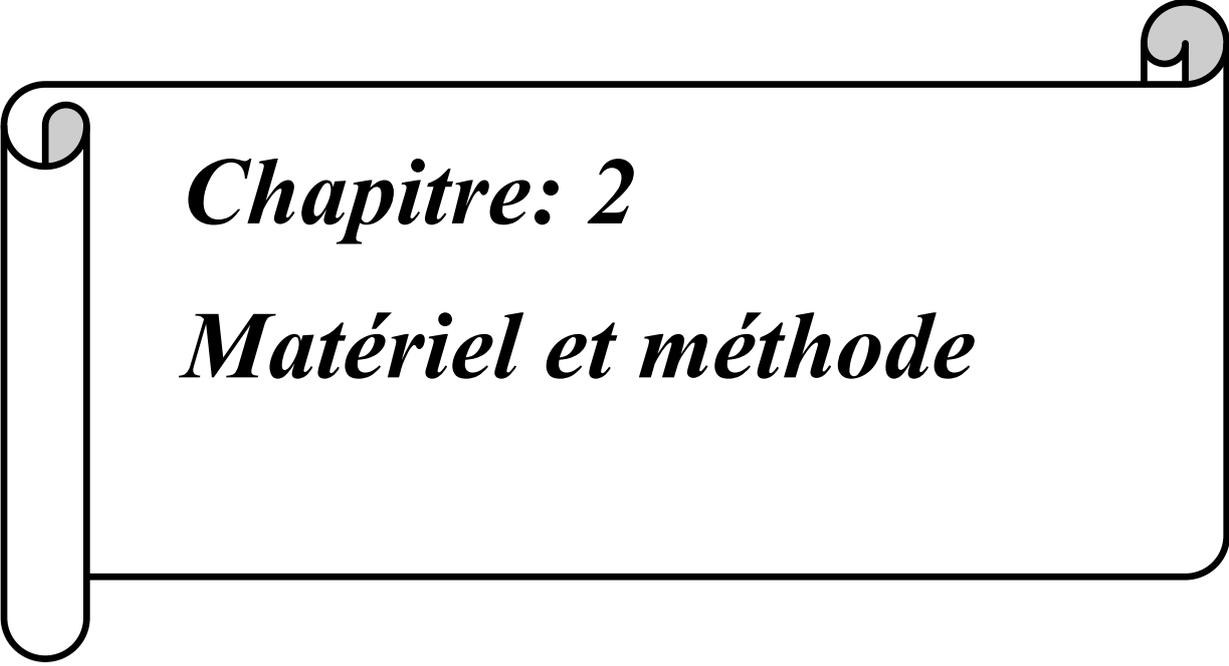
Courbe représentant le modèle A

Figure N° 3: Exemples de courbes d'enrichissement de deux modèles [20].

5-Choix de la cible :

5-1 L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) :

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine. Ce choix est dicté par son implication directe sur la maladie la plus répandue en Algérie ; l'Hypertension Artérielle. En effet, l'ECA joue un rôle primordial dans la régulation du système rénine-angiotensine en catalysant la formation de l'Angiotensine II (un puissant vasoconstricteur) ce qui provoque à l'élévation de la pression artérielle chez les hypertendus. Ainsi, les inhibiteurs de l'ECA contribuent à la diminution du taux de l'angiotensine II dans l'organisme, ce qui abaisse significativement la tension artérielle chez les hypertendus [21]. L'objectif principal du présent travail est de proposer de nouveaux inhibiteurs de l'ECA en se servant du criblage virtuel.



Chapitre: 2

Matériel et méthode

Chapitre 2: Matériel et méthode

1- Matériel:

Dans notre travail, nous avons utilisé :

1. un micro-ordinateur.
2. Le système d'exploitation linux : ubuntu 14.04 [22].
3. Le programme Surflex-dock version 2.745 : il s'agit d'un programme de docking moléculaire comprenant deux parties ; l'une pour des études de similarité tridimensionnelle des molécules, tandis que l'autre pour des études de docking qui nous intéresse dans le présent travail. [23].
4. VMD v 1.9.1 [24] (*visual molecular dynamics*) utilisé d'un côté pour l'alignement de protéines et de l'autre côté pour la visualisation moléculaire.
5. Le programme MSViewer v 4.2 [25] pour la visualisation des interactions Protéine-Ligand.
6. Le programme Gnuplot 5.0.3 [26] utilisé pour tracer la courbe d'enrichissement.
7. Le programme Open Babel 2.0.2 [27] utilisé pour la conversion de fichiers de structures chimiques.
8. 21557 molécules provenant de la chimiothèque nationale française [11].
9. 653 molécules actives sur l'ECA issues de la DUD-E [28].

2- Méthodes :

2-1 Choix et préparation du récepteur

La structure 3D de l'ECA humaine, qui nous intéresse dans le présent travail, est obtenue via la banque de donnée Protein Data Bank(PDB). Cette dernière nous propose 8 structures cristallographiques de l'ECA humaine avec une résolution inférieure à 2.5 Å. Ces structures portant les codes PDB: 4BZR, 2CA5, 1UZE, 2XY9, 1UZF, 3BKK, 3BKL et 2YDM ont les résolutions respectives de : 1.84 Å, 1.85 Å, 1.89 Å, 1.97 Å, 2 Å, 2.17 Å, 2.18 Å, 2.44 Å. Etant présentées sous forme homodimérique, la chaîne B de chacune de ces structures a été supprimée pour ne garder que la chaîne A. Chacune de ces structures a été séparée de son ligand afin d'obtenir un récepteur avec un site actif libre tout en supprimant les molécules d'eau.

Chapitre 2: Matériel et méthode

Afin de sélectionner une structure de l'ECA ayant la cavité catalytique la plus ouverte, nous avons aligné les dites structures à l'aide du programme VMD. Comme le montre la figure N°4, il existe une superposition entre les résidus de la cavité d'une structure donnée et ceux des autres structures. De ce fait, nous avons choisi parmi les 8 structures de l'ECA étudiées celle portant le code 4BZR car présentant la meilleure résolution soit 1.84 Å.

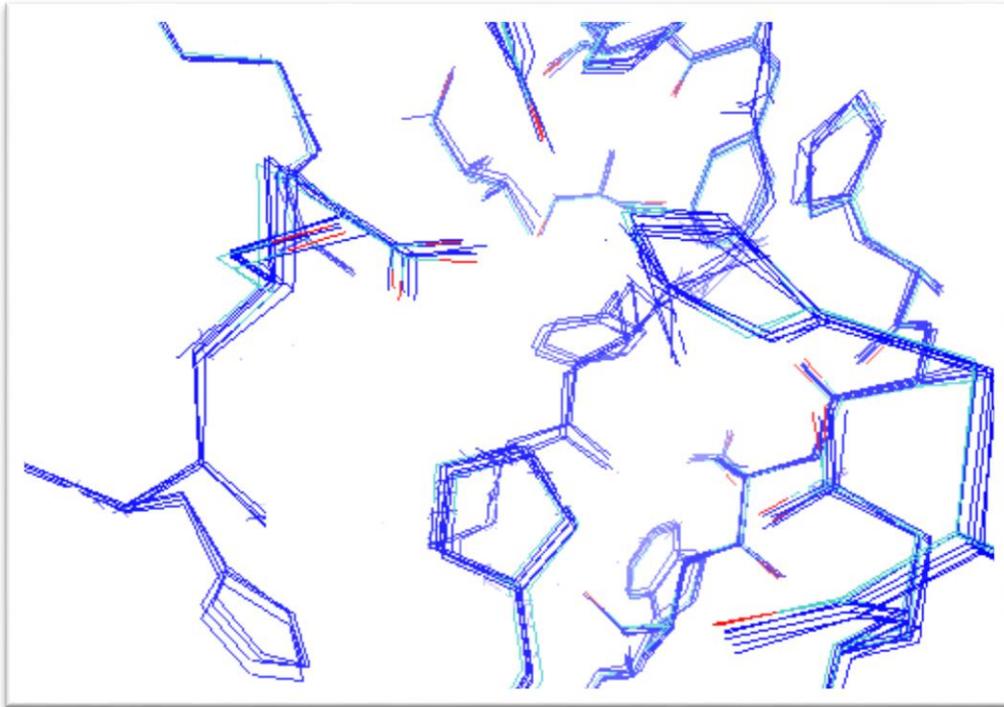


Figure N°:4 Superposition des résidus de la cavité de l'ECA des 8 structures PDB étudiées

2-2 Définition de la cavité :

À l'aide du programme VMD, nous avons pu définir les résidus de la cavité catalytique de l'ECA en visualisant ceux entourant l'inhibiteur de référence (K26) du récepteur retenu (4BZR) dans un périmètre de 6Å. Ces résidus présentés en mode « SURF » dans la figure N°5 sont : Asn277,Gln281 , Thr282 ,Asn285 ,His353 , Ala354 , Ser355 ,Ala356 ,Trp357,Asp358 ,Asp377 ,Val379,Val380 , His383 ,Glu384 ,His387 ,phe391 ,His410 ,Glu411 ,Asp415 ,Asp453 ,Lys454 ,Phe457 ,Lys511 , Phe512 ,His513 ,Ser516 ,Val518 ,Tyr520 ,Arg522 ,Tyr523 et Phe527. Par la suite, nous avons préparé un fichier texte comprenant cette liste des résidus. Ce fichier est indispensable pour la génération du protomol par surflex.

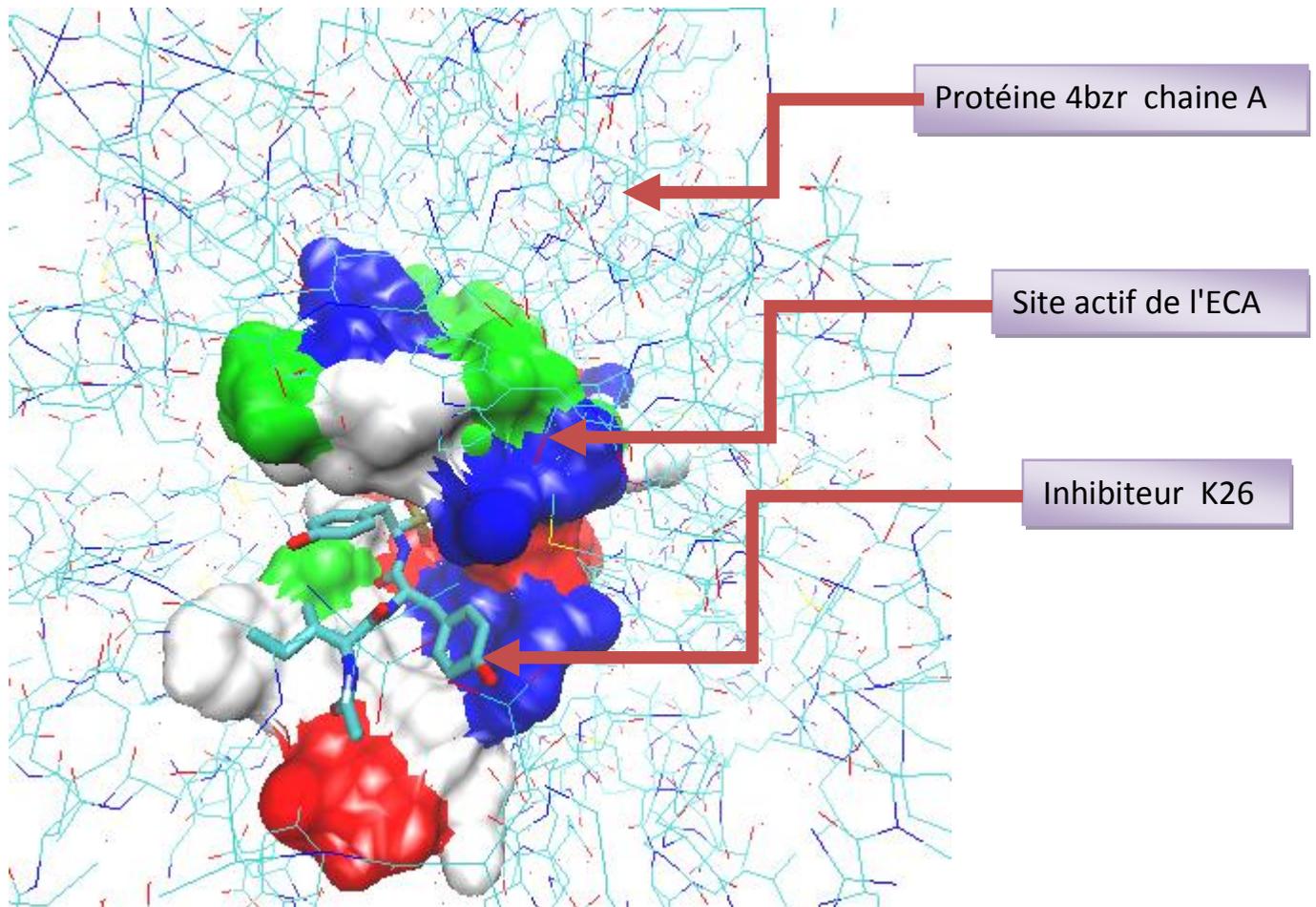


Figure N°5: représentation de la cavité du site actif de l'ECA (code 4BZR en complexe avec l'inhibiteur K26) .

2-3 Préparation de la chimiothèque :

Dans le présent travail, nous avons utilisé 14307 molécules provenant de la chimiothèque nationale française [11]. Ces molécules ont été préalablement préparées (à l'institut de curie) par l'intermédiaire de «Ligprep» et «mmod search» de «SCHRODINGER» afin d'optimiser leur géométrie tout en tenant compte des formes ionisées et les tautomères de chaque composé. Par la suite, nous avons intégré à cette chimiothèque une autre chimiothèque d'évaluation provenant de la DUD-E et contenant 635 composés actifs sur l'ECA [28]. Après génération des tautomères

Chapitre 2: Matériel et méthode

nous avons obtenu au total 22210 composés à cribler virtuellement sur la structure 4BZR en utilisant le programme Surflex sous linux.

Etant donné le nombre très élevé de molécules à tester, nous avons jugé utile de partager la chimiothèque en plusieurs sous-chimiothèques dont chacune contient 50 molécules, ce qui permet d'accélérer la vitesse de calcul. Au totale, nous avons préparé 444 sous-chimiothèques à cribler virtuellement sur l'ECA.

2-4 Génération du protomol :

Le programme surflex utilise l'algorithme de Hammerhead modifié pour réaliser le docking semi-flexible des ligands dans le site actif d'une cible donnée [29]. Dans un premier temps, il génère une pseudo molécule idéal pour interagir avec le site de liaison étudié, communément appelé « *protomol* ». Pour cela, trois types de fragments (CH₄, C=O et N-H) sont placés dans de multiples positions dans le site actif et optimisés pour permettre l'établissement d'interactions avec le site de liaison étudié. Les fragments les mieux scorés son assemblés pour former le protomol qui couvre l'intégralité du site actif (voir figure N°6).

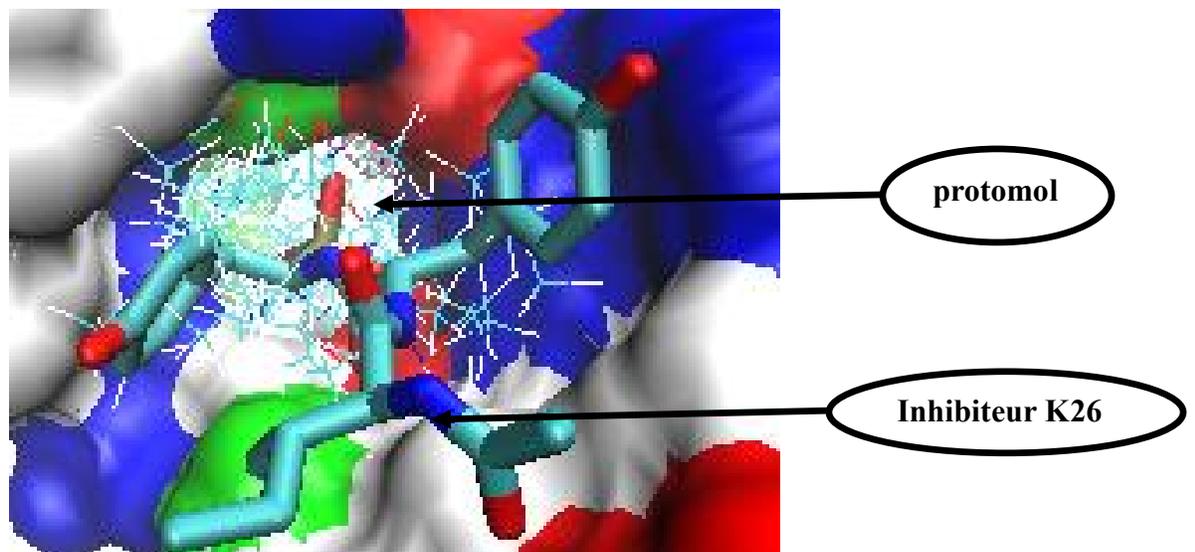


Figure N°6 : Protomol généré pour l'ECA par extension de 6 Å autour du ligand de référence (code PDB: 4BZR).

Chapitre 2: Matériel et méthode

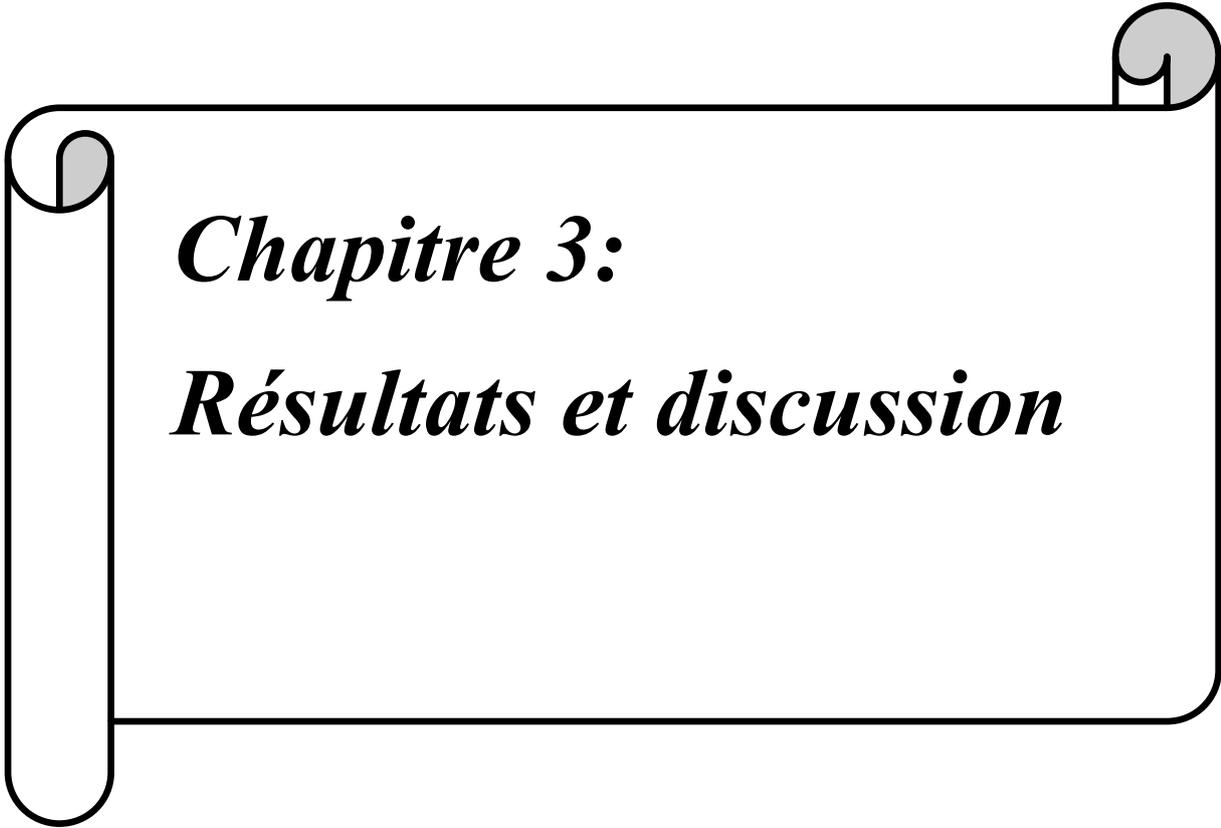
Dans notre travail, nous avons utilisé la chaîne A du code 4BZR sous format mol2 ainsi que la liste de résidus du site de liaison préalablement préparée afin de générer le protomol en utilisant la commande suivante :

```
surflex-dock -proto_thresh 0.5 -proto_bloat 2 resproto liste_residus.txt  
protein.mol2 p1
```

2.5 Criblage virtuel :

Le criblage virtuel par surflex exige une chimiothèque, un protomol et une protéine sous format mol2. Grâce à la commande dock-list, il est possible de lancer les calculs de docking moléculaire d'une liste de molécules à la fois vis-à-vis du même site étudié. Cette liste peut contenir une dizaine jusqu'à des milliers de molécules. Dans notre travail nous avons utilisé plusieurs listes dont chacune contient 50 composés. Le criblage virtuel de ces molécules vis-à-vis de la cible en question en tenant compte du protomol généré dans l'étape précédente est réalisé grâce à la commande suivante :

```
surflex-dock -pgeomx +frag +soft_box dock_list list_molécules.txt p1-protomol.mol2  
protein.mol2
```



Chapitre 3:
Résultats et discussion

Notre travail de master s'articule en trois parties. Nous avons tenté, dans une première partie, de tester la performance du programme de criblage virtuel Surfex utilisé dans ce travail. Dans une deuxième partie, nous avons criblé virtuellement 21557 molécules issues de la chimiothèque nationale française envers l'ECA afin de faire ressortir les meilleurs inhibiteurs dont la biodisponibilité sera vérifiée en appliquant la règle de Lipinski.

1 -Test de fiabilité du programme surflex:

Dans un fichier texte, il est possible d'établir un classement des molécules en fonction de leur score suite au criblage virtuel effectué. Grâce à ce fichier, nous pouvons juger la performance du programme Surfex via le test par « enrichissement ». Ce test, étant parmi les meilleurs moyens permettant de juger la fiabilité d'un programme de criblage virtuel, consiste à tracer une courbe représentant le pourcentage de molécules réellement actives récupérées durant le criblage en fonction de leur classement sur l'ensemble total des molécules criblées (chimiothèque d'évaluation avec la chimiothèque de recherche). Selon Aurrault, un programme de criblage virtuel est aussi fiable s'il est capable de discriminer les molécules réellement actives sur la cible vis-à-vis des autres molécules de la chimiothèque en les sortant dans les premières portions du classement. De ce fait, l'allure de la courbe d'enrichissement doit être hyperbolique au dessus du *random* ($f(x)=x$) [20]. La courbe d'enrichissement obtenue dans notre travail a été tracée à l'aide du programme Gnuplot (voire figure N°7).

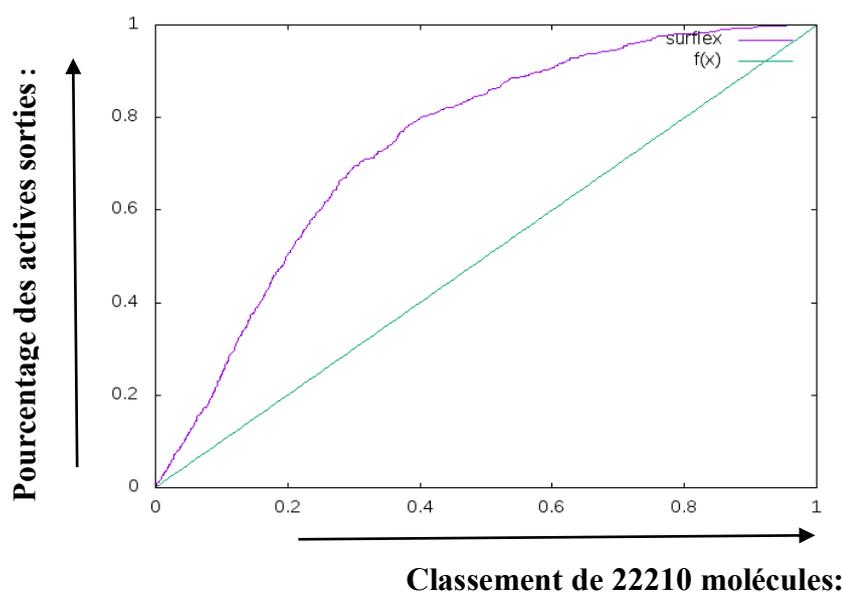


Figure N°:7 : courbe d'enrichissement représentant 22210 molécules.

La figure N°7 montre que l'allure de la courbe d'enrichissement obtenue suite au criblage virtuel (colorée en violet) et bien au dessus du *random* (coloré en vert), ce qui prouve la capacité du programme surflex à discriminer les molécules réellement actives envers l'ECA en les classant parmi les premières molécules sorties du criblage total et ce, conformément au travaux d'Aurrult et al en 2007 [20]. En se concentrant sur les 10 % premières molécules sorties du criblage total, surflex est capable de sortir environ 200 molécules actives envers l'ECA parmi les 653 étudiées (voir figure N°8).

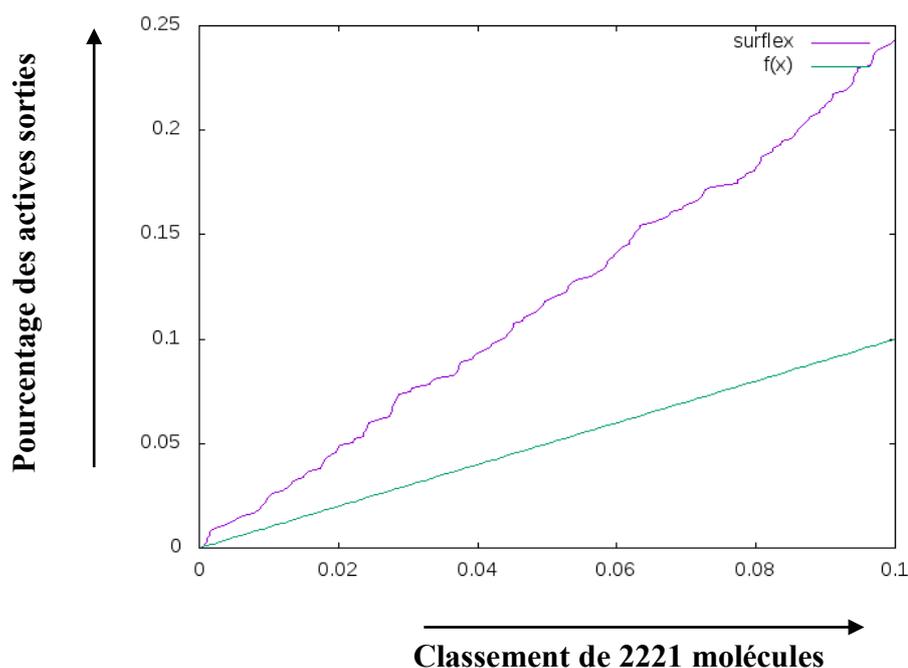


Figure 8: courbe d'enrichissement représentant 10% de la chimiothèque total.

À la lumière des résultats obtenus avec le test de fiabilité par enrichissement, nous pouvons conclure que le programme Surflex est suffisamment performant pouvant être utilisé avec moins de risque d'erreurs pour développer de nouveaux inhibiteurs de l'ECA.

2- Etude d'interactions ECA-composé actif (CHEMBL329801-1):

Afin de proposer de nouveaux inhibiteurs sélectifs et puissants envers l'ECA, il est primordial d'étudier, dans un premier lieu, les mécanismes mis en jeu dans l'interaction du meilleur inhibiteur réellement actif sur la cible. Le criblage virtuel de 653 composés issus de la chimiothèque d'évaluation fait ressortir le composé CHEMBL329801-1 comme meilleur inhibiteur de l'ECA connu jusqu'à présent avec un score s'évaluant à 13.6739.

Chapitre 3: Résultats et discussion

La visualisation des interactions ainsi que le positionnement de ce composé au sein du site actif de l'ECA a été réalisée à l'aide des programmes ViwerLite 4.2 et VMD. Comme le montre la figure N°9, le composé CHEMBL329801-1 établit 6 liaisons hydrogènes avec le site actif de l'ECA. En effet, la fonction carboxylique du résidu Glu384 établit 2 liaisons hydrogènes avec les azotes N°16 et 19 de l'inhibiteur, séparés par une distance de 1.83 et 2.21 Å. De même, le résidu Gln281 s'engage avec son groupement amine par 2 liaisons hydrogènes avec les oxygènes N°6 et 15 de l'inhibiteur, séparés par les distances respectives de 3.01 et 3.16 Å. Le 5^{ème} pont hydrogène est formé entre le groupement thiol N°29 de l'inhibiteur et l'oxygène du résidu Ala356 distantes de 2.23 Å. La dernière liaison hydrogène fait intervenir l'hydroxyle du résidu Tyr520 et l'oxygène N°15 de l'inhibiteur (distance = 3.14 Å). Il est à noter que la stabilité du complexe ECA-CHEMBL329801-1 est également assurée par de nombreuses interactions hydrophobiques précisément avec les résidus His410, Arg523, Phe527, Asp415 Glu411, His410, Ser355, Tyr523, Asp453.

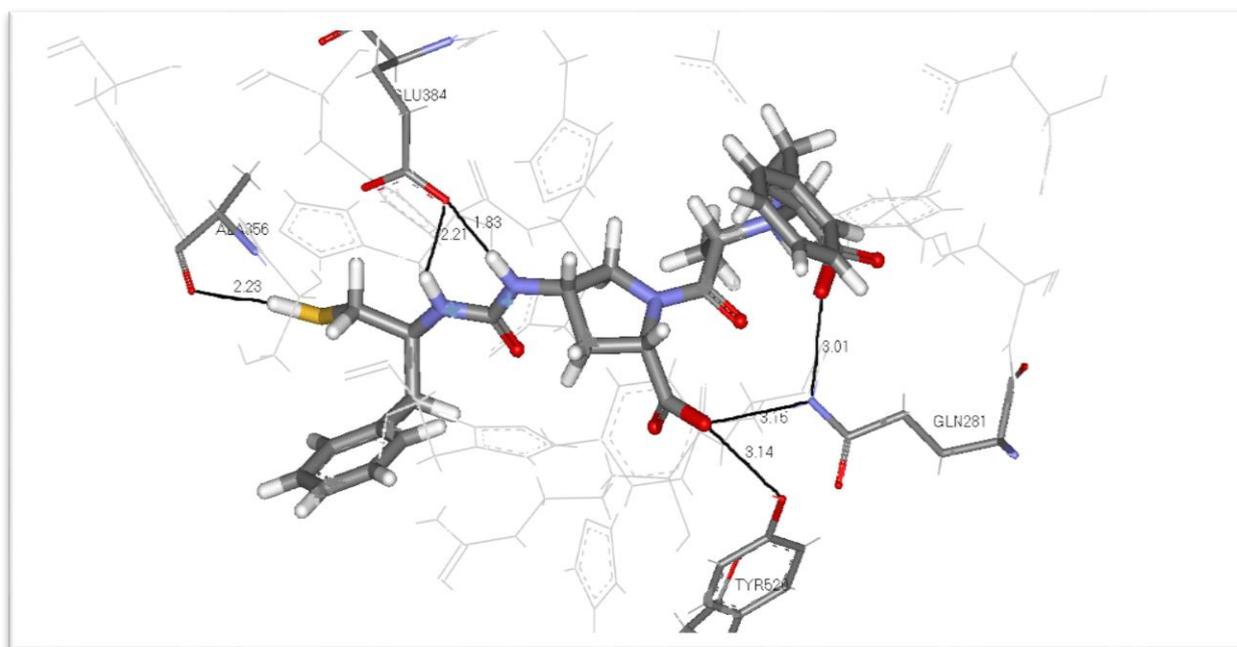


Figure:9 interactions entre le composé CHMBL329801-1 et le site actif de l'ECA.

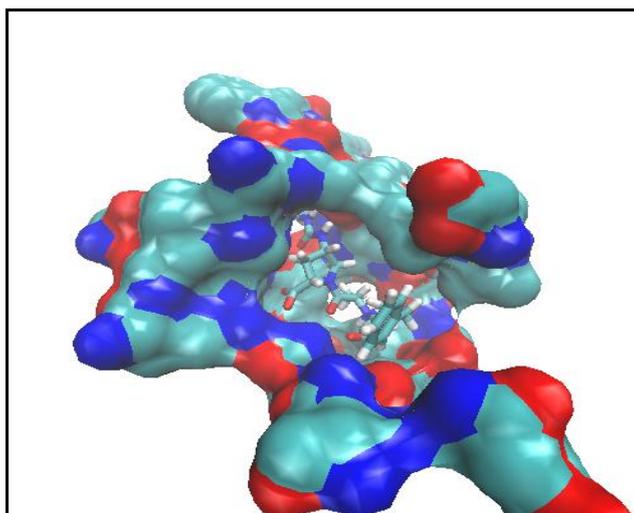


Figure N°10: positionnement du composé CHEMBL329801-1 dans le site actif de l'ECA.

3-Etude d'interactions ECA-composés proposés:

Dans la perspective de proposer de nouveaux inhibiteurs de l'ECA, nous avons réalisé un criblage virtuel d'une collection de 21557 molécules appartenant à la chimiothèque nationale française envers la cible en question. Ce criblage fait ressortir les composés présentés dans le tableau N°1 comme nouveaux inhibiteurs théoriquement puissants envers l'ECA.

Tableau N°1: Résultats des meilleures molécules sorties du criblage virtuel.

Code de la molécule dans la chimiothèque:	Score:
15255-7	16.6655
15254-6	16.0620
11532-2	15.3860
2424	14.0912
15253-2	14.0205
12241-15	13.8682
CHEMBL329801-1	13.6739

Afin de vérifier la sélectivité de ces molécules envers la cible étudiée, nous avons jugé intéressant de visualiser leur positionnement et de comprendre les mécanismes mis en jeu dans leur interaction envers le site actif de l'ECA. Cette étude a été réalisée à l'aide des programmes de visualisation moléculaire ViewLite et VMD.

3-1 Le complexe ECA-15255-7:

Avec un score d'évaluation à 16.6655, le composé **15255-7** se présente comme meilleur inhibiteur résultant du criblage virtuel effectué. L'analyse visuelle montre que ce composé inhibe sélectivement l'ECA en formant 6 liaisons hydrogènes dont deux font intervenir l'azote N°15 de l'inhibiteur et les oxygènes de la fonction carboxylique du résidu Asp453, séparés par les distances respectives de 1.97 et 2.42 Å. De même, deux autres liaisons hydrogènes sont formées entre l'azote N° 3 de l'inhibiteur et les oxygènes de la fonction carboxylique du résidu Asp415, avec les distances de 2.22 et 2.13 Å. Les deux dernières liaisons sont formées entre l'azote N°16 de l'inhibiteur et les oxygènes de la fonction carboxylique du résidu Glu411, distantes de 1.96 et 2.45 Å. Il est à noter que le complexe ECA-15255-7 est stabilisé par des interactions hydrophobiques avec les résidus His387, Ala354, His353, Lys454 et Thr282 du site actif de l'ECA. (Voir figure 11,12).

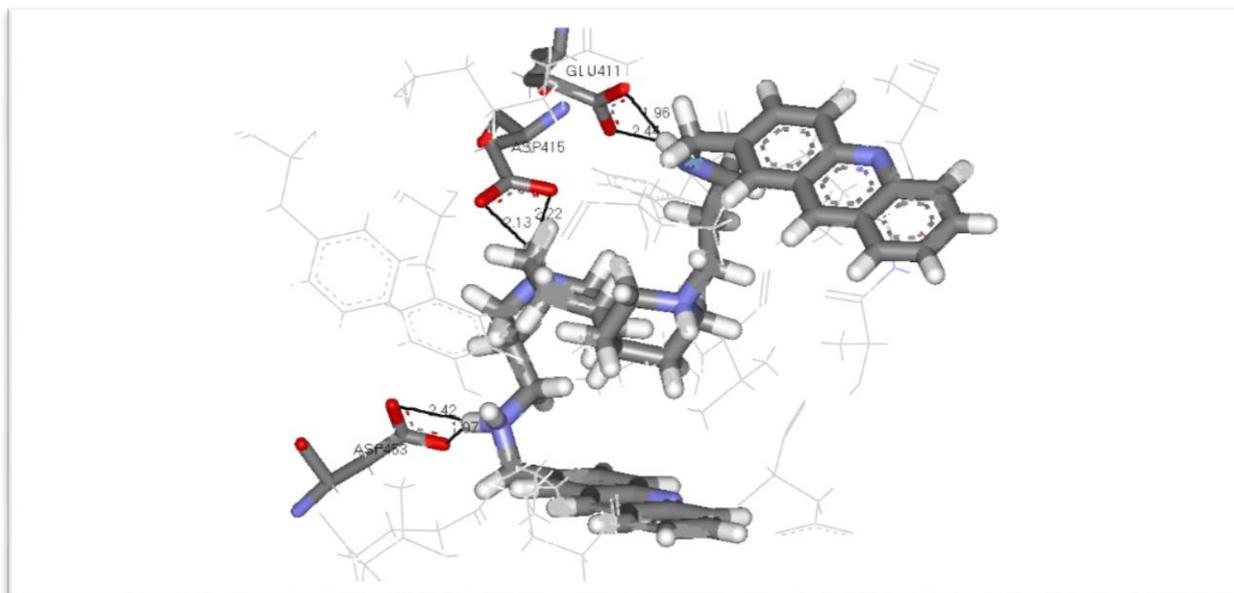


Figure N°11: interactions entre le composé 15255-7 et le site actif de l'ECA

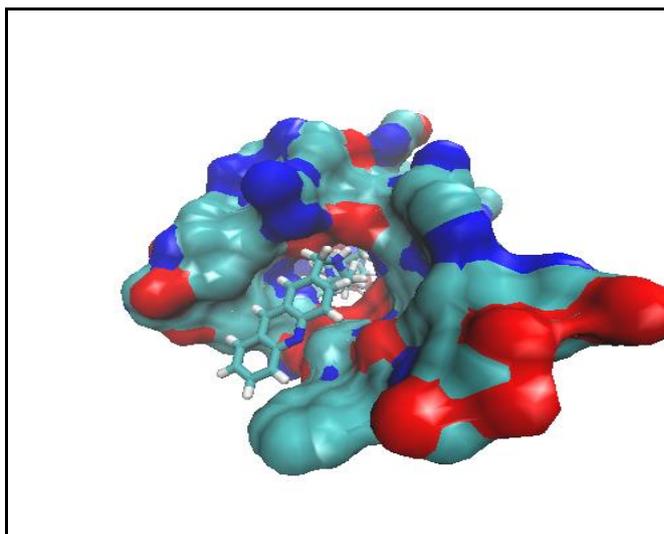


Figure N° 12: positionnement du composé 15255-7 dans le site actif de l'ECA.

3-2-Le complexe ECA-composé 15254-6:

Etant deuxième molécule sortie du criblage virtuel avec un score de 16.062, le composé **15254-6** se présente comme inhibiteur théoriquement très puissant envers l'ECA. L'analyse visuelle révèle la présence de 4 ponts hydrogènes ; les deux premiers sont formés entre l'azote N°16 de l'inhibiteur et les oxygènes de la fonction carboxylique du résidu Asp453, séparés par les distances de 2.4 et 2.06 Å. Quant aux deux autres ponts hydrogènes, ils sont formés entre l'azote N°15 de l'inhibiteur et les oxygènes de la fonction carboxylique du résidu Glu384, avec les distances de 2.06 et 2.46 Å. Ce complexe est également stabilisé par des interactions hydrophobiques entre l'inhibiteur et les résidus His387, His383, Asp415, Thr282, Asn277, Gln281 et Lys454. (Voir Figure 13,14).

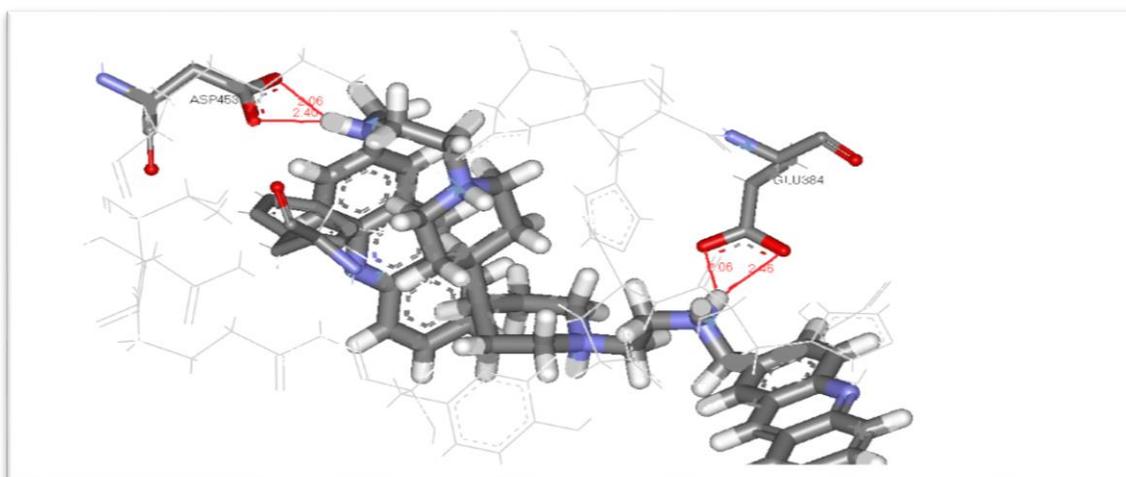


Figure N°13: interactions entre le composé 15254-6 et le site actif de l'ECA.

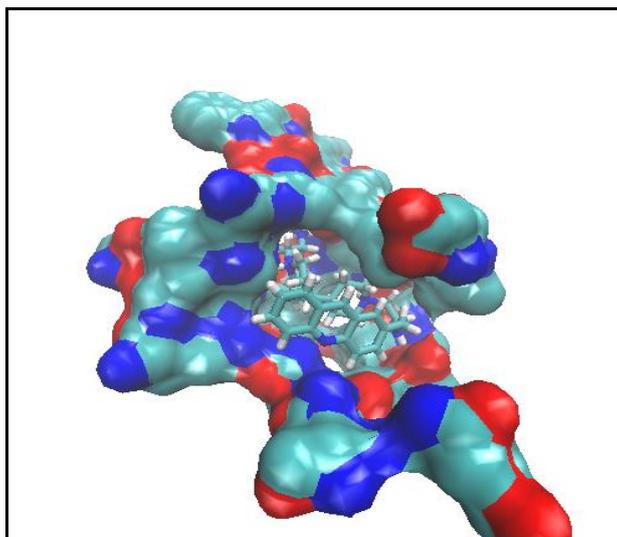


Figure N°14: positionnement du composé 15254-6 dans le site actif de l'ECA.

3-3 Le complexe ECA-composé 11532-2:

Le criblage réalisé par surflex fait ressortir le composé **11532-2** en troisième position avec un score égal à 15.3860. ce score se traduit par la présence de nombreuses interactions hydrophobiques entre l'inhibiteur et les résidus Tyr520, Tyr523, Glu411, Ser355, Lys454, Val320, Asp377, Thr282 et Ala354 du site actif de l'ECA. (Voir figure 15,16)

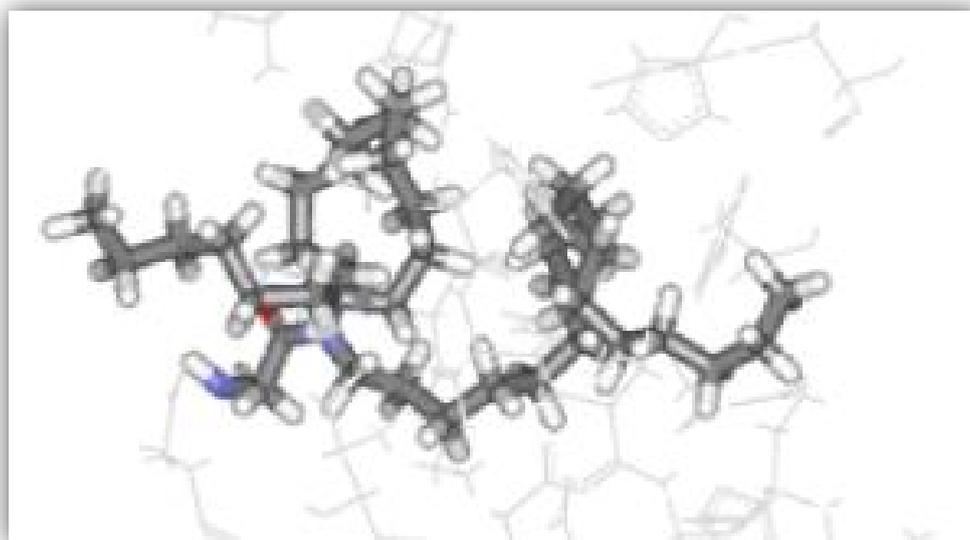


Figure N°15: interactions entre le composé 11532-2 et le site actif de l'ECA.

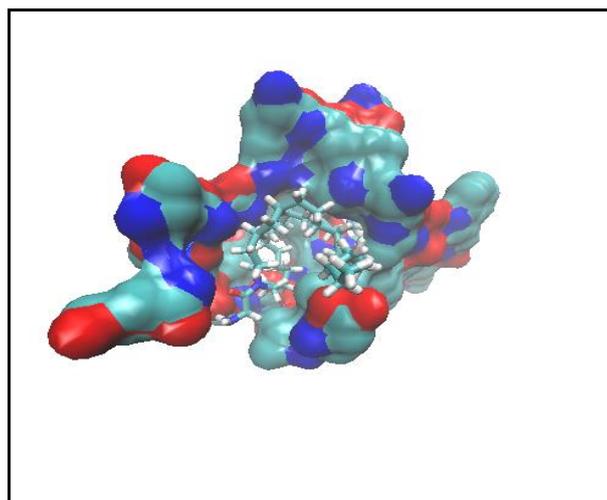


Figure N°16: positionnement du composé 11532-2 dans le site actif de l'ECA.

3-4 Le complexe ECA-composé 2424:

Le composé 2424 est le quatrième inhibiteur retenu dans ce travail avec un score de 14.0912. Grâce à son azote N°10, ce composé forme 2 liaisons hydrogènes avec les oxygènes de la fonction carboxylique du résidu Glu 384, séparés par les distances de 2.08 et 2.4 Å. Il faut également souligner l'intervention des résidus Val379, His513, Tyr520, Glu411, His387, Asp415 et His383 dans la stabilité du complexe ECA-composé 2424 en permettant la formation de nombreuses interactions de type hydrophobe (voir figure N°17.18).

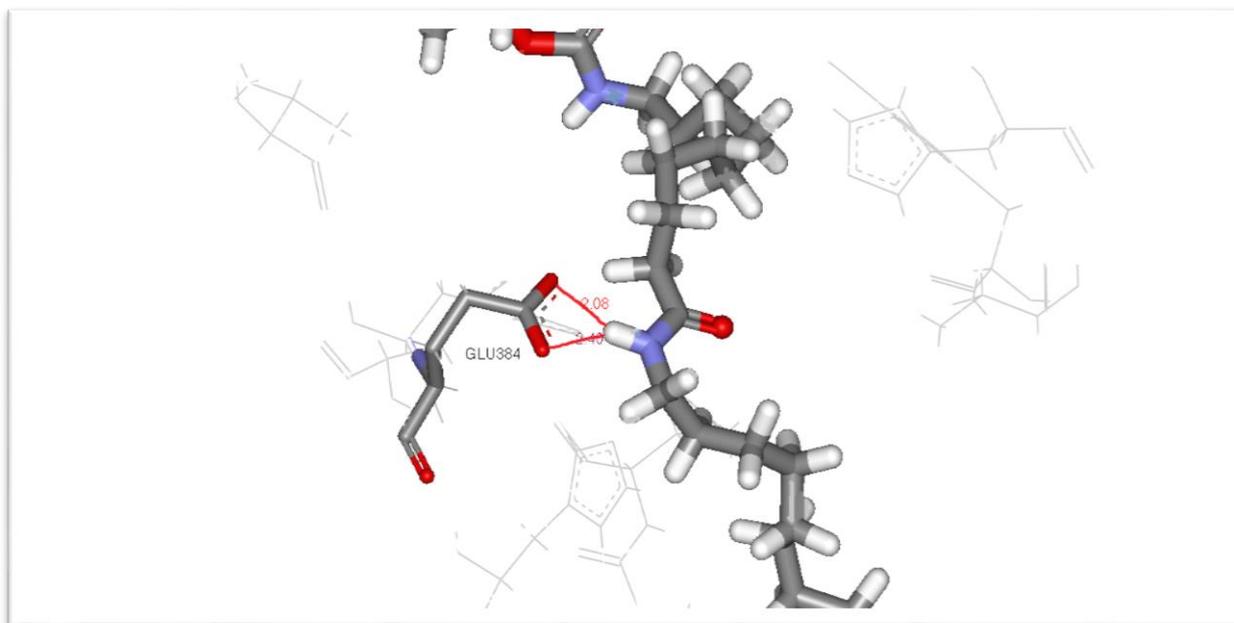


Figure N°17: interactions entre le composé 2424 dans le site actif de l'ECA.

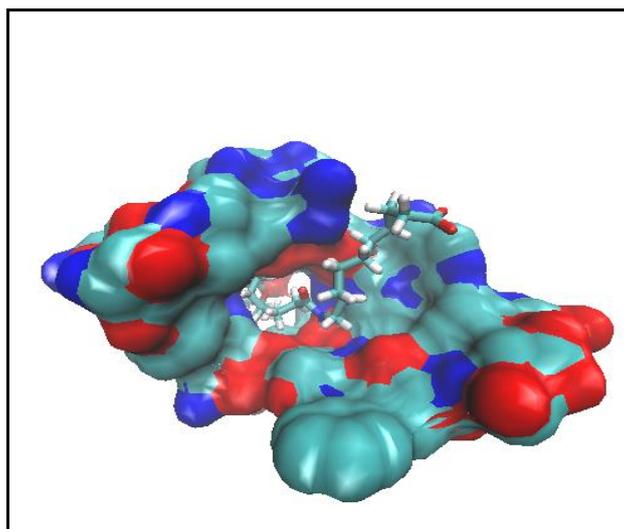


Figure N°18: positionnement du composé 2424 dans le site actif de l'ECA.

3-5 Le complexe ECA- composé 15253-2:

Le criblage réalisé par surflex fait ressortir le composé 15253-2 en cinquième position parmi les 21557 composés testés. Son score s'évaluant à 14.0205 résulte de la mise en place de deux liaisons hydrogènes entre l'azote N°15 de l'inhibiteur et l'azote du noyau imidazole de His387 d'un côté et la fonction carboxylique du résidu Glu384 de l'autre côté séparés par les distances respectives de 2.08 et 1.83 Å. Il est à noter que le complexe ECA-15253-2 est également stabilisé grâce à de nombreuses interactions de type hydrophobe faisant intervenir les résidus His410, Asp413 His353, Thr282 et Lys454 du site actif de l'ECA. (Voir figure 19,20).

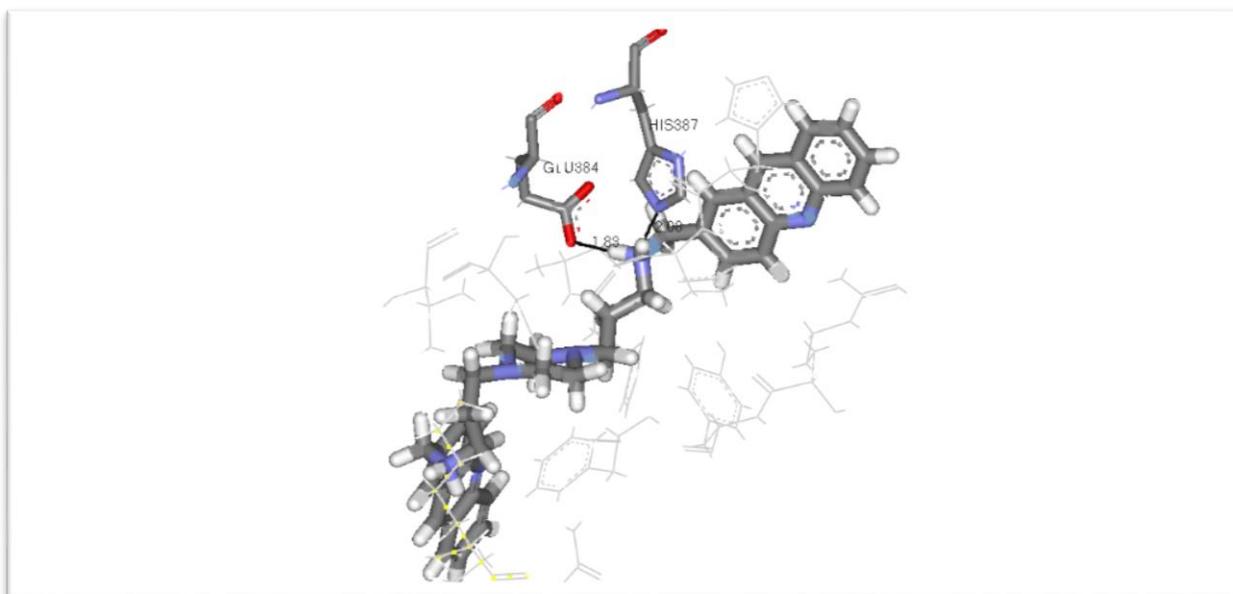


Figure N°19: interactions entre le composé 15253-2 et le site actif de l'ECA.

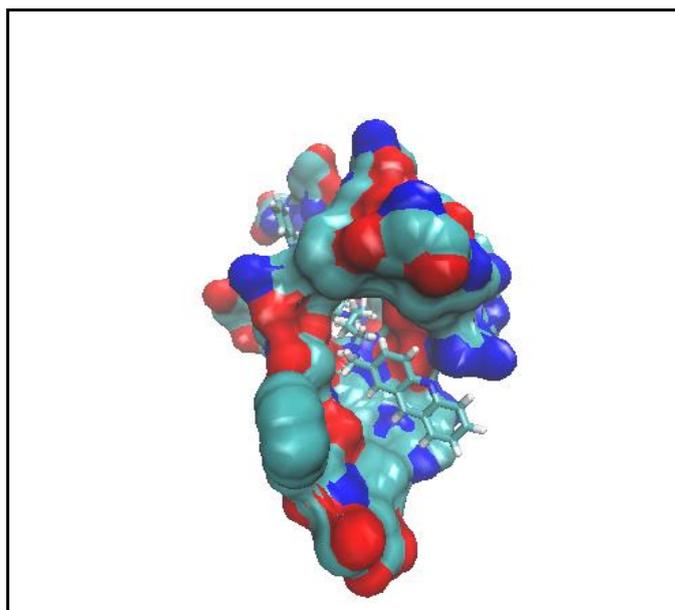


Figure N°20: positionnement du composé 15253-2 dans le site actif de l'ECA.

3-6 Le complexe ECA-composé 12241-15:

Le criblage réalisé par surflex fait ressortir le composé **12241-15** en sixième position avec un score égal à 13.8682. L'analyse visuelle montre que ce composé n'établit aucune liaison hydrogène avec le site actif de l'ECA. Il est donc stable au sein de ce site grâce aux interactions hydrophobiques formées avec les résidus His513, Phe512, Lys511, Tyr523, Phe527, Thr282, Asp377, Tyr520 et Val379 du site actif de l'ECA.(voir figure 21,22).

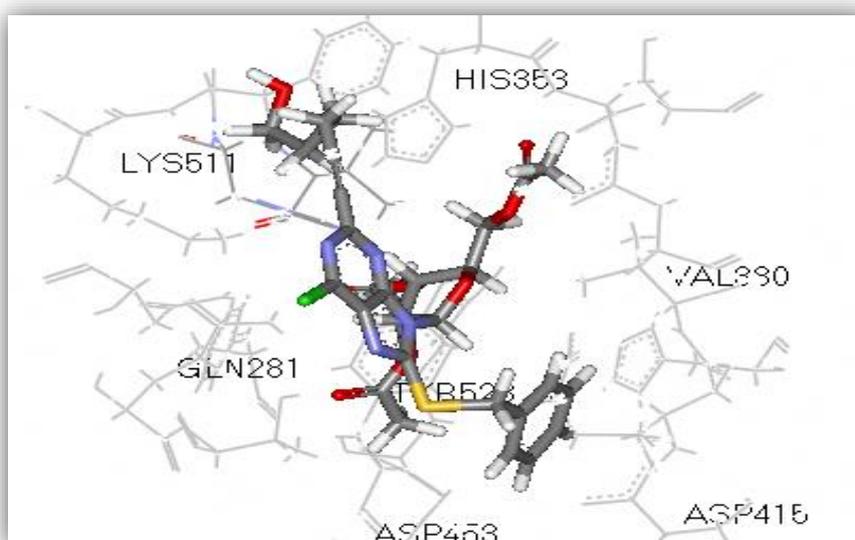


Figure N°21: interactions entre le composé 12241-15 et le site actif de l'ECA

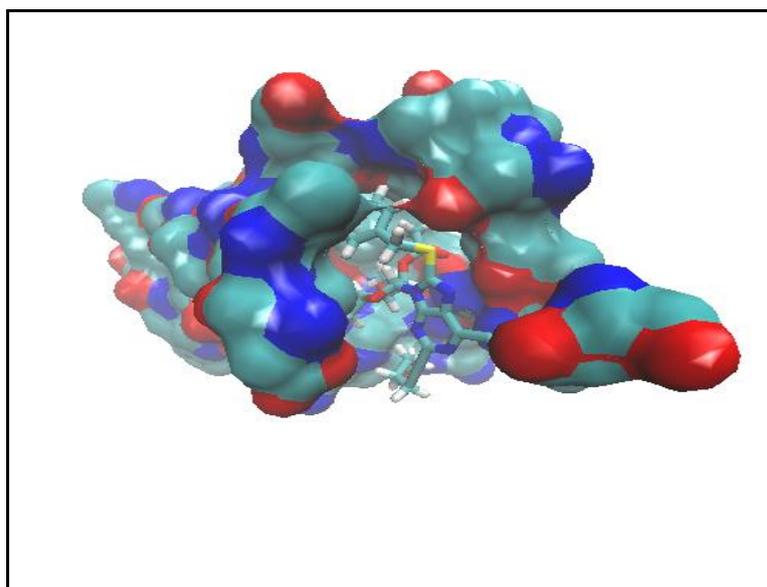


Figure N°22: positionnement du composé 12241-15 dans le site actif de l'ECA.

4- Filtrage ADME:

Il était très important de compléter cette étude par l'application de la méthode de filtrage ADME qui est basée sur la règle de cinq, énoncé en 1997 par Christopher Lipinski [30], afin de nous renseigner sur les propriétés pharmacocinétiques (ADME) des molécules proposées après criblage virtuel. [31]. Cette éventuelle règle repose sur les propriétés physico-chimiques suivantes :

- Un poids moléculaire (PM) maximum de 500 dalton.
- Un maximum de 5 liaisons H-donneurs (DH) (OH ou NH).
- Un maximum de 10 liaisons H-accepteurs (AH) (O ou N).
- Nombre de liaisons rotatives ou flexibles (LF) ≤ 15 .
- Un coefficient de partage octanol / eau "log P" pour donner une idée sur la polarité des molécules, doit être compris entre -2 et 5.

Selon cette règle un composé possède toutes les chances d'être disponible oralement s'il respecte au moins 3 de ces 5 critères [32]. Dans notre travail, nous avons appliqué cette règle sur

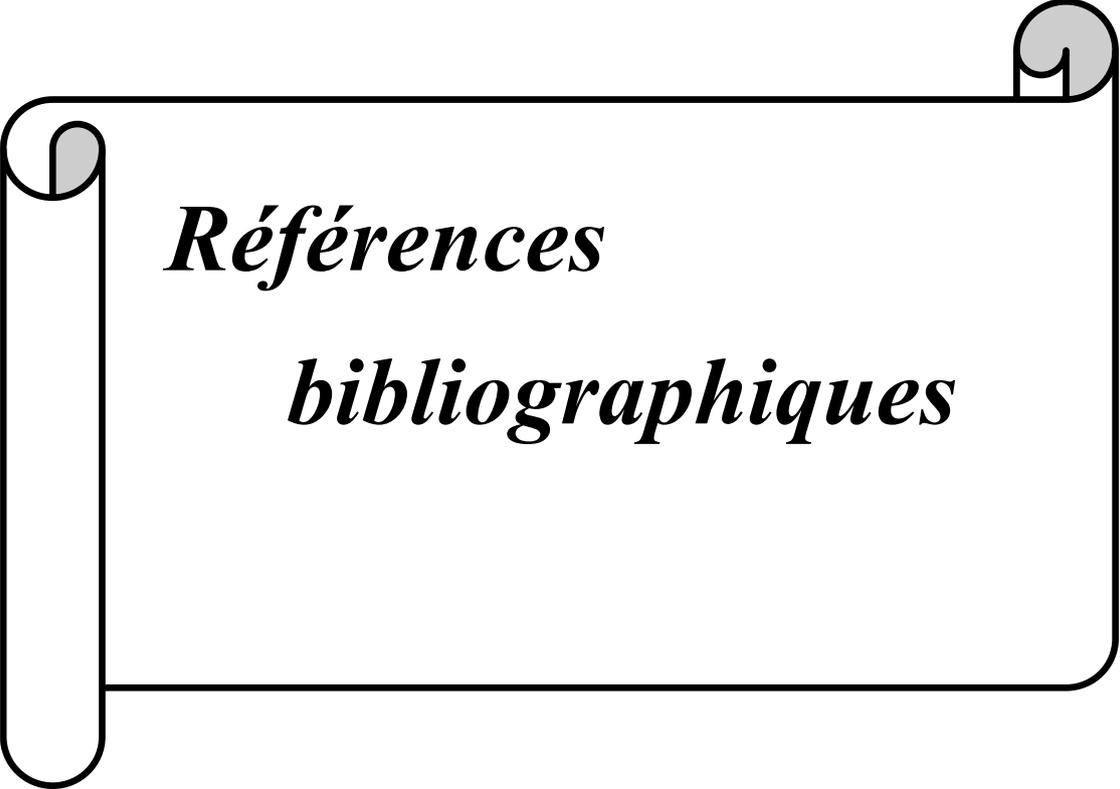
Chapitre 3: Résultats et discussion

les 6 molécules proposées en utilisant le serveur Molinspiration [33]. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau N°2:

Tableau N° 2 : Critères de la règle de Lipinski pour les inhibiteurs proposés.

	PM	AH	DH	LF	Log P
15255-7	666.96	6	4	13	3.78
15254-6	638.9	6	4	11	3.24
11532-2	565.07	2	2	36	10.22
2424	326.61	2	2	20	7.57
115253-2	584.81	6	4	12	2.44
12241-15	631.11	12	1	14	3.92
CHEMBL 329801-1	556.68	10	5	13	-0.68

À l'issue de ce test, les composés 15255-7, 15254-6, 2424, 15253-2 et 12241-15 peuvent être proposés comme étant de nouveaux inhibiteurs théoriques de l'ECA, pouvant être administrés par voie orale, ce conformément à la règle de Lipinski. Cependant, le composé 11532-2 n'est pas considéré comme candidat potentiel car ne validant pas cette règle.



Références

bibliographiques

Références bibliographiques:

- [1] Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide deformylase –substances antibactériennes à l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat d'université : microbiologie. Constantine : Université Frères Mentouri. Algérie. 2007. 126 p.
- [2] Actualités-Biologie. Indinavir. [En ligne] <http://www.boinc-af.org/actualites-biologie/1066-fightaidshome-progression-du-projet-et-lettre-dinformation-nd6.html>. Consulté le : [13-03-2013].
- [3] Chebira M ., Boudjaadar W. contribution à la mise en évidence de nouveaux anti-inflammatoires par docking moléculaire. Thèse de Master d'université :Biochimie Moléculaire et Santé. Constantine : Université Frères Mentouri. Algérie. 2014. 104 p.
- [4] Glide memorial united methodist church glide foundation. Glide. [En ligne] <http://www.schrodinger.com/Products/glide.html>. Consulté le [12-03-2016].
- [5] Athlete assistance program. Gold. [En ligne] http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/. Consulté le [11-03-2016].
- [6] Center for bioinformatics university Hamburg . FlexX. [En ligne] <http://www.biosolveit.de/FlexX/>. Consulté le [16-03-2016].
- [7] Surfex platform manual - BioPharmics LLC. Surfex. [En ligne] <http://www.biopharmics.com/products.html>. Consulté le [22-03-2016].
- [8] Nathalie L. méthode de criblage virtuel *in silico* : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de doctorat d'université : bioinformatique. Paris: Université Paris-Sud. France. 2014. 317 p.
- [9] Judith E. Drug design *in silico* criblage virtuel de protéines a visée thérapeutique. Thèse de doctorat d'université : chimie-physique. Bordeaux : Université de Bordeaux 1. France. 2011. 251 p.
- [10] Hazan C. Recherche d'inhibiteurs de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN. Thèse de doctorat d'université : Biologie structurale. Toulouse : l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. France. 2008. 258 p.

Références bibliographiques:

- [11] Centre national de la recherche scientifique. Chimiothèque nationale française. [En ligne] chimiotheque-nationale.cn.cnr.fr/. Consulté le [11-04-2016].
- [12] Centre national de la recherche scientifique. Zinc. [En ligne] zinc.docking.org/. Consulté le [05-04-2016].
- [13] Centre national de la recherche scientifique. PubChem. [En ligne] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consulté le [05-04-2016].
- [14] Protein Data Bank. [En ligne] www.rcsb.org/pdb/home/home.do. Consulté le [20-03-2016].
- [15] Bessadok M.A. La multiplicité de transport de la P-glycoprotéine : Etudes de modélisation comparative et de docking au sein de la famille des protéines ABC. Thèse de doctorat d'université : Bioinformatique Structurale. Paris : université pierre et marie curie. France.2011. 189 p.
- [16] Asses Y. Conception par modélisation et criblage *in silico* d'inhibiteurs du récepteur c-Met. Thèse de doctorat d'université : Chimie Informatique et Théorique. Nancy I : Université Henri Poincare. France. 2011.137p.
- [17] Chikhi A., Bensegueni A. Docking Efficiency Comparison of Surflex, a Commercial Package and Arguslab, a Licensable Freeware. *Journal of Computer Science and Systems Biology*. 2008; **1**: 081-086.
- [18] Gabb J., Jackson R. M., Sternberg M. J. E. Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *Journal of Molecular Biology*. 1997; **272**: 106-120.
- [19] Bioinformatique. Rmsd. [En ligne] <http://bioinfo-fr.net/comparaison-de-structures-le-rmsd#sthash.uAIRSO2c.dpuf>. Consulté le [28-04-2016].
- [20] Arrault A. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de doctorat d'université : Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. Orléans : Université d'Orléans. France. 2007. 176 p.

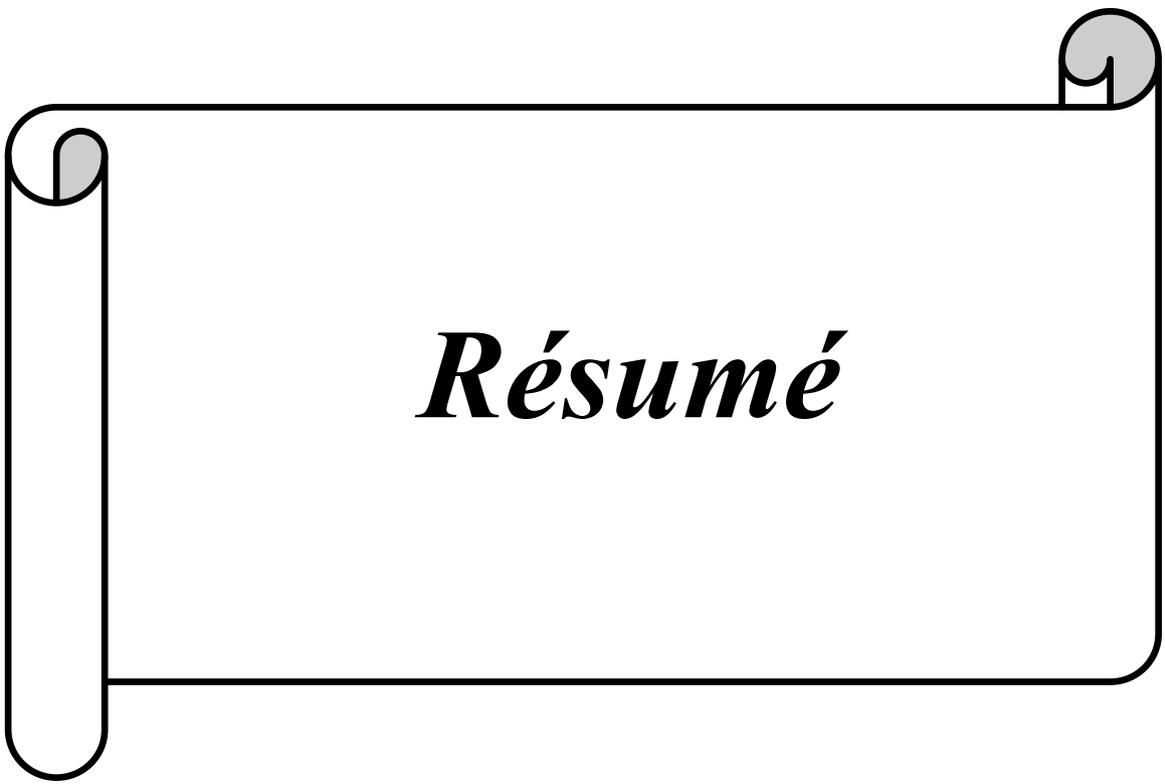
Références bibliographiques:

- [21] European Society Of Cardiology. Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA II). [En ligne] <http://www.heartfailurematters.org/FR/WhatCanYourDoctorDo/Pages/213> Consulté le : [07-03-2013].
- [22] Communauté francophone d'utilisateurs d'Ubuntu. Ubuntu 14.04. [En ligne] www.ubuntu.com. Consulté le [28-04-2016].
- [23] Robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. Surflex-dock. [En ligne] <http://dl.acm.org/citation.cfm?id=1358869>. Consulté le [05-04-2016].
- [24] Theoretical and computational biophysics group. VMD v 1.9.1. [En ligne] <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/vmd-1.9.1/>. Consulté le [28-04-2016].
- [25] Software development computer programming and software engineering. MSViewer v 4.2. [En ligne] <http://viewerlite.software.informer.com/4.2/>. Consulté le [28-04-2016].
- [26] Gnuplot 5.0.3. [En ligne] www.gnuplot.info. Consulté le [28-04-2016].
- [27] Open Babel 2.0.2. [En ligne] <http://openbabel.org>. Consulté le [29-04-2016].
- [28] Centre national de la recherche scientifique. DUD-E. [En ligne] <http://dude.docking.org>. Consulté le [29-04-2016].
- [29] Jones G., Willett P., Glen RC. Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation. *Journal of molecular biology*.1995. **245**: 43-53.
- [30] 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. *Advanced drug delivery reviews*. 1997; **23**: 3-25..
- [31] Krid Y. Conception *in silico* de nouveaux flavonols inhibant potentiellement l'enzyme de conversion de l'angiotensine pour le traitement de l'hypertension artérielle. Mémoire de master d'université : Biochimie moléculaire et santé. Constantine : Université des Frères Mentouri. Algérie. 2013. 90.

Références bibliographiques:

[32] Teniou S. Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Mémoire de magistère d'université : Biochimie. Constantine : Université des Frères Mentouri. Algérie. 2012. 90.

[33] Calculation of molecular properties. Molinspiration. [En ligne]. <http://www.Molinspiration.com>. Consulté le [15/05/2016].



Résumé

Résumé:

Dans le cadre de concevoir de nouveaux inhibiteurs de l'ECA, une nouvelle technique informatique a été envisagée: c'est le criblage virtuel. Cette approche permet de simuler les interactions entre une protéine et des milliers de candidats moléculaires. Dans notre travail, nous avons utilisé le programme surflex afin de chercher de nouveaux inhibiteurs de l'ECA, cible thérapeutique impliquée dans l'HTA. En effet, une collection de 21557 molécules issues de la chimiothèque national française a été testée envers le site actif de l'ECA. À l'issue de ce criblage, les composés 15255-7, 15254-6, 2424, 15253-2, 12241-15 ayant les meilleurs scores sont de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus sélectifs et affins envers l'ECA. L'application de la règle de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés physico-chimiques de ces nouvelles molécules.

Mots clés: Surflex, criblage virtuel, ECA, inhibiteur, score.

Abstract:

During the course of designing new inhibitors of the ECA, a data-processing novel process was considered: it is the virtual sifting, this approach makes it possible to simulate the interactions between a protein and thousands candidates of molecules. In our work, we used the program surflex in order to seek new inhibitors of the ECA, target therapeutic implied in the HTA. Indeed, a collection of 21557 molecules comes from the national French chimiotheque was tested towards the active site of the ECA, has the exit of this sifting, compounds 15255-7, 15254-6, 2424,15253-2 and 12241-15 having the best scores are new inhibitors theoretically more selective and closely connected towards the ECA. The application of the rule of Lipinski informs us in a positive way about the physicochemical properties of these new molecules.

Keywords: Surflex, virtual sifting, ECA, inhibitor, score.

ملخص:

في سياق بحثنا عن مثبطات جديدة لانزيم ECA , تقنية معلوماتية جديدة اخذت بعين الاعتبار و هي: criblage virtuel. هذه المنهجية تسمح بمحاكاة التفاعلات بين البروتين و الاف الجزيئات المترشحة . في عملنا هذا استعملنا برنامج surflex للبحث عن مثبطات جديدة, هدف مهم لعلاج ارتفاع ضغط الدم. مجموعة مكونة من 21557 جزيء اختبرت في الموقع الفعال لانزيم ECA. بعد هذا criblage, المركبات 15253-2, 2424, 15254-6, 15255-7 و 12241-15 حصلت على احسن score هي مثبطات جديدة نظريا اكثر انتقائية و انجذابا نحو انزيم ECA تطبيق قاعدة Lipinski تعلمنا بطريقة ايجابية عن الخصائص الفيزيوكيميائية لهذه المثبطات المقترحة.

الكلمات المفتاحية Surflex, criblage virtuel, ECA, inhibiteur, score.

CONTRIBUTION À LA MISE EN ÉVIDENCE DE NOUVEAUX INHIBITEURS DE L'ECA PAR CRIBLAGE VIRTUEL.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en biochimie moléculaire et santé.

Résumé:

Dans le cadre de concevoir de nouveaux inhibiteurs de l'ECA, une nouvelle technique informatique a été envisagée: c'est le criblage virtuel. Cette approche permet de simuler les interactions entre une protéine et des milliers de candidats moléculaires. Dans notre travail, nous avons utilisé le programme surflex afin de chercher de nouveaux inhibiteurs de l'ECA, cible thérapeutique impliquée dans l'HTA. En effet, une collection de 21557 molécules issues de la chimiothèque national française a été testée envers le site actif de l'ECA. À l'issue de ce criblage, les composés 15255-7, 15254-6, 2424, 15253-2, 12241-15 ayant les meilleurs scores sont de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus sélectifs et affins envers l'ECA. L'application de la règle de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés physico-chimiques de ces nouvelles molécules.

Mots clés : Surflex, criblage virtuel, ECA, inhibiteur, score.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biologie Appliqué et Santé.

Jury d'évaluation :

Président du jury : *BENSEGHENI A.* (Professeur à UFM Constantine),
Rapporteur : *MOKRANI E.H.* (Maitre assistant A à UFM Constantine),
Examinatrice : *TENIOU S.* (Maitre assistant A à UFM Constantine).

Date de soutenance : 12 /06/2016