

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des sciences de la nature et de la vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Département de Biochimie et de Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'ADAMTS-5 pour
le traitement de l'arthrose.

❖ **Présenté et soutenu publiquement :**

- Le : 07 - 07 - 2019
- Par : ZEMOURI Rania

DEHAMCHI Abdelkarim

❖ **Jury d'évaluation :**

- Président du jury : Mr. CHIKHI A (Professeur - UFM Constantine-1)
- Rapporteur : Mr. MOKRANI E. H (Maitre Assistant ' A' - UFM Constantine-1)
- Examineur : Mr. BENSEGUENI A (Professeur - UFM Constantine 1)

Promotion : 2018 / 2019

« *Remerciement* »

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre rapporteur **Mr MOKRANI E.H**, Maître assistant « A » à l'Université Frères Mentouri Constantine -1 pour nous avoir encadré durant toute la période de préparation du mémoire, pour tout le temps qu'il nous a consacré, les conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi de ce travail.

Nous tenons à exprimer toute reconnaissance à **Mr CHIKHI A**, Professeur à l'Université Frères Mentouri Constantine -1, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Nos vifs remerciements vont également **Mr BENSEGUENI A**, Professeur à l'Université Frères Mentouri Constantine-1 de nous avoir fait l'honneur de participer au jury de ce mémoire.

Nous n'oserions oublier de remercier tout le corps professoral de l'Université Frères Mentouri Constantine-1, pour le travail énorme qu'il effectue pour nous créer les conditions les plus favorables pour le déroulement de nos études.

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

Merci à Tous

Dédicace Rania



*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut ...
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour à vous ...*

À ma formidable maman : qui a œuvré pour ma réussite, de part par son amour, ses prières et son soutien, sa tendresse, tous les sacrifices consentis et ses conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

À mon superbe père : qui peut être fière et trouver ici le résultat de longues années de ses sacrifices. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi. Je suis très fière d'être votre fille et de pouvoir enfin réaliser ce que vous avez tant espéré.

À mes très chers frères Rami et Raid et ma princesse adorée sœur Racha pour leurs sacrifices leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

À mon cher binôme Abdelkarim, qui n'a cessé de me soutenir et de m'aider tout le long de ce travail, un grand MERCI à vous.

*À mes amies que j'ai vécues avec elles des bons moments : Wahiba,
Kaouther, Karima, Rayane, Oumaima, Zinebe, Chahinez et Linda.*

À mes amis (es) de la promotion biochimie appliquée 2019.



Dédicace Abdelkarim



Je dédie ce travail :

À Mes chers parents, Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Merci d'être toujours là pour moi

À mes chères et adorables frères et sœurs. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

À mes petites princesses Aya et Karima Aline

À ma chère binôme Rania qui m'a aidé et qui m'a supporté durant la réalisation de ce travail, et chez qui j'ai trouvé l'entente dont j'avais besoin.

À tous mes collègues de promotion et plus particulièrement Oussama, Walid, Djihane, Halla, Ibtissem, Salsabil, Oumeima et Sabrina. Ce fut un honneur de vivre cette période de ma vie avec vous.

Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous, Votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur.



Table des matières

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

Partie théorique

CHAPITRE 1: LA MALADIE DE L'ARTHROSE

1.Introduction.....	3
2.Épidémiologie.....	4
3.Symptômes.....	5
4.Facteurs de risque.....	5
5.Traitement médicamenteux.....	6
5.1.Les antalgiques	6
5.2.Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	7
5.3.Les injections intra-articulaires.....	7
5.4.Les anti-arthrosiques symptomatiques d'action lente (AASAL).....	8
5.5.Traitement par inhibition des enzymes du catabolisme.....	9

CHAPITRE 2 : LES STRUCTURES MISES EN JEU

1. Introduction	10
2. ADAMTS-5.....	11
2.1. Généralités et Propriétés.....	11
2.2. Rôle physiologique.....	11
2.3. Structure	12

2.4. Structure de site actif	13
3. Les inhibiteurs de l'ADAMTS-5.....	14
3.1. Les dérivés de 5'-Phenyl-3'H-spiro [indoline-3, 2'-[1, 3, 4] thiadiazol]-2-one.....	14
3.2. Les dérivés de l'Arylthioxothiazolidinone	15
3.3. Les dérivés de benzimidazole.....	15
3.4. Les dérivés de thiazole portant thiazolidine-4-one.....	15
3.5. Les dérivés de N-(8-Hydroxy-5-substituted-quinolin-7-yl)(phenyl) methyl-2	16
3.6. GLPG1972/S201086 un nouveau candidat médicament.....	16

CHAPITRE 3 : DOKING MOLECULAIRE

1. Introduction.....	17
2. Types de docking	17
3. Outils de docking moléculaire	18
3.1. Récepteur 3D (cible).....	18
3.2. Ligands 3D (Chimiothèques)	19
3.3. Programmes (Logiciels)	20

Partie pratique

CHAPITRE 4 : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel	21
1.1. Micro-ordinateur.....	21
1.2. Le réseau WEB.....	21
1.3. Banques de données	21
1.3.1. PDB (Protein Data Bank)	21

1.3.2. Pubchem.....	22
1.4. Programmes utilisés.....	22
1.4.1. Titan.....	22
1.4.2. VMD (Visual Molecular Dynamics)	23
1.4.3. AutoDock Tools.....	23
1.4.4. Maestro	24
1.4.5. Open Babel	24
1.5. Excel Microsoft 2010	24
1.6. SwissADME.....	24
1.7. PreADMET.....	25
2. Méthodes.....	25
2.1.Préparation de la cible	25
2.2.Préparation des ligands.....	28
2.3.Docking moléculaire.....	28
2.3.1. Préparation du fichier <i>.pdbqt</i> de la cible.....	28
2.3.2. Préparation de ligands.....	28
2.3.3. Calcul des grilles.....	29
2.3.4. Docking moléculaire.....	29
2.3.5. Analyse des résultats.....	30
2.4. Tests de fiabilité du programme « AutoDock »	30
2.4.1. Test RMSD.....	30
2.4.2. L'analyse visuelle.....	30

2.4.3. Test de corrélation linéaire.....	31
2.5. Identification des meilleurs inhibiteurs	31
2.5.1. Recherche de similarité.....	31
2.5.2. Modification par substitution.....	31
2.6. Filtrage ADMET	32
2.6.1. Propriétés physico-chimiques	33
2.6.2. Propriétés pharmacocinétiques	34
2.6.3. Toxicité.....	35

CHAPITRE 5 : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Fiabilité du programme AutoDock	37
1.1. Test RMSD.....	37
1.2. L'analyse visuelle	38
1.3. Test de corrélation linéaire	39
2. Inhibition de l'ADAMTS-5 par divers inhibiteurs	44
3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'ADAMTS-5	46
3.1. Criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques	46
3.2. Substitution.....	48
3.2.1. Mono-substitution.....	48
3.2.2. Bi-substitution.....	51
4. L'évaluation des propriétés ADMET	54
4.1. Propriétés physico-chimiques.....	54
4.2. Propriétés pharmacocinétiques	56

4.3. Toxicité..... 57

Conclusion et perspective 58

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Liste des figures

<u>Figure N°1 :</u>	Le cartilage et ses composants.....	3
<u>Figure N° 2:</u>	Différence entre un os sain et un os arthrosique.....	3
<u>Figure N°3:</u>	Histogramme du pourcentage des différentes articulations touchées par l'arthrose.....	4
<u>Figure N°4:</u>	Structure chimique de paracétamol (C ₈ H ₉ NO ₂).....	7
<u>Figure N°5:</u>	Structures chimiques des anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	7
<u>Figure N°6:</u>	Structure chimique de glucosamine (C ₆ H ₁₃ NO ₅).....	8
<u>Figure N°7:</u>	Structure chimique de Chondroïtine sulfate (C ₁₃ H ₂₁ NO ₁₅ S).....	8
<u>Figure N°8:</u>	Structure de GLPG1972/S201086.....	9
<u>Figure N°9:</u>	Schéma explicatif de la protéine centrale d'agrécan.....	12
<u>Figure N°10:</u>	Schéma explicatif de clivage d'agrécan par L'ADAMTS-5.....	12
<u>Figure N°11:</u>	Représentation schématique d'ADAMTS-5.....	13
<u>Figure N°12:</u>	Structure de base des dérivés de 5'-Phenyl-3'H-spiro [indoline-3, 2'-[1, 3, 4] Thiadiazol]-2-one.....	14
<u>Figure N°13:</u>	Structure de base des dérivés d'arylthioxothiazolidinone.....	15
<u>Figure N°14:</u>	Structure de base des dérivés benzimidazole.....	15
<u>Figure N°15:</u>	Structure de base des dérivés de thiazole portant thiazolidine-4-one.....	16
<u>Figure N°16:</u>	Structure de base des dérivés de N-((8-Hydroxy-5-substitué-quinolin-7yl) (Phenyl) methyl)-2-phényloxy/amino-acétamide.....	16
<u>Figure N°17:</u>	Représentation schématique du docking moléculaire.....	17
<u>Figure N°18:</u>	Modèle clé-serrure.....	18
<u>Figure N°19:</u>	Utilisation des différents logiciels de docking en 2010-2011.....	20

<u>Figure N°20:</u>	Interface d'accueil du PDB.....	21
<u>Figure N°21:</u>	Interface d'accueil du PubChem.....	22
<u>Figure N°22:</u>	L'interface graphique du Titan version (1.0.0.1).....	22
<u>Figure N°23:</u>	L'interface graphique du VMD version (1.9.1).....	23
<u>Figure N°24:</u>	L'interface graphique AutoDock tools.....	23
<u>Figure N°25:</u>	L'interface graphique de Maestro (version 11.3).....	24
<u>Figure N°26:</u>	L'interface graphique de SwissADME et de PreADMET.....	25
<u>Figure N°27:</u>	Illustration du docking moléculaire.....	25
<u>Figure N°28:</u>	Structures 3D des six complexes de l'ADAMTS-5 humaine-inhibiteurs issues de la PDB.....	26
<u>Figure N°29:</u>	Chaîne A de la protéine 3B8Z avec l'inhibiteur 294 entourant le site d'interaction.....	27
<u>Figure N°30:</u>	Visualisation du complexe 3B8Z	27
<u>Figure N°31:</u>	Visualisation du ligand 294 à l'intérieur de site actif de l'enzyme ADAMT-5.....	28
<u>Figure N°32:</u>	Positionnement de la boîte dans le site actif de la 3B8Z avec ses coordonnées et ses dimensions.....	29
<u>Figure N°33:</u>	Les groupements ajoutés au cours de la substitution.....	32
<u>Figure N°34:</u>	Schéma explicatif du filtrage ADMET.....	32
<u>Figure N°35:</u>	Répartition de molécules métabolisées par les différentes iso-enzymes de CYP450.....	34
<u>Figure N°36:</u>	Schéma explicatif de test d'Ames.....	35
<u>Figure N°37:</u>	Résultats en pourcentage des valeurs de RMSD obtenus par «AutoDock».....	37
<u>Figure N°38:</u>	Histogramme en % des valeurs de RMSD à divers intervalles.....	37

<u>Figure N°39:</u>	Superposition des ligands des complexes simulés par « AutoDock » vis-à-vis au ligand de référence.....	38
<u>Figure N°40:</u>	Structures des inhibiteurs de l'ADAMTS-5 utilisés dans l'étude de la corrélation linéaire.....	41
<u>Figure N°41:</u>	Courbe de corrélation linéaire entre Log IC ₅₀ des 45 inhibiteurs et leurs scores.....	44
<u>Figure N°42:</u>	Illustration du positionnement de l'inhibiteur n°:39 dans le site actif de L'ADAMTS-5.....	45
<u>Figure N°43:</u>	Diagrammes des interactions ADAMTS-5 – composé 39	45
<u>Figure N°44:</u>	Distribution des scores des composés similaires ayant des scores supérieurs à 9.58 Kcal/mole.....	46
<u>Figure N°45:</u>	Illustration du positionnement du composé S94 dans le site actif de L'ADAMTS-5.....	47
<u>Figure N°46:</u>	Diagrammes des interactions ADAMTS-5–composé S94	47
<u>Figure N°47:</u>	Structure de base du composé S94	48
<u>Figure N°48:</u>	Représentation du positionnement du composé M33 dans le site actif de L'ADAMTS-5.....	50
<u>Figure N°49:</u>	Diagrammes à deux dimensions des interactions ADAMTS-5 – composé M33	51
<u>Figure N°50:</u>	Représentation du positionnement du composé M53 dans le site actif de L'ADAMTS-5.....	53
<u>Figure N°51:</u>	Diagrammes à 2D des interactions ligand-protéine ADAMTS-5 – composé M53	53

Liste des tableaux

<u>Tableau N°1:</u>	Membres de la famille ADMTS avec ses principales fonctions	10
<u>Tableau N°2:</u>	Principaux programmes de docking moléculaire	20
<u>Tableau N°3:</u>	Code PDB des complexes " ADAMTS 5-inhibiteur " avec leurs caractéristiques.....	26
<u>Tableau N°4:</u>	Les 45 inhibiteurs de l'ADAMTS-5 ainsi leurs scores.....	39
<u>Tableau N°5:</u>	Structure et énergie d'interaction des 45 composés issus de la mono-substitution.....	48
<u>Tableau N°6:</u>	Structure et énergie d'interaction des 30 composés issus de la bi-substitution.....	51
<u>Tableau N°7:</u>	Le profil ADME relative des composés candidats obtenu à partir de serveur swissADME.....	54
<u>Tableau N°8:</u>	Le profil ADME relative des composés candidats obtenu à partir de serveur swissADME.....	56
<u>Tableau N°9:</u>	Le profil de toxicité relative des composés candidats obtenu à partir de serveur PreADMET.....	56

Liste des abréviations

- ❖ 2D: Deux dimensions
- ❖ 3D: Trois dimensions
- ❖ ΔG : Energies d'interaction
- ❖ Å : Angström
- ❖ AA: Acid aminé
- ❖ AASAL : Anti-Arthrosiques Symptomatiques d'Action Lente
- ❖ ADAMTS : Désintégrine e une Métalloprotéinase à Motifs Thrombospondines
- ❖ ADAMTS-4: Désintégrine et Métalloprotéinase à Motifs Thrombospondines-4
- ❖ ADAMTS 5 : Désintégrine et Métalloprotéinase à Motifs Thrombospondines-5
- ❖ ADMET: Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination, Toxicité
- ❖ ADN: Acide Désoxyribonucléique
- ❖ AH : Acide Hyaluronique
- ❖ AINS : Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens
- ❖ ARN: Acide Ribonucléique
- ❖ ARNm : Acide ribonucléique messenger
- ❖ BBB: Blood-Brain Barrier (barrière hémato-encéphalique)
- ❖ COX 1 : Cyclo-oxygénase 1
- ❖ COX 2 : Cyclo-oxygénase 2
- ❖ CYP 450 : Cytochrome P450
- ❖ CysR : Domaine riche en cysteine,
- ❖ DCI : Dénomination Commune Internationale

- ❖ DMOAD : Développement des Médicaments Modificateurs de la Maladie d'Arthrose
- ❖ dpf : Dock Parameters File
- ❖ ECM : Matrice Extracellulaire
- ❖ EHS: Etablissement Hospitalier Spécialisé
- ❖ GHz: Gigahertz
- ❖ GI : Gastro-Intestinale
- ❖ Go: Giga Octet
- ❖ gpf : Grid Parameters File
- ❖ hERG : Human Ether-à-go-go-Related Gene
- ❖ HIV-1: Virus de l'immunodéficience Humaine type 1
- ❖ IADAMTS-5 : Inhibiteurs de Désintégrine et de métalloprotéinase à motifs thrombospondines 5
- ❖ IC₅₀ : Concentration Inhibitrice médiane
- ❖ IGD :Domaine Interglobulaire
- ❖ IMMP : Inhibiteurs de la Métalloprotéinases Matricielles
- ❖ KDa: Kilo dalton
- ❖ Log P : Coefficients de partage
- ❖ MMP : Métalloprotéinases Matricielles
- ❖ NCBI : National Center for Biotechnology Information
- ❖ NCI : National Institutes of Health
- ❖ n.LF : Nombre de Liaison Flexible
- ❖ n.OH_{NH} : Nombre de donneur d'Hydrogène
- ❖ n.ON : Nombre d'Accepteur d'Hydrogène

- ❖ OMS : Organisation Mondiale de la Santé
- ❖ PDB : Protein Data Bank
- ❖ PH : Potentiel Hydrogène
- ❖ PM : Poids Moléculaire
- ❖ RMSD: Root Mean Square Deviation
- ❖ SAR: Structure Activity Relationship
- ❖ SNC : Système Nerveux Central
- ❖ Sp : Domaine d'espace
- ❖ TPSA : Surface polaire topologique
- ❖ TS : Thrombospondine
- ❖ UCSF : Université de Californie à San Francisco
- ❖ VMD: Visual Molecular Dynamics



partie théorique





INTRODUCTION GÉNÉRALE



La conception d'un nouveau médicament est un processus de recherche long et coûteux. Le temps nécessaire à la découverte d'un nouveau médicament est estimé, en moyenne, entre 12 et 14 ans avec un coût moyen allant de 800 millions jusqu'à 1 milliard de dollars [1]. Actuellement, l'outil informatique est de plus en plus utilisé dans la recherche en biologie pour traiter le flot des données produites et optimiser ses avancés. La modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire sert à prédire et à reproduire des complexes protéine-ligand [2]. En effet, un certain nombre de médicaments mis sur le marché proviennent d'une conception rationnelle basée sur des stratégies du docking moléculaire comme par exemple :

- Des inhibiteurs de l'aldose réductase : par recherche dans des bases de données de composés.
- Un inhibiteur d'un élément de réponse de la transactivation de la HIV-1 RNA : par docking rigide et recherche dans des bases de données de composés.
- Un inhibiteur de la thrombine: par docking sur des chimiothèques combinatoires et par des méthodes *de novo* [3].

La conception d'un nouveau médicament pour traiter l'arthrose reste encore d'actualité. En effet, cette maladie constitue un véritable problème de santé publique tant par sa fréquence que par l'absence du traitement. Elle constitue une cause majeure d'invalidité et aussi de mortalité [4]. Dans ce contexte, de nombreuses études ont déjà décrit le rôle primordial de la Désintégrine et Métalloprotéinase à Motifs Thrombospondines-5 (ADAMTS-5) dans l'apparition et le développement de l'arthrose par la dégradation de l'agrécan [5], ce qui rend cette enzyme une cible de choix pour le traitement de l'arthrose.

Dans le présent travail, nous avons utilisé le programme AutoDock afin d'étudier par docking moléculaire, les mécanismes d'inhibition de l'ADAMTS-5 et ce dans la perspective de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs de cette enzyme. Dans ce but, nous avons tenté, au préalable, de tester la fiabilité du programme AutoDock au moyen de trois tests. Le premier test consiste à évaluer le degré de corrélation existant entre les scores théoriques du docking des molécules retenues dans cette étude et les valeurs expérimentales de leurs IC_{50} . Le deuxième test consiste à calculer la déviation en angströms ou RMSD, entre la pose du ligand conçue par le logiciel et celle déterminée expérimentalement. Le dernier test, nous a permis d'avoir une meilleure appréciation des résultats de RMSD obtenus avec AutoDock et ce par analyse visuelle.

Dans une deuxième partie, nous nous sommes attachés à mieux comprendre les mécanismes mis en jeu dans l'inhibition de l'ADAMTS-5 par plusieurs inhibiteurs provenant de la littérature. L'évaluation de leur énergie d'interaction envers la cible par docking moléculaire nous permettra de déterminer l'inhibiteur le plus puissant de cette enzyme. Ce dernier nous servira, dans une troisième partie, comme structure de départ pour la conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs encore plus puissants et sélectifs vis-à-vis de l'ADAMTS-5. Enfin, l'utilisation des serveurs SwissADME et PreADMET nous permettra de se renseigner sur les propriétés d'absorption, distribution, métabolisme, élimination et toxicité (ADMET) des composés nouvellement proposés.

Le présent manuscrit est divisé en deux grandes parties ; une partie théorique composée de trois chapitres, où le premier comprend des généralités sur la maladie de l'arthrose. Dans le deuxième chapitre, une importance particulière sera accordée à l'ADAMTS-5 ainsi que ses inhibiteurs. Le troisième chapitre traitera le docking moléculaire et ces outils dans l'étude des interactions protéine- ligand. Concernant la partie pratique, les différents matériels et méthodes utilisés dans notre étude seront détaillés dans un quatrième chapitre. Dans le dernier chapitre, nous exposerons l'essentiel de nos résultats avec une discussion. Ce travail sera clôturé par une conclusion et quelques perspectives.



Chapitre 1: LA MALADIE DE L'ARTHROSE



1. Introduction

Dans la population mondiale âgée, 65% des plus de 65 ans et 80% des plus de 80 ans sont atteints d'arthrose [6] résultant de la dégradation de cartilage articulaire. Ce dernier est un tissu conjonctif spécialisé, non vascularisé et non innervé [7], recouvrant l'extrémité d'un os en continuité avec un autre os pour former une articulation [8]. Comme le montre la figure N°1, le cartilage articulaire est composé de chondrocyte, entouré d'une matrice extracellulaire (ECM) qui est constituée du collagène et des protéoglycanes notamment l'agrécane [7]. Ce cartilage baigne dans le liquide synovial, qui facilite le mouvement et limite l'érosion [9]. La dégradation du cartilage résulte d'un déséquilibre entre la synthèse et la dégradation des composants matriciels. Ce déséquilibre induit des troubles arthritiques notamment l'arthrose [7].

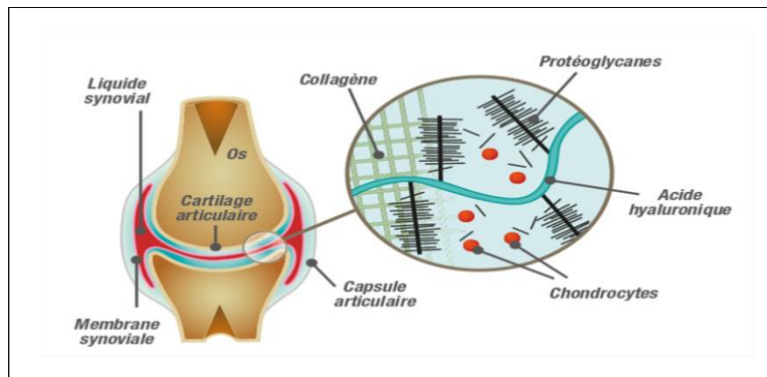


Figure N°1 : Le cartilage et ses composants [10].

D'après la définition de L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), l'arthrose (ou ostéoarthrite) est le résultat des phénomènes mécaniques et biologiques qui déstabilisent l'équilibre entre la synthèse et la dégradation de cartilage et de l'os sous-chondral [11]. Cette maladie représente la pathologie articulaire la plus fréquente. Elle est caractérisée par la dégradation progressive du cartilage des articulations [12]. (Voir figure N°2).

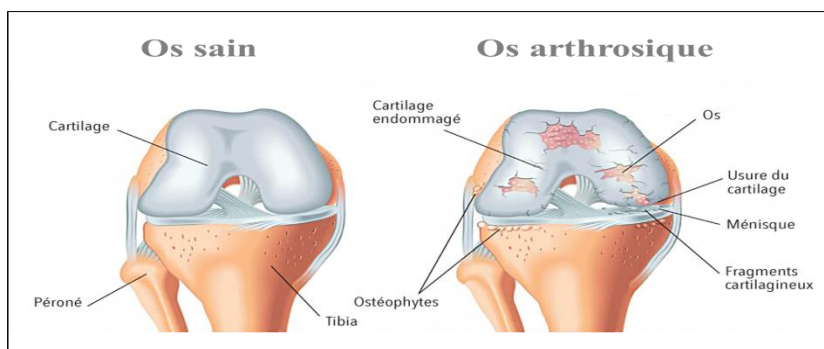


Figure N° 2 : Différence entre un os sain et un os arthrosique [13].

L'arthrose touche de nombreuses articulations, mais certaines localisations sont beaucoup plus exposées à ce risque que d'autres tels que les cervicales et les lombaires, les genoux (la gonarthrose), les doigts et le pouce (la rhizarthrose) et la hanche (la coxarthrose). Cependant, le pied et la cheville (arthrose du pied), la colonne vertébrale (ou le rachis), et les épaules sont moins touchés par cette maladie [14][15]. (Voir figure N°3).

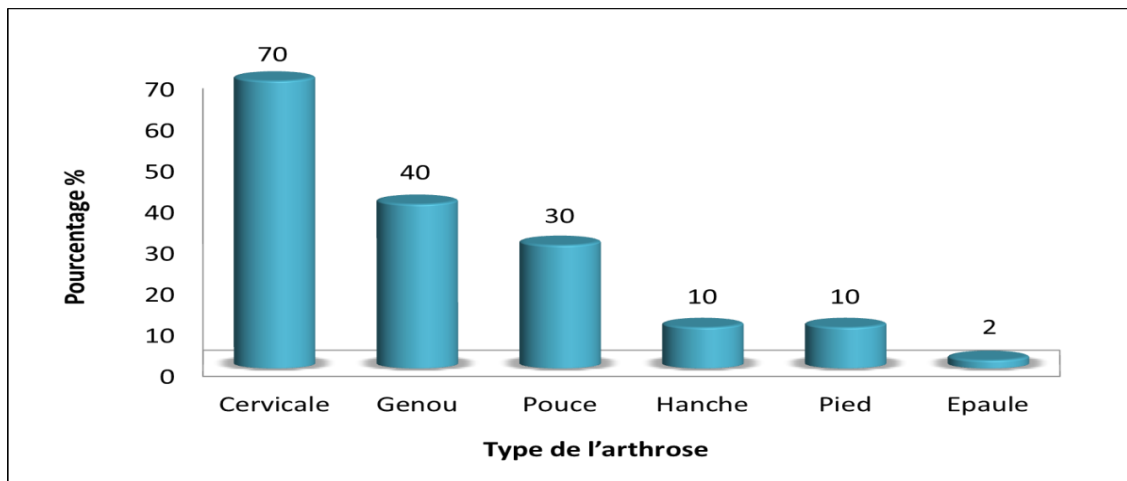


Figure N° 3 : Histogramme du pourcentage des différentes articulations touchées par l'arthrose [14][15].

2. Épidémiologie

L'arthrose est responsable d'une morbidité majeure dans les pays développés où elle constitue la deuxième cause d'invalidité après les maladies cardiovasculaires [16]. Elle est devenue un problème de santé publique majeur au niveau mondial.

En 2014, l'OMS estime à environ 250 millions le nombre de personnes atteintes de l'arthrose à travers le monde. Encore pire, les spécialistes prévoient une multiplication par deux du nombre de malades dans les vingt prochaines années, c'est-à-dire 500 millions de malades, soit l'équivalent de la totalité des populations américaine et russe réunies !

En 2000, l'OMS a estimé qu'en Europe 1.484.600 personnes étaient atteintes d'arthrose de la hanche et 5.023.400 personnes d'arthrose du genou. L'arthrose y affecte plus de 70 millions de personnes et ce chiffre augmente de 10 % par an [17].

En France, l'arthrose génère 14 millions de consultations par an [17]. Elle touche plus de la moitié de la population des plus de 65 ans et 85% des sujets de plus de 70 ans [11] dans le même pays. De même, l'arthrose est considérée comme première cause de handicap chez les personnes de plus de 40ans [17].

À l'échelle nationale, cette maladie très douloureuse particulièrement au niveau du genou touche près de 21% des femmes âgées plus de 50 ans, selon une étude menée en 2012 par une équipe du service de rhumatologie de l'hôpital de Douéra [18].

Aux 8^{èmes} Journées nationales de rhumatologie qui se sont tenues à Alger en 2008, le professeur Aïcha La djouze Rezig, chef de service de rhumatologie à l'EHS de Ben Aknoun et présidente de la ligue algérienne antirhumatismal avait estimé que près de 3 millions d'Algériens sont atteints d'arthrose. Six années plus tard, le même professeur a déclaré au cours du 14^{ème} Congrès algérien antirhumatismal, que 6 millions de personnes sont touchées par l'arthrose en Algérie. Ces chiffres alarmants justifient en partie les raisons ayant motivé notre intérêt pour cette maladie [19][20].

3. Symptômes

Les signes de l'arthrose varient selon l'articulation concernée [12]. Cependant, dans tous les cas, le motif principal de consultation est la douleur. Les principaux symptômes de l'arthrose sont :

- Douleur articulaire : Il y a des douleurs au cours de solliciter intensément les articulations. Plus la maladie progresse, plus la douleur se déclenche ensuite à des activités ordinaires.
- Raideur articulaire : L'articulation peut devenir raide lors de l'inutilisation pendant un certain temps.
- Crépitation articulaire : Il y a une sensation de grincement ou un craquement lors d'utilisation de l'articulation.
- Enflure articulaire : installée suite à une augmentation de la taille des articulations atteintes.
- Instabilité articulaire : la déformation des articulations telles que les genoux ou les hanches.
- Dysfonctionnement articulaire : L'articulation ne fonctionne pas aussi bien qu'elle le devrait, en raison de la douleur [6].

4. Facteurs de risque

Parmi les facteurs de risque qui favorisent l'apparition de l'arthrose nous pouvons citer :

- ❖ **L'âge** : C'est le premier facteur qui déclenche l'arthrose [21]. L'augmentation de la prévalence et de l'incidence de l'arthrose avec l'âge est probablement une conséquence des changements biologiques survenant au cours du vieillissement [22].

- ❖ **Le sexe :** Les femmes sont plus susceptibles d'avoir l'arthrose que les hommes. La nette augmentation de l'arthrose chez les femmes au moment de la ménopause a conduit les chercheurs à émettre l'hypothèse que des facteurs hormonaux pourraient jouer un rôle dans le développement de l'arthrose [22].
- ❖ **L'obésité :** une surcharge pondérale entraîne des contraintes mécaniques élevées exercées en particulier sur le genou et la hanche. Plus le poids est important, plus le risque de souffrir plus tard d'une arthrose du genou est élevé [21].
- ❖ **Le régime :** Les facteurs alimentaires font l'objet d'un intérêt considérable dans l'arthrose [22]. il a été prouvé qu'une exposition continue aux oxydants contribuait au développement de nombreux désordres liés à cette maladie, par ailleurs la vitamine C réduit le risque de progression arthrosique, aussi la vitamine D a une action protectrice sur l'incidence et l'évolution de la coxarthrose [23]. Une quantité insuffisante de cette dernière, rend les os minces, fragiles et difformes [22].
- ❖ **Certaines maladies articulaires:** Comme la chondrocalcinose (dépôts de calcium dans le cartilage), l'ostéonécrose ou la polyarthrite rhumatoïde [24].

5. Traitement médicamenteux

Actuellement, l'arthrose est le sujet d'une recherche médicale active. Aucun traitement curatif n'est disponible pour guérir l'arthrose. Cependant, certains médicaments sont mis à disposition permettant de gérer la douleur et d'améliorer la fonction articulaire [14].

5.1 Les antalgiques

Le paracétamol (Doliprane ®, Dafalgan®, Efferalgan®...) vient de la contraction de para-acétyl-amino-phénol et aussi appelé acétaminophène. C'est un composé chimique antalgique antipyrétique non salicylé [25][26]. Étant le médicament le plus prescrit dans le monde, le paracétamol est l'analgésique de première intention contre les douleurs aiguës ou chroniques faibles à modérées [27] (Voir figure N°4).

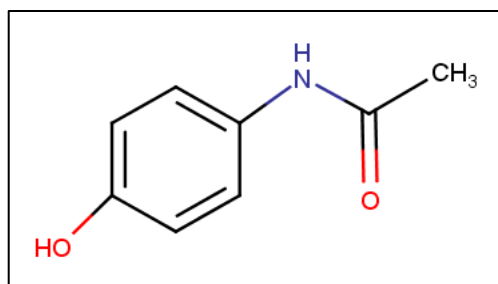


Figure N° 4 : Structure chimique de paracétamol (C₈H₉NO₂) [28].

5.2 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comme Ibuprofène®, kétoprofène®, diclofénac®, peuvent réduire la douleur et l'inflammation liées à l'arthrose et ce par l'inhibition de la Cyclo-oxygénase 1 et 2 (COX 1 et COX 2) [24] (Voir figure N°5).

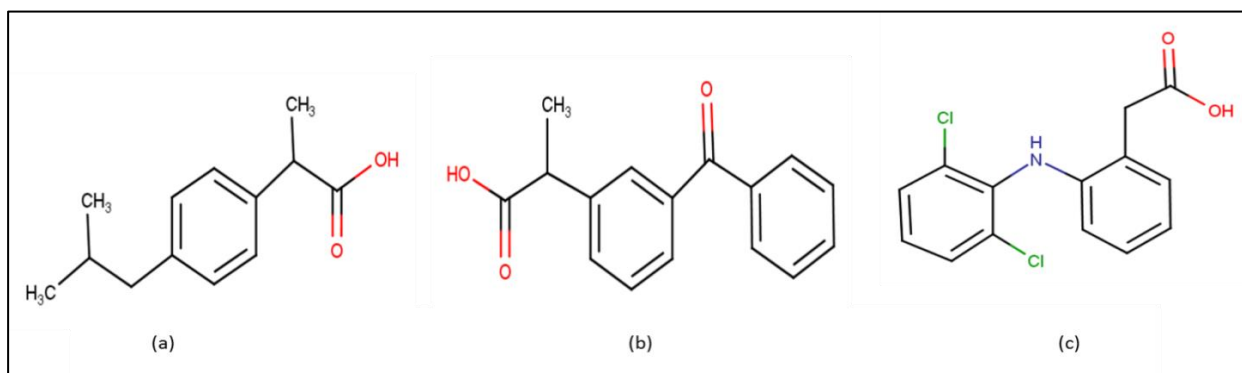


Figure N° 5 : Structures chimiques des anti-inflammatoires non stéroïdiens. (a) Ibuprofène (C₁₃H₁₈O₂) [29]. (b) Kétoprofène (C₁₆H₁₄O₃) [30]. (c) Diclofénac (C₁₄H₁₁Cl₂NO₂) [31].

5.3 Les injections intra-articulaires

- **L'injection des corticoïdes :** les "corticoïdes" est le terme communément utilisé pour parler des glucocorticoïdes et qui sont classés comme des anti-inflammatoires stéroïdiens [32]. Les corticoïdes calment rapidement la douleur en inhibant la sécrétion des protéases par les chondrocytes et par la synoviale [33].
- **L'injection d'acide hyaluronique (AH) :** appelé aussi « viscosupplémentation ». L'AH est une protéine type glycosaminoglycane synthétisée par les cellules de la membrane synoviale [34]. Il est présent en grande quantité dans l'articulation, responsable de la viscosité et de l'élasticité du liquide synovial et joue un rôle important de lubrifiant et d'amortisseur des chocs dans l'articulation [35].

5.4 Les anti-arthrosiques symptomatiques d'action lente (AASAL)

La Chondroïtine sulfate et la Glucosamine, faisant partie de cette classe, ont un effet antalgique et un effet fonctionnel [14], stimulant ainsi la synthèse des constituants du cartilage tout en inhibant des mécanismes impliqués dans la dégradation de celui-ci.

- La glucosamine: (Flexea®, Structoflex® et Voltaflex®) est une substance endogène de la chaîne polysaccharide de la matrice du cartilage et des glycosaminoglycanes du liquide synovial, sa production diminue avec l'âge [16] (voir figure N°6).

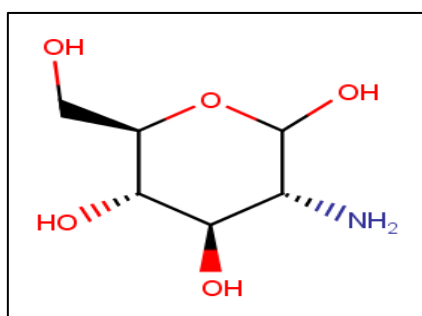


Figure N° 6 : Structure chimique de glucosamine (C₆H₁₃NO₅) [36].

- Chondroïtine sulfate : (Chondrosulf® et Structum®) c'est l'acide glucuronique β1-3-N-acétyl galactosamine-6-sulfate, constituant essentiel du cartilage sous forme sulfaté. Il est présent dans la matrice extracellulaire des tissus et entre dans la composition des protéoglycannes qui permettent d'absorber les chocs. La chondroïtine est utilisée dans le traitement symptomatique de l'arthrose du genou ou de la hanche. Sa durée du traitement doit être au moins de trois mois en raison de son effet retardé [16] (voir figure N° 7).

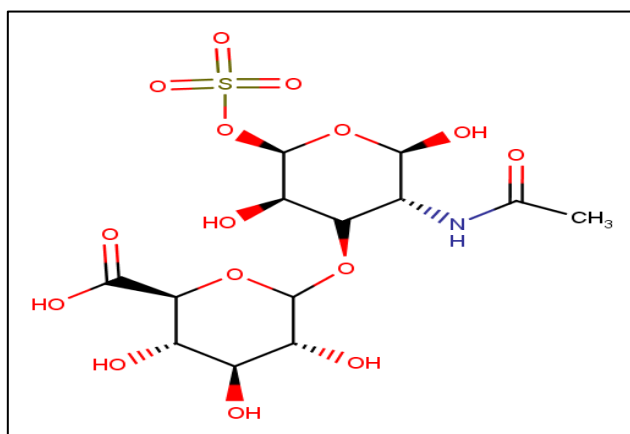


Figure N°7 : Structure chimique de Chondroïtine sulfate (C₁₃H₂₁NO₁₅S) [37].

5.5 Traitement par inhibition des enzymes du catabolisme

Plusieurs études soutiennent le fait que les chondrocytes sont capables de synthétiser les enzymes protéolytiques responsables de la dégradation des protéines matricielles. La synthèse de ces enzymes est fortement augmentée au cours de l'arthrose. En effet, la quantité de collagènes et de protéoglycanes, notamment de l'agrécan sera donc diminuée. Cette diminution est due à la dégradation de ces protéines matricielles par les enzymes protéolytiques tels les métalloprotéinases matricielles (MMP) et les agrécánases notamment l'aggrécánase-2 (ADAMTS-5) [7]. Pour contourner ce problème, les inhibiteurs de la métalloprotéinase matricielle (IMMP) et des agrécánases précisément de l'aggrécánase-2 (IADAMTS-5) constituent une nouvelle piste thérapeutique contre l'arthrose. Il s'agit de petites molécules capables de diminuer la dégradation des collagènes et des protéoglycanes ce qui permet de soulager les symptômes liés à l'arthrose et d'améliorer la fonction articulaire. En regard des publications élançées ci-dessous, peu de composés appartenant à cette voie thérapeutique sont à disposition. Ceci explique notre intérêt pour cette classe de traitement et particulièrement les inhibiteurs de l'ADAMTS-5.

L'exemple le plus brillant est celui du candidat médicament GLPG1972/S201086. Développée par Servier et Galapagos en 2010, ce composé est le premier de sa génération. Il s'agit d'un inhibiteur puissant de l'enzyme ADAMTS-5 (voir figure N°8) [38].

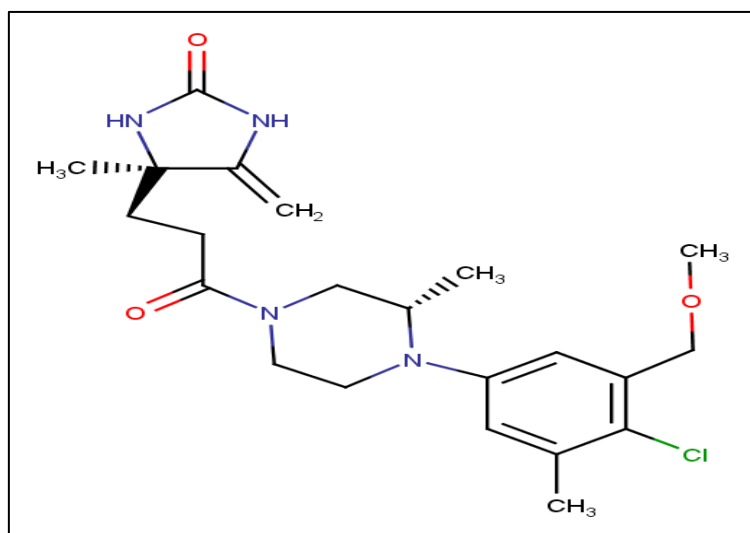


Figure N°8 : Structure de GLPG1972/S201086 [39].



Chapitre 2: STRUCTURES MISES EN JEU



1. Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons montré que la dégradation de l'agrécan du cartilage articulaire est un événement précoce au cours de l'arthrose [40]. Ceci est dû à l'action des enzymes appelés aggrécanases dont ADAMTS-4 et ADAMTS-5. Ces enzymes appartiennent à la famille des ADAMTS aussi connue sous le nom des métalloprotéases à zinc. Cette famille d'enzyme est nommée ainsi à cause du résidu de méthionine conservé près du site actif de la métalloprotéinase dépendant de l'ion zinc [41][42].

En 1999, le premier membre de la famille ADAMTS à activité aggrécanase a été purifié et cloné. De nombreuses autres protéases d'ADAMTS, au nombre de 19 (voir tableau N° 1), ont été décrites par la suite, mais l'ADAMTS-5 reste le plus importants d'entre eux à cause de son implication directe dans la physiopathologie de l'arthrose. En 2005, il a été constaté que les souris déficientes en ADAMTS-5 étaient protégées de l'éros du cartilage dans un modèle expérimental d'arthrose, ce qui a permis à cette enzyme de devenir la cible idéal comme étant l'aggrécanase majeure du cartilage [43].

Tableau N°1: Membres de la famille ADMTS avec ses principales fonctions [42].

ADAMTS	Rôle
ADAMTS-1	Clivage de l'agrécan ou de protéoglycane
ADAMTS-2	Clivage de procollagène
ADAMTS-3	Clivage de procollagène
ADAMTS-4	Clivage de l'agrécan
ADAMTS-5	Clivage de l'agrécan
ADAMTS-6	Inconnu
ADAMTS-7	Clivage des protéines de la matrice oligomère du cartilage
ADAMTS-8	Clivage de l'agrécan ou de protéoglycane
ADAMTS-9	Clivage de l'agrécan ou de protéoglycane
ADAMTS-10	Inconnu
ADAMTS-12	Clivage des protéines de la matrice oligomère du cartilage
ADAMTS-13	Clivage de facteur du van Willebrand
ADAMTS-14	Clivage de procollagène

ADAMTS-15	Clivage de l'agrécan ou de protéoglycane
ADAMTS-16	Inconnu
ADAMTS-17	Inconnu
ADAMTS-18	Inconnu
ADAMTS-19	Inconnu
ADAMTS-20	Clivage de l'agrécan ou de protéoglycane

2. ADAMTS-5

2.1 Généralités et Propriétés

L'ADAMTS-5 également appelée aggrécanase-2, est un membre de la famille des protéines ADAMTS [44]. Son poids moléculaire est de 100 kDa [45]. Elle a été identifiée comme la principale enzyme responsable de la dégradation du cartilage [5], et donc a suscité un intérêt considérable en tant que cible dans l'arthrose [46]. Cette enzyme est considérée comme une pro-enzyme inactive qui est activée par le clivage de son pro-domaine sous l'action des protéases à sérine. L'activité optimale de cette enzyme se fait dans un pH entre [7,0 - 9,5]. Elle nécessite la présence de calcium et elle dépend de la concentration de NaCl [43].

Le gène de L'ADAMTS-5 est situé sur le chromosome 21. L'expression de l'ARNm était élevée dans le cerveau, l'intestin, la rate, le placenta. Toute fois l'expression de cette enzyme était observée dans une vaste gamme des organes y compris le cœur les reins, et les poumons, mais elle est limitée dans les muscles lisses de ces organes [45].

2.2 Rôle physiologique

Au cours des dernières années, le rôle d'ADAMTS-5 dans l'arthrose a connu un vif intérêt. Bien que cette enzyme soit largement exprimée dans les tissus humains, sa fonction normale n'a pas encore été établie. Il a été supposé que l'ADAMTS-5 pourrait jouer un rôle dans la chondrogenèse ou l'ostéogenèse [43]. En outre, des études récentes utilisant des souris transgéniques suggèrent que la suppression d'ADAMTS-5 protège contre l'ensemble des pathologies articulaires (formation de lésions cartilagineuses, modifications de l'os sous-chondral, ostéophytose) [47].

La dernière décennie a apporté des avancées majeures dans la compréhension des mécanismes impliqués dans les maladies articulaires notamment l'arthrose résultant suite à la dégradation de l'agrécane [47]. La protéine centrale de ce dernier est constituée d'un domaine globulaire G1 à l'extrémité N-terminale suivie d'un domaine interglobulaire étendu (IGD), puis les domaines G2, KS, CS-1, CS-2, et le domaine G3 situé à l'extrémité C-terminale... [48] (Voir figure N°9).

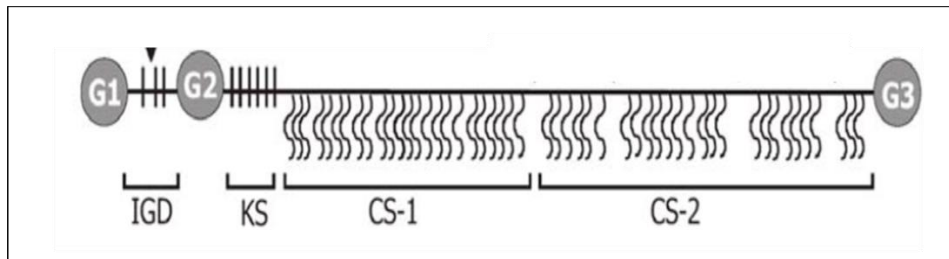


Figure N°9 : Schéma explicatif de la protéine centrale d'agrécane [49].

L'ADAMTS-5 clive la protéine centrale d'agrécane au niveau de la liaison peptidique Glu373 - Ala374 d'IGD situé entre les domaines globulaires G1 et G2 [50] (voir figure N°10). Le clivage au niveau de ce site a été rapporté comme étant un événement clé dans la progression de l'arthrose, ce qui fait de l'ADAMTS-5 une cible thérapeutique clé dont l'inhibition bloque le développement de l'arthrose [51].

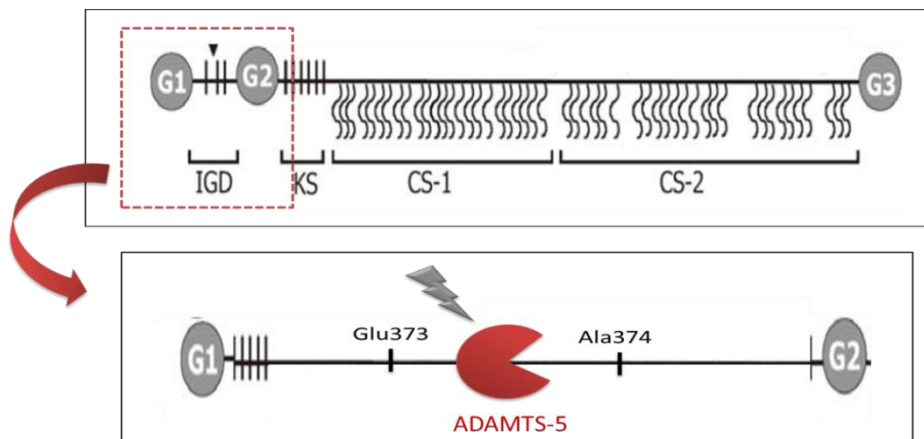


Figure N°10 : Schéma explicatif de clivage d'agrécane par L'ADAMTS-5 [49] [51].

2.3 Structure

L'ADAMTS-5 comprend un pro-domaine, un domaine catalytique de métalloprotéinase et un domaine désintégrine-like, aussi un motif de thrombospondine (TS), un domaine riche en

cystéine (CysR), et un domaine d'espacement (Sp), cette enzyme contient aussi un domaine supplémentaire TS après le domaine Sp situé au C-terminal [52] (Voir figure N°11).

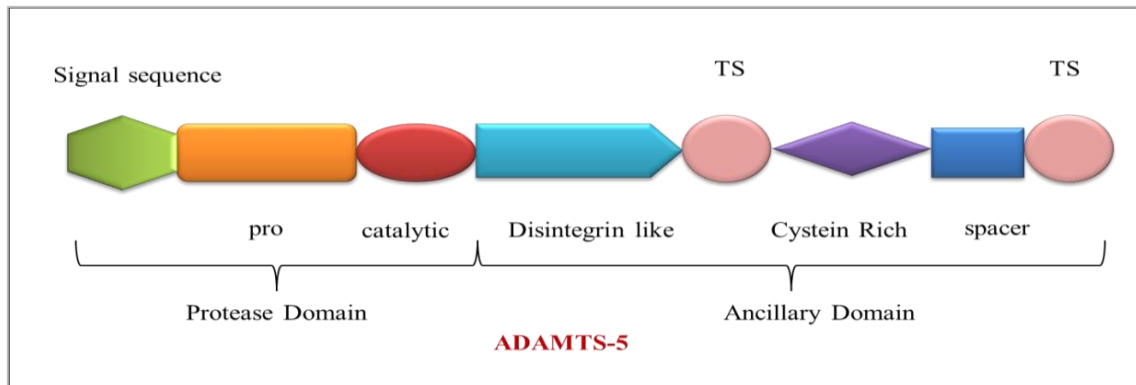


Figure N°11 : Représentation schématique d'ADAMTS-5 [52].

- Le pro domaine d'ADAMTS5 contient trois sites de reconnaissance potentiels de furine.
- Le domaine catalytique d'ADAMTS-5 est responsable de l'interaction de cette enzyme avec son substrat [43].
- Le domaine CysR contient précisément dix résidus [49]. Il s'est avéré être critique pour que l'ADAMTS-5 peut se lier à la matrice extracellulaire. En effet une étude par mutagenèse menée sur ce domaine a montré que le domaine en lui seul avait très peu d'activité protéolytique. L'addition séquentielle du domaine CysR a augmentée l'activité non seulement contre l'agrécane, mais également contre d'autres substrats [43].

L'ADAMTS-5 possède un site potentiel d'O-glycosylation type mucine [43] et quatre sites de N-glycosylation, un situé dans le domaine de désintégrine, un dans le domaine riche en cystéine et deux dans le domaine d'espacement [49].

2.4 Structure de site actif

Le site actif de l'ADAMTS 5 fait l'objet d'études poussées dans le cadre de développement des médicaments modificateurs de la maladie d'arthrose (DMOAD) [53]. En effet, ce site est conforme à la séquence consensus HEBxHxBGBxH, où H (histidine) représente des ligands de zinc strictement conservés et B représente des résidus apolaires volumineux. Le résidu méthionine conservé, situé à 19 acides aminés de C terminale à la troisième histidine, constitue la caractéristique de « met-turn » de la famille des métzincines [49].

En revanche la structure cristalline du domaine catalytique ADAMTS-5 révèle qu'elle contient, en plus du site de liaison au zinc, deux sites de liaison au calcium essentiels au maintien de l'intégrité structurale de la protéine. Un site est occupé par un seul ion calcium et l'autre contient deux ions du calcium [49]. Les deux sites sont adjacents au disulfure de liens, la première par Cys 371- Cys 376 et la deuxième par Cys 388- Cys 471 [44].

3. Les inhibiteurs de l'ADAMTS-5

L'inhibition des enzymes joue un rôle important dans le contrôle des mécanismes biologiques et notamment dans la régulation des voies métaboliques. En effet, l'inhibition d'une enzyme donnée peut traiter une maladie ou corriger un déséquilibre métabolique. Dans le présent travail, nous nous intéressons à l'inhibition de l'ADAMTS-5 car empêchant la dégradation du cartilage tout en traitant l'arthrose [47]. À ce jour, plusieurs molécules inhibitrices de cette enzyme ont été regroupées en plusieurs classes [54]. Néanmoins, le développement continu d'inhibiteurs sélectifs d'ADAMTS-5 est actuellement en cours [55]. Parmi les inhibiteurs sélectifs de L'ADAMTS-5 nous citons :

3.1 Les dérivés de 5'-Phenyl-3'H-spiro [indoline-3, 2'-[1, 3, 4] thiadiazol]-2-one

La série d'inhibiteurs de 5'-Phenyl-3'H-spiro [indoline-3, 2'-[1, 3, 4] thiadiazol]-2-one représente un progrès vers un inhibiteur sélectif d'ADAMTS-5 en tant que médicament de l'arthrose. Cette série de composés présente une sélectivité importante envers l'enzyme, de l'ordre de sub-micromolaire dont l'IC₅₀ varie entre 0,61 et 100 µM [55] (Voir figure N°12).

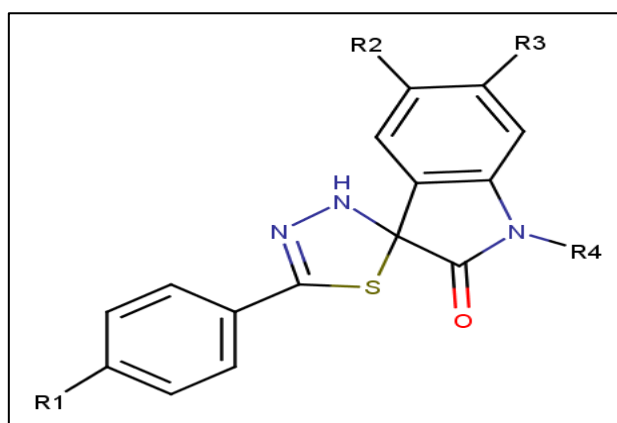


Figure N°12 : Structure de base des dérivés de 5'-Phenyl-3'H-spiro [indoline-3, 2'-[1, 3, 4] Thiadiazol]-2-one [55].

3.2 Les dérivés de l'Aryl thioxothiazolidinone

C'est une série de thioxothiazolidinones moins explorés comme inhibiteurs de l'ADAMTS-5. Cette classe de composés représente la première divulgation d'inhibiteurs de l'enzyme, avec un IC_{50} se situant entre 0,9 et 67 μ M [56] (Voir figure N°13).

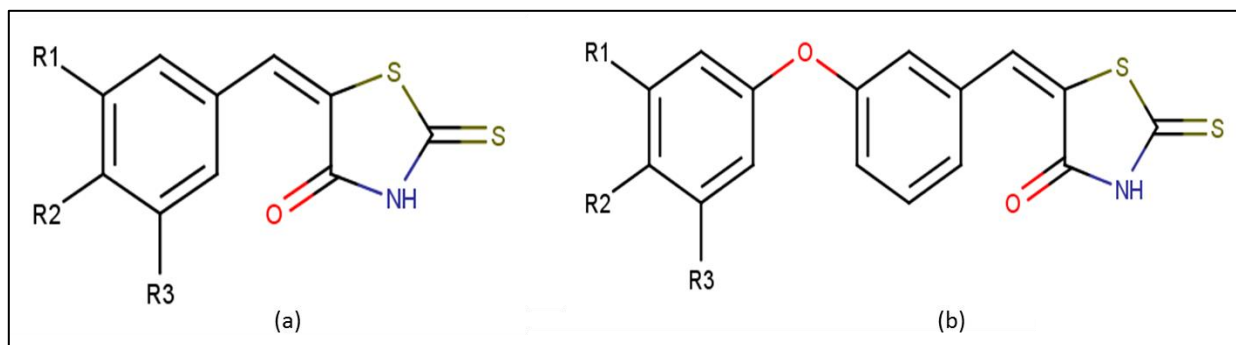


Figure N°13 : Structure de base des dérivés d'arylthioxothiazolidinone [56].

3.3 Les dérivés de benzimidazole

Les dérivés de benzimidazole (Voir figure N°14) présentent une inhibition puissante de l'ADAMTS-5 avec un IC_{50} allant jusqu'à 0.38 μ M. En effet, l'un de ces dérivés a une bonne perméabilité et ce composé est actuellement évalué dans un modèle de rat de l'arthrose. Son IC_{50} égale 0.17 μ M [54].

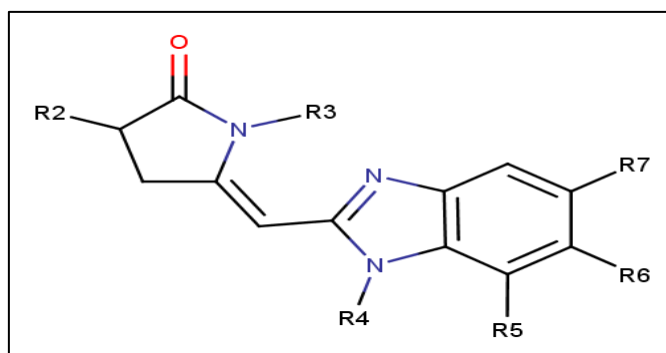


Figure N°14 : Structure de base des dérivés benzimidazole [54].

3.4 Les dérivés de thiazole portant thiazolidine-4-one

Cette série a été mise en évidence suite à un criblage à haut débit d'inhibiteurs non compétitifs d'ADAMTS-5. Les composés de cette série (Voir figure N°15) possèdent de faibles valeurs d' IC_{50} allant de 0.23 jusqu'à 7 μ M. [57].

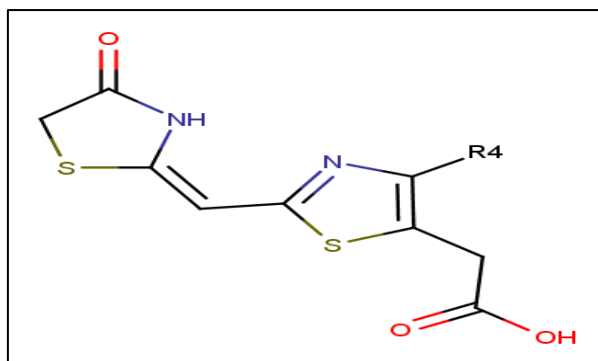


Figure N°15 : Structure de base des dérivés de thiazole portant thiazolidine-4-one [57].

3.5 Les dérivés de N-(8-Hydroxy-5-substituted-quinolin-7-yl)(phenyl) methyl)-2

phenyloxy/aminoacetamide

Cette série montre une bonne inhibition de l'ADAMTS-5. Les inhibiteurs faisant partie de cette série présentent des IC₅₀ inférieur à 10 μM [58] (Voir figure N°16).

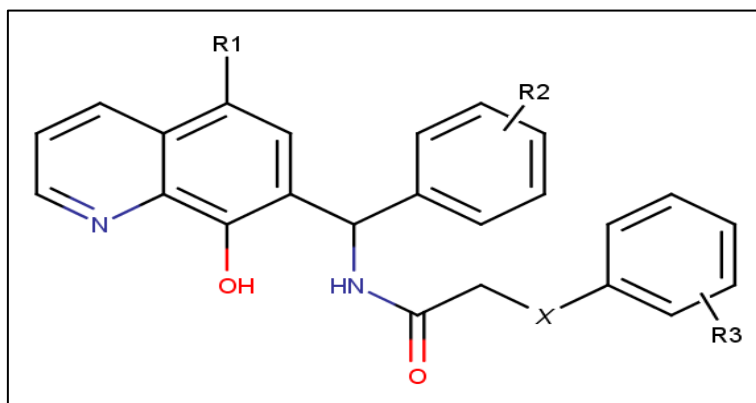


Figure N°16 : Structure de base des dérivés de N-((8-Hydroxy-5-substituted-quinolin-7-yl) (Phenyl) methyl)-2-phenyloxy/amino-acetamide [58].

3.6 GLPG1972/S201086 un nouveau candidat médicament

Le mécanisme d'action du GLPG1972/S201086, qui inhibe ADAMTS-5, a été confirmé dans deux modèles animaux. L'essai de phase I a répondu à tous ses attentes en termes de pharmacocinétique et de tolérance. Cet essai chez des volontaires sains a également démontré que ce composé réduisait de plus de 50% le neoépitope ARGS, un marqueur important de la dégradation du cartilage en moins de 2 semaines. Actuellement, ce composé fait l'objet d'un essai de Phase II [38] (Voir figure N°8).



Chapitre 3 : DOCKING MOLÉCULAIRE



1. Introduction

La conception d'un nouveau médicament est extrêmement longue et onéreuse depuis la première phase de recherche jusqu'à sa mise sur le marché. En effet, le temps nécessaire à la découverte d'un nouveau médicament est estimé en moyenne entre 12 et 14 ans pour un coût total de 800 millions à 1 milliard de dollars [1]. C'est dans ce contexte que les techniques de docking *in silico* ont été développées. Il s'agit des approches théoriques permettant de prédire l'affinité d'un ligand au sein de son récepteur, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que les méthodes expérimentales *in vitro* [59]. Le docking s'est développé pour devenir de nos jours un outil incontournable dans la recherche de nouvelles molécules bioactives [60][2].

Une simulation par docking s'accomplit en deux étapes essentielles :

- La première étape dite du **Docking** permet au ligand d'adopter plusieurs conformations et plusieurs positions au niveau du site actif de la protéine afin de retenir celle la plus favorable.
- La deuxième étape dite du **Scoring** consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine pour donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées [61].

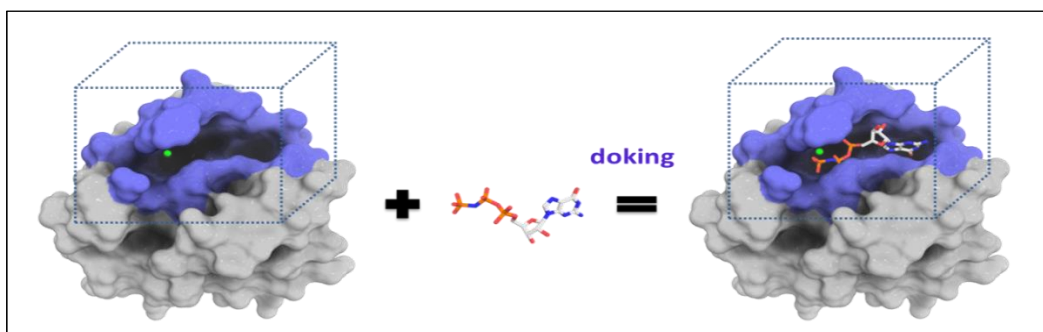


Figure N°17 : Représentation schématique du docking moléculaire [62].

2. Types de docking

Les premiers logiciels de docking développés au début des années 90 considéraient le récepteur et le ligand rigides en se basant sur le modèle « clé-serrure ». C'est le docking le plus simple et le plus rapide (Voir figure N°18).

Mis en marche plus tard, le docking semi-flexible a permis d'obtenir des résultats plus précis où le ligand est considéré comme flexible et le récepteur gardé rigide.

De nos jours, l'évolution de l'informatique permet, pour certains logiciels de docking de traiter la flexibilité des deux molécules, mais la flexibilité de récepteur permise est limitée [60].

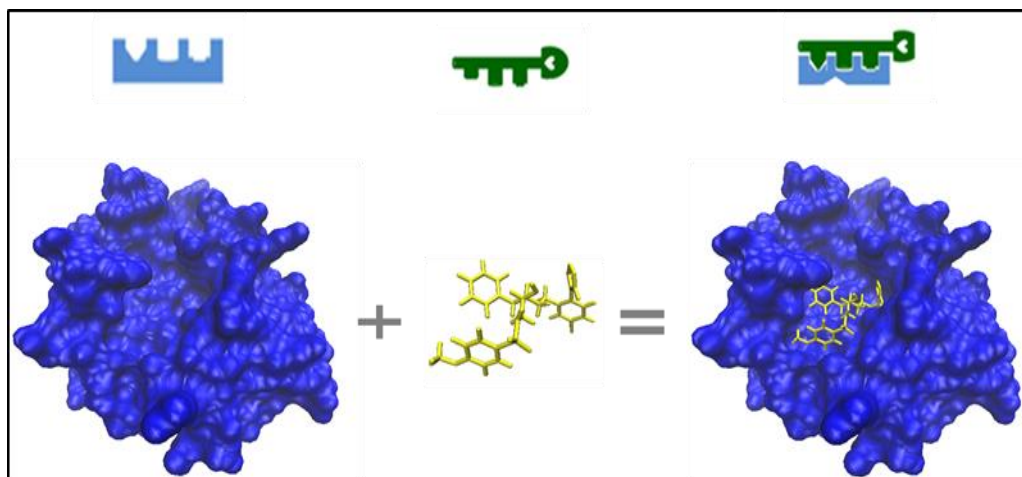


Figure N° 18 : Modèle clé-serrure [63].

3. Outils de docking moléculaire

Les éléments indispensables pour réaliser un docking moléculaire se limitent en un récepteur macromoléculaire le plus souvent de nature protéique appelée cible, un ligand et un programme de docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi [64].

3.1 Récepteur 3D (cible)

La majorité des structures protéiques sont disponibles via la PDB « Protein Data Bank ». C'est la plus grande base de données de structures 3D des macromolécules biologiques (protéines, ADN, ARN ...etc.) (<http://www.pdb.org>). Elle a été créée en 1971 au Brookhaven National Laboratory. Les structures 3D que propose cette banque sont accessibles gratuitement pour les utilisateurs. Un grand nombre de structures d'une même molécule avec ou sans ligand permet d'avoir une information pertinente. Actuellement, la PDB compte plus de 152.000 structures macromoléculaires biologiques dont plus de 141 000 sont des protéines [65].

Il est important de signaler que certaines protéines ne sont pas encore disponibles dans cette base de données, il devient alors possible de construire la structure 3D de la cible souhaitée, en faisant appel à la modélisation par homologie [66].

3.2 Ligands 3D (Chimiothèques)

Le choix du ligand est une étape très importante pour le succès du docking moléculaire. Dans ce cadre, le ligand doit être sous forme 3D. Pour y obtenir, il existe deux moyens :

- Le premier moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer sous différents formats (pdb, mol, mol2...etc.) grâce à des programmes de construction moléculaire 3D tels que Titan, ChemDraw, Arguslab, Marvin, Sybyl...etc.
- Le second moyen est souvent d'aspect commercial consistant à consulter des bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques [60]. Parmi les chimiothèques virtuelles nous citons :
 - ❖ **Chimiothèque nationale Française** : cette chimiothèque a été créée en 2003. Elle fédère les collections de produits de synthèse et d'extraits naturels existants dans les laboratoires publics français et en assure la valorisation scientifique et industrielle. En 2019, la chimiothèque nationale française regroupe plus de 74.000 molécules. Cette chimiothèque est consultée gratuitement via le lien : <http://chimiotheque-nationale.enscm.fr> [67].
 - ❖ **Pubchem** : est une banque de données américaine de molécules chimiques gérée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI), branche de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis, sous l'autorité de la National Institutes of Health (NCI). Actuellement, la PubChem répertorie plus de 97.000.000 composés en mettant en ligne, gratuitement. Cette chimiothèque est consultée gratuitement via une interface utilisateur Web : <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> [68].
 - ❖ **Zinc** : C'est une base de données contenant des composés disponibles à vendre appropriés pour le criblage virtuel. 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. Elle compte actuellement environ 35 millions de composés qui peuvent être achetés tout simplement. Cette chimiothèque est consultée gratuitement via le lien : <http://zinc.docking.org> [69].

3.3 Programmes (Logiciels)

Dans le domaine de docking moléculaire, plusieurs logiciels ont été utilisés pour étudier les différentes interactions existantes entre deux entités moléculaires (protéine-ligand). À l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking sont disponibles que ce soit commerciaux ou libres [70] (voir tableau N°2). Ces programmes présentent des algorithmes de recherche et des fonctions de score variées. Il est intéressant de remarquer que les trois logiciels AutoDock, Glide et GOLD font partie des logiciels de docking les plus populaires [71] (Voir figure N°19).

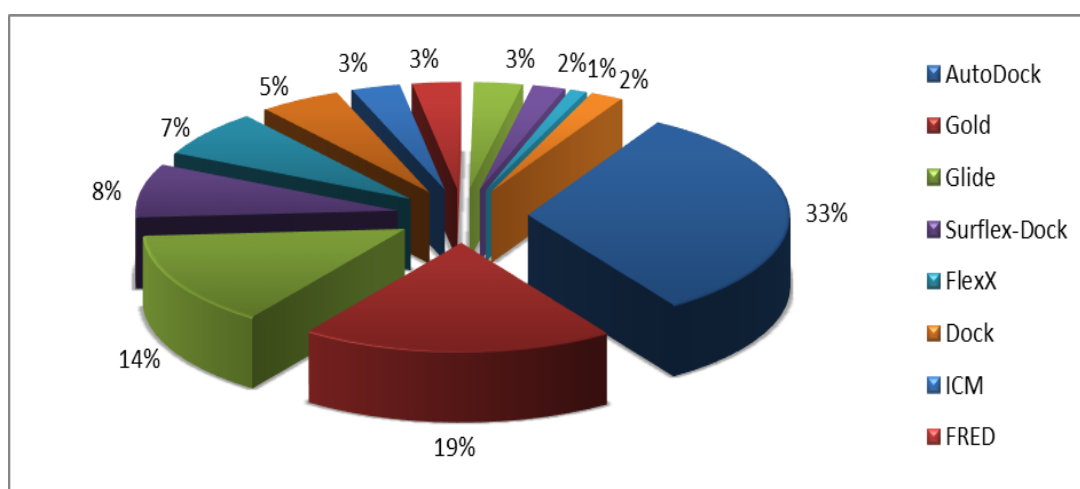
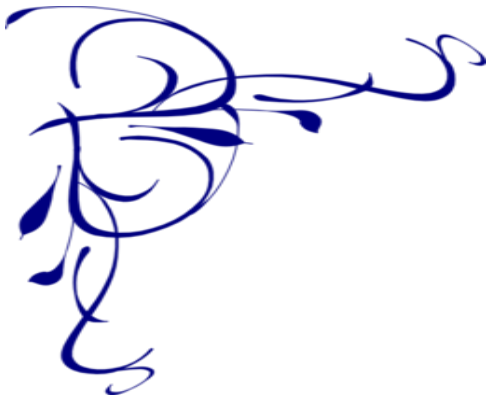


Figure N°19 : Utilisation des différents logiciels de docking en 2010-2011 [71].

Tableau N° 2 : Principaux programmes de docking moléculaire [72].

Nom	Editeur	Site Internet
AutoDock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Dock	UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred Open	OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
Glide	Schrödinger	http://www.schrodinger.com/Products/glide.html
Gold	CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/ceius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html



partie pratique





Chapitre 4: MATÉRIEL ET METHODES



Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés aux méthodes de docking moléculaire afin de proposer *in silico* des nouveaux inhibiteurs de l'ADAMTS-5. Pour y arriver, nous avons utilisé le matériel suivant :

1. Matériel

1.1 Micro-ordinateur

Dans notre étude, nous avons utilisé un micro-ordinateur dans lequel tous les programmes utilisés ont été installés sous système d'exploitation Windows 7 professionnel (64 bits). Ce micro-ordinateur possède une mémoire vive de 4Go et un processeur 2,60 GHz Intel Core i5.

1.2 Le réseau WEB

Le réseau internet a été très utile dans notre étude pour l'obtention des complexes protéiques (protéine-ligand), des composés similaires ainsi que pour la simulation des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques de nos meilleurs inhibiteurs.

1.3 Banques de données

1.3.1 PDB (Protein Data Bank)

La structure 3D de l'enzyme ADAMTS-5, faisant l'objet de ce travail, provient de la PDB « Protein Data Bank ». Il s'agit de la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques permettant de consulter et de télécharger gratuitement les structures 3D des protéines biologiques via son site web : <http://www.rcsb.org/pdb/>. [65].



Figure N°20 : Interface d'accueil du PDB.

1.3.2 Pubchem

Cette chimiothèque a été utilisée pour la recherche et le téléchargement des similaires de l'inhibiteur de l'ADAMTS-5. Les différentes conformations tridimensionnelles des modèles proposés par la PubChem sont téléchargeables sous l'extension *.sdf*. Ces fichiers ont été par la suite convertis au format *.pdb* à l'aide du programme « Open Babel ». On peut consulter cette chimiothèque via le lien : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. [68].



Figure N°21 : Interface d'accueil du PubChem.

1.4. Programmes utilisés

1.4.1 Titan

Le programme « Titan » version (1.0.0.1), nous a permis la construction moléculaire des différents inhibiteurs. Il met à disposition un panel d'atomes sous différents états d'hybridation. Il est donc possible de construire n'importe quel composé avec ses états d'hybridation. Ce programme est également doté d'un algorithme de minimisation de l'énergie permettant d'optimiser la géométrie des inhibiteurs une fois construits.

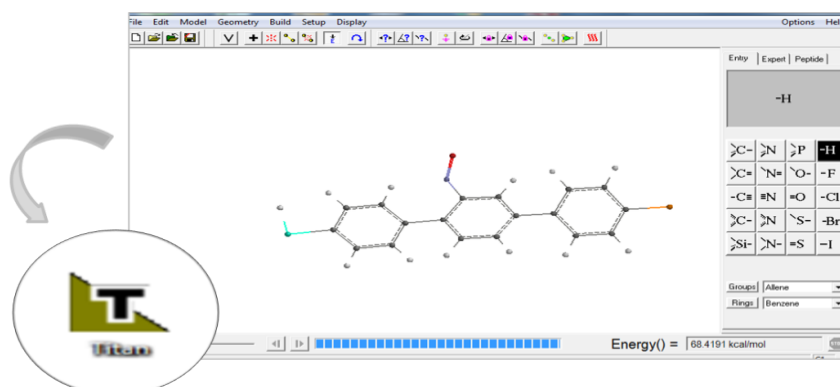


Figure N°22 : L'interface graphique du Titan version (1.0.0.1).

1.4.2 VMD (Visual Molecular Dynamics)

VMD version (1.9.1) est conçu pour la modélisation, la visualisation et l'analyse de molécules biologiques telles que les protéines et les acides nucléiques [73]. Ce programme a été utilisé en vue de séparer les complexes protéines-ligand étudiés. VMD nous a été également utile pour la visualisation du positionnement des différents inhibiteurs étudiés au sein du site actif de l'enzyme cible.

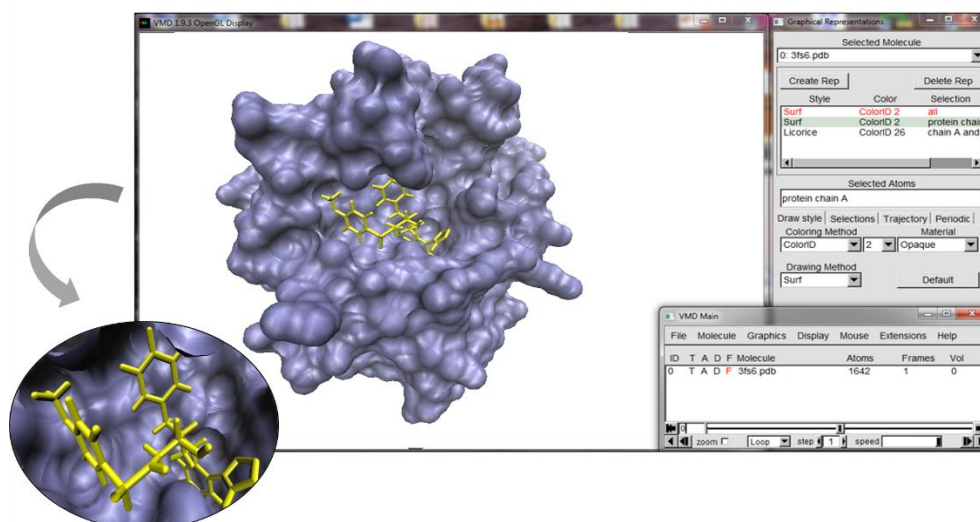


Figure N°23 : L'interface graphique du VMD version (1.9.1).

1.4.3. AutoDock

Concernant le programme du docking moléculaire, nous avons utilisé AutoDock version 4.2.6 afin de simuler les interactions Enzyme-inhibiteur. L'interface graphique AutoDock Tools version 1.5.6 a été simultanément utilisée afin de faciliter la simulation avec AutoDock tout en permettant de visualiser ses résultats.

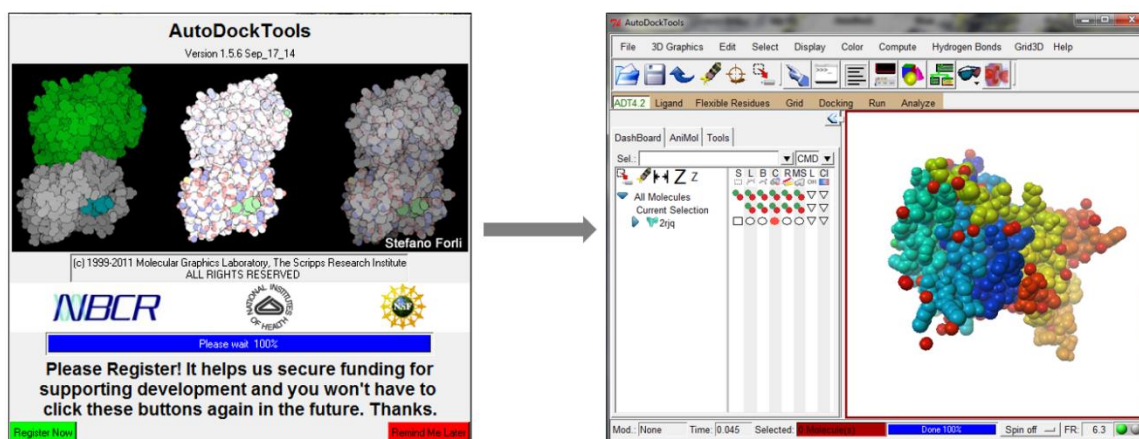


Figure N°24 : L'interface graphique AutoDock Tools.

1.4.4. Maestro

Le programme Maestro version (11.3) [74] a été utilisé pour générer les diagrammes d'interactions Enzyme-inhibiteurs simplifiant l'analyse visuelle.

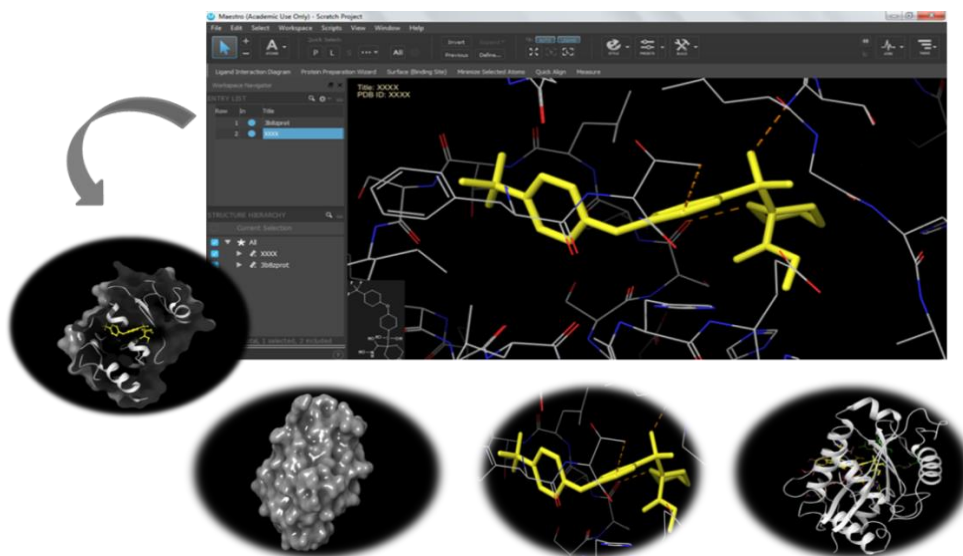


Figure N°25 : L'interface graphique de Maestro version (11.3).

1.4.5. Open Babel

Le programme « Open Babel » version (2.0.2) [75] est un programme libre qui nous a facilité la conversion des données biologiques d'un format à un autre. Les différents formats que « Open Babel » prend en charge comprennent : pdb, mol, mol2, sdf, smi...etc.

1.5. Excel Microsoft 2010

Le programme Excel du Microsoft 2010 a été utilisé dans le présent travail afin de tracer la courbe de corrélation linéaire lors du test de fiabilité du programme AutoDock.

1.6. SwissADME

Ce serveur permet de calculer des descripteurs physicochimiques ainsi que des propriétés pharmacocinétiques des composés. On peut consulter ce serveur via le lien:

[/http://www.swissadme.ch/](http://www.swissadme.ch/). [76].

1.7. PreADMET

PreADMET est un serveur en ligne permettant de prédire les données ADMET. Dans le présent travail, ce serveur a été utilisé pour prédire plusieurs critères régissant la toxicité potentielle de nos composés. On peut consulter ce serveur via le lien : <https://preadmet.bmdrc.kr/> [77].

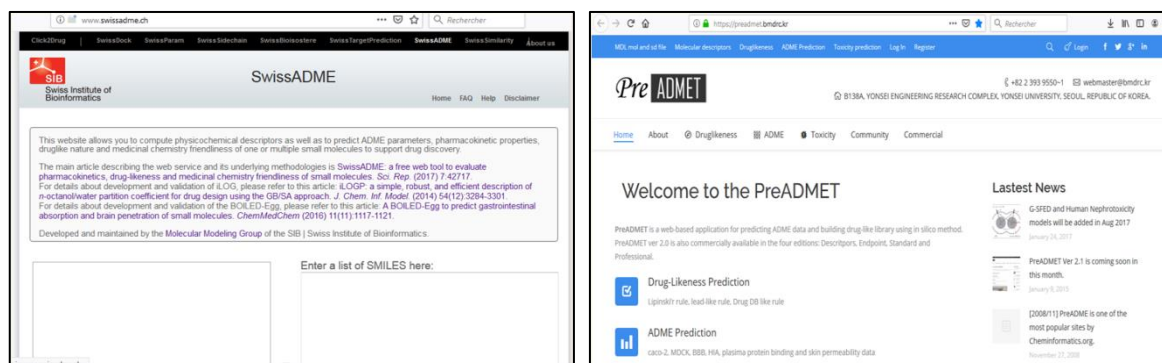


Figure N°26 : L'interface graphique de SwissADME et de PreADMET.

2. Méthodes

Le docking moléculaire par AutoDock a été réalisé en trois étapes complémentaires :

- La sélection et la préparation de la cible.
- La construction et la préparation des ligands.
- Le docking moléculaire.

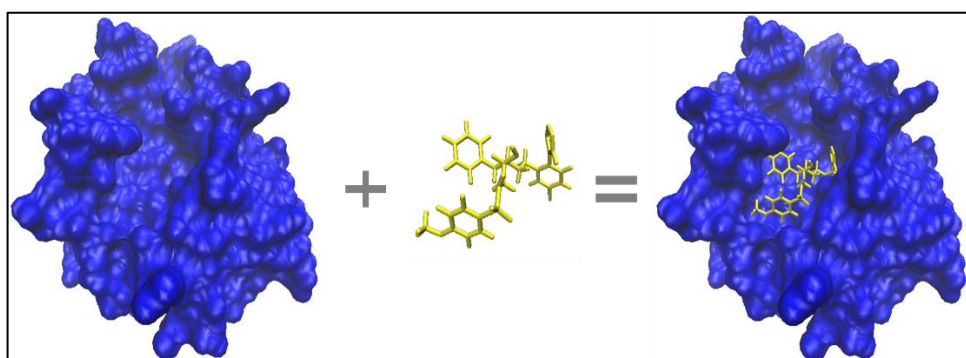


Figure N° 27 : Illustration du docking moléculaire.

2.1. Préparation de la cible

La cible que nous avons étudiée dans ce travail est l'ADAMTS-5 dont la structure 3D est disponible dans la banque de donnée PDB. En effet, cette dernière nous a proposé six structures cristallographiques de l'ADAMTS-5 humaine en complexe avec un inhibiteur. Le code PDB de ces complexes ainsi que leurs caractéristiques sont regroupées dans le tableau N°3.

Tableau N°3 : Code PDB des complexes " ADAMTS 5-inhibiteur " avec leurs caractéristiques.

Code PDB	Code de l'inhibiteur	Résolution (Å)	Nombre des chaînes	Nombre des AA	IC ₅₀ (nM)
2RJQ	BAT	2,6	1	378	/
3B8Z	294	1,4	2	434	290
3HY7	097	1,69	2	442	106
3HY9	098	2,02	2	442	17
3HYG	099	1,4	2	442	93
3LJT	LA3	1,6	1	218	129

La figure N°28 illustre les différentes structures 3D de ces complexes.

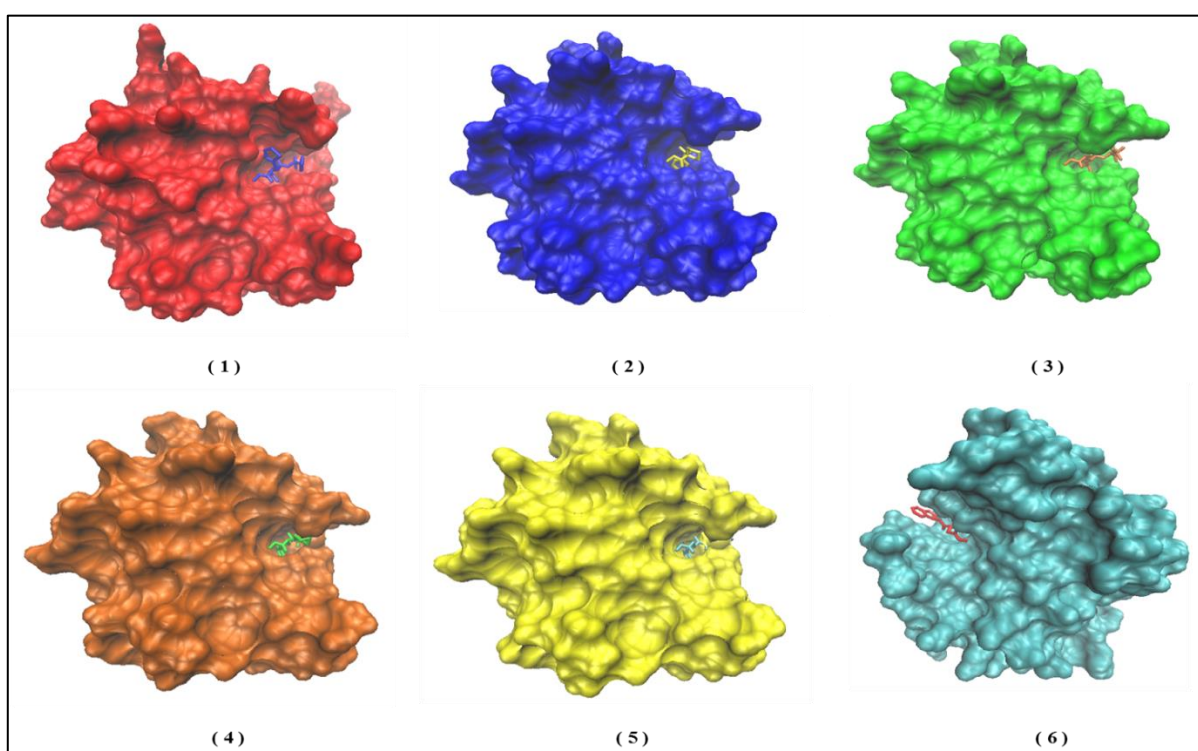


Figure N°28 : Structures 3D des six complexes de l'ADAMTS-5 humaine-inhibiteurs issues de la PDB.

Communément, le choix d'une structure cristallographique servant de modèle pour le docking moléculaire se fait selon sa faible valeur de résolution. Dans notre cas, deux complexes (**3B8Z** et **3HYG**) ont présenté la plus faible valeur de résolution (1.4 Å). Le complexe **3B8Z** a été choisi car

son inhibiteur **294**, présentant une structure favorable, est bien positionné dans le site actif (voir figure N°29).

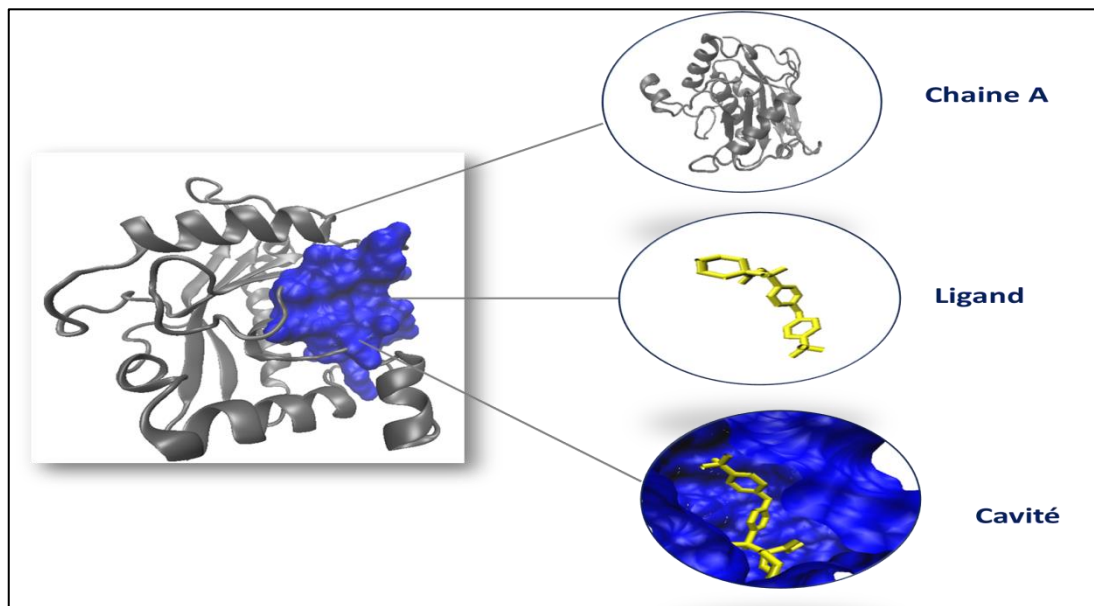


Figure N° 29 : Chaîne A de la protéine **3B8Z** avec l'inhibiteur **294** entourant le site d'interaction.

Le complexe **3B8Z** étant sous forme homo-dimère (la chaîne A et B sont identiques), la chaîne B, les molécules d'eau ainsi que l'inhibiteur ont été éliminés à l'aide du programme «VMD». Nous avons gardé uniquement la chaîne A pour permettre une utilisation plus aisée de l'enzyme lors du docking moléculaire. La structure 3D préparée de la chaîne A a été exportée sous le format *.pdb* (voir figure N°30).

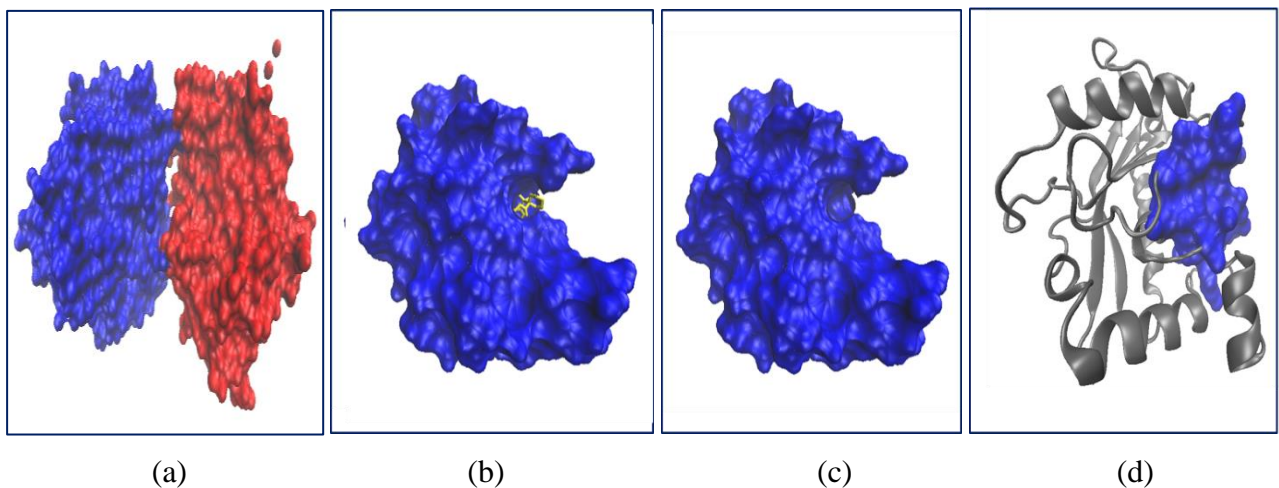


Figure N° 30 : Visualisation du complexe **3B8Z**. **(a)** les deux chaînes A et B. **(b)** la chaîne A avec son inhibiteur. **(c)** la chaîne A sans son inhibiteur. **(d)** la chaîne A sous la représentation 'new carton' avec le site actif (mode surface).

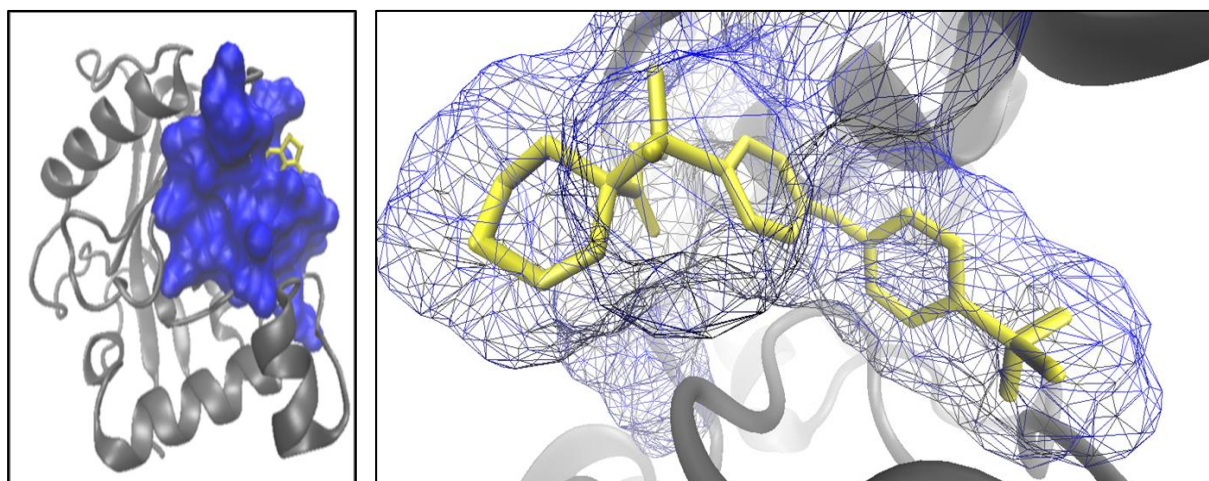


Figure N°31 : Visualisation du ligand **294** à l'intérieur de site actif de l'enzyme ADAMTS-5.

2.2. Préparation des ligands

Avant de procéder aux calculs de docking moléculaire, il était indispensable de préparer les différents ligands. Dans cette étude, 45 inhibiteurs de l'ADAMTS-5 tirés à partir de la littérature ont été construits à l'aide du programme « Titan ». Leur géométrie a été optimisée par minimisation de l'énergie. Enfin, ces inhibiteurs ont été exportés dans de fichiers *.pdb*.

2.3. Docking moléculaire

Le docking moléculaire par AutoDock s'accomplit en cinq étapes complémentaires :

2.3.1. Préparation du fichier *.pdbqt* de la cible

La chaîne A libre du complexe **3B8Z** doit être préparée en définissant les charges partielles de ses atomes par l'intermédiaire du sous-programme AutoTors qui attribue des charges de type "Kollman". Par la suite, les hydrogènes polaires ont été rajoutés avant d'exporter la protéine dans un fichier de format *.pdbqt* (format propre à AutoDock).

2.3.2. Préparation de ligands

Les ligands préalablement dessinés à l'aide du programme Titan sont par la suite préparés pour le docking avec le sous-programme AutoTors. Ce dernier contrôle les mouvements du ligand, en définissant les atomes aromatiques, les liaisons flexibles et les angles de torsion. À l'instar de la cible, les hydrogènes polaires ont été rajoutés et le ligand a été enregistré sous le format *.pdbqt*.

2.3.3. Calcul des grilles

Le ligand **294** de la cible étudiée **3B8Z** doit être plongé dans une boîte tridimensionnelle englobant largement le site actif. Le centre de cette boîte est déterminé par les coordonnées X= 12.695, Y= 2.665 et Z= -5.569 avec les dimensions 40*40*40 qui sont proportionnelles à la taille de tous les ligands étudiés (Voir la figure N°32). Avec ces coordonnées, la boîte est centrée sur le ligand au niveau du site actif. L'ensemble de ces instructions est sauvegardée dans un fichier *.gpf* (*Grid Parameters File*).

L'étape suivante consiste à exécuter les instructions contenues dans le fichier *.gpf* grâce au sous-programme AutoGrid4 qui sert à calculer le score entre les différents types d'atomes de la protéine et le ligand. Les résultats sont générés dans un fichier *.glg*.

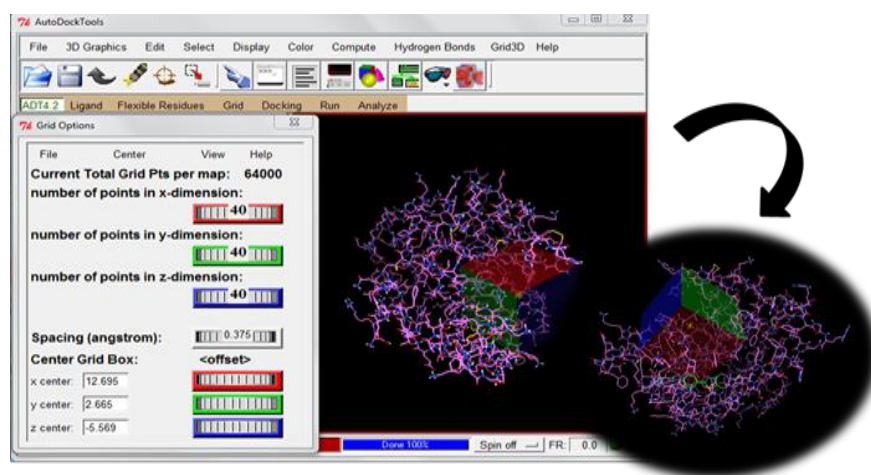


Figure N°32 : Positionnement de la boîte dans le site actif de la **3B8Z** avec ses coordonnées et ses dimensions.

2.3.4. Docking moléculaire

La recherche des solutions d'amarrage est réalisée par le sous-programme AutoDock en fonction des paramètres qu'on lui transmet dans un fichier texte de format *.dpf* (*Dock Parameters File*). Ce fichier de paramétrage fournit au programme :

- Les noms des fichiers contenant le ligand et les grilles de potentiels à utiliser.
- L'état initial du ligand (position, orientation et conformation aléatoire ou précisée).
- La méthode de recherche à utiliser avec les paramètres associés.

Dans le présent travail, l'algorithme génétique de Lamarckian a été utilisé avec ses paramètres par défaut.

2.3.5. Analyse des résultats

Les résultats de docking effectués par le programme AutoDock sont enregistrés dans un fichier *.dlg*. Ce fichier fournit les conformations spatiales des 10 meilleures positions du ligand dans le site actif de l'enzyme, leurs scores ainsi que les valeurs de leur l'écart quadratique moyen (*Root Mean Square Deviation* ou le RMSD).

La lecture du fichier *.dlg* par l'interface graphique AutoDock permet la visualisation du mode d'interaction entre les meilleures conformations du ligand et le site actif tout en affichant les différents types des liaisons formées.

2.4. Tests de fiabilité du programme « AutoDock »

Avant d'aborder l'étude des interactions ADAMTS-5-inhibiteur, il était indispensable de valider le protocole de docking moléculaire décrit dans la section précédente. La performance du programme AutoDock a été jugée au moyen de 3 tests : le test par RMSD, l'analyse visuelle et le test de corrélation linéaire.

2.4.1. Test RMSD

Suite au docking moléculaire, le programme AutoDock prédit le positionnement du ligand au sein du site actif de la protéine. Selon la littérature, un programme de docking est aussi performant s'il est capable à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux. Dans ce cadre, la valeur de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (*Root Mean Square Deviation*) qui représente la moyenne des différences de positions du ligand simulée par le programme vis-à-vis de celle déterminée expérimentalement doit être inférieure à 2 Å [78]. Dans le présent travail, ce test a été réalisé sur 100 complexes (protéine-ligand) tirés de façon aléatoire de la PDB.

2.4.2. L'analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape complémentaire du test RMSD. Elle permet de montrer si les conformations des ligands simulés par AutoDock sont correctement orientées dans le site actif de la protéine cible. S'il n'y a pas une différence significative entre la pose du ligand générée par docking et celle déterminée expérimentalement, on peut donc juger fiable la prédiction.

2.4.3. Test de corrélation linéaire

Le test par régression linéaire a été réalisé à partir de 45 inhibiteurs de l'ADAMTS-5 issus de la littérature. Ce test permet d'évaluer le degré de corrélation entre les scores simulés par AutoDock et les valeurs des IC_{50} déterminée expérimentalement des inhibiteurs étudiés. Le calcul du coefficient de corrélation linéaire de Bravais-Pearson permet d'évaluer l'intensité et le sens de relation linéaire qui existe entre ces deux variables. Il prend des valeurs situées entre -1 et 1. Plus le coefficient de corrélation est proche des valeurs extrêmes soit -1 ou 1, plus la corrélation linéaire entre les deux variables est forte, plus le logiciel est fiable.

2.5. Identification des meilleurs inhibiteurs

2.5.1. Recherche de similarité

Le test de corrélation linéaire décrit précédemment nous a permis de révéler, parmi les 45 inhibiteurs étudiés, celui présentant la meilleure activité à l'égard de l'enzyme tant sur le plan expérimental (l' IC_{50} la plus faible) que sur le plan théorique (le score le plus faible). Ce composé a été utilisé comme structure de départ pour rechercher via la PubChem des composés similaires. Avec un pourcentage de similarité de 83%, cette banque de données nous a proposé 322 composés similaires de notre structure de départ. Ces similaires ont été fournis sous le format *.sdf* puis convertis vers le format *.pdb* reconnu par AutoDock. Le docking moléculaire de ces composés similaires dans le site actif de l'enzyme nous permettra de révéler de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'ADAMTS-5.

2.5.2. Modification par substitution

À l'issue de l'étude précédente, le composé similaire ayant présenté le meilleur score a subi des modifications structurales par substitution afin d'améliorer d'avantage son score. Au total de 75 substitutions ont été effectuées ; 45 modifications par mono-substitutions et 30 modifications par bi-substitutions. Les groupements ajoutés sont regroupés dans figure N°33.

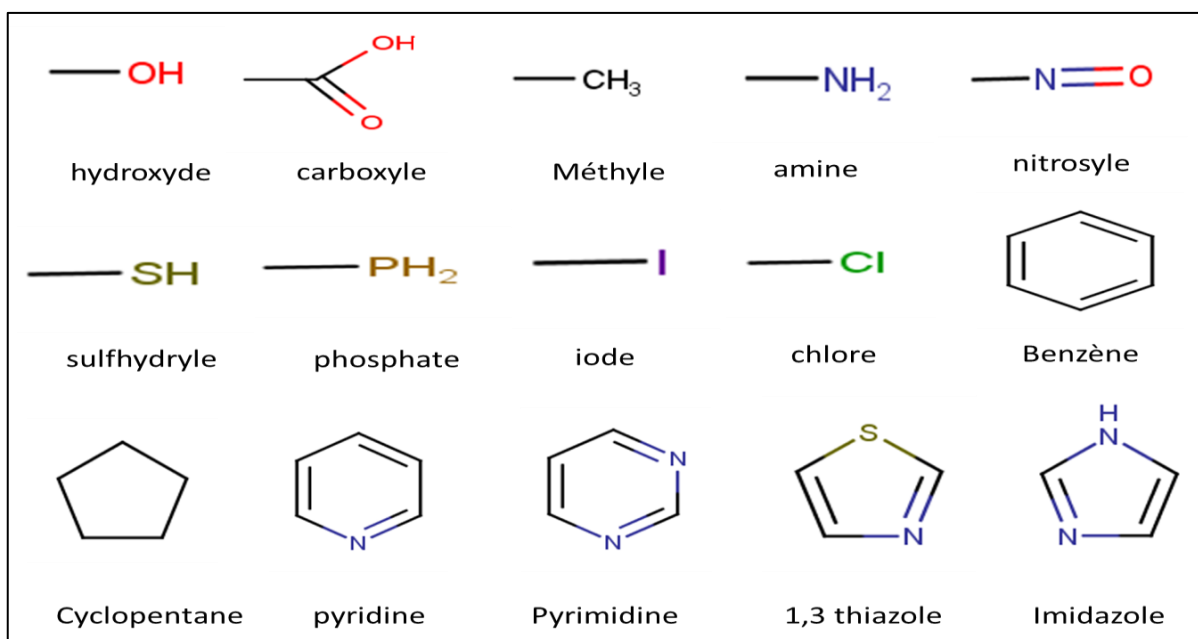


Figure N°33 : Les groupements ajoutés au cours de la substitution.

2.6. Filtrage ADMET

Plusieurs molécules bioactives n'atteignent pas les phases cliniques à cause de leurs propriétés pharmacologiques défavorables. Dans le présent travail, nous avons fait appel au serveur SwissADME afin de simuler les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques régissant les paramètres ADME des meilleurs inhibiteurs obtenus. Par la suite, plusieurs critères de toxicité ont été simulés via le serveur PreADMET.

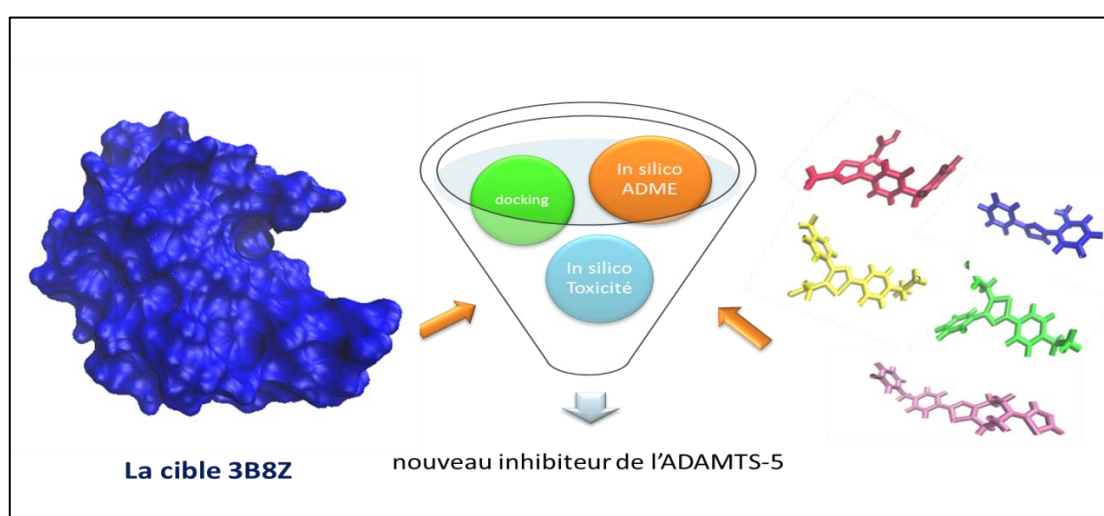


Figure N°34 : Schéma explicatif du filtrage ADMET.

2.6.1. Propriétés physico-chimiques

➤ La règle de Lipinski (règle des 5)

La règle de Lipinski, aussi connu sous le nom : Règle de 5, permet de vérifier la biodisponibilité orale d'un composé à partir de sa structure 2D. D'après cette règle, les composés qui ne valident pas au moins trois des cinq critères suivants sont susceptibles de poser des problèmes d'administration par voie orale :

- Poids moléculaire (PM) ≤ 500 Da.
- Coefficients de partage octanol-eau ($\log P$) ≤ 5 .
- Le nombre d'accepteur d'hydrogène (n.ON) ≤ 10 .
- Le nombre de donneur d'hydrogène (n.OH/NH) ≤ 5 .
- Le nombre de liaisons flexibles (n.LF) < 15 . [79].

➤ La règle de Veber

Deux autres critères introduits par Veber sont souvent employés en complément avec la règle des 5. Cette règle permet également de confirmer la biodisponibilité orale d'un composé répondant à la règle de Lipinski. Les critères de cette règle sont :

- La surface polaire de la molécule TPSA $\leq 140 \text{ \AA}^2$
- Nombre de liaisons à libre rotation ≤ 10 . [80].

➤ Solubilité dans l'eau

La solubilité dans l'eau est une mesure de la quantité de substance chimique pouvant se dissoudre dans l'eau à une température donnée. L'unité de solubilité est généralement exprimée en mg / L (milligrammes par litre) ou en ppm (parties par million) [81].

➤ Accessibilité à la synthèse

Après avoir examiné un panel de substances pour en déterminer leur activité, l'une des questions les plus importantes à répondre concerne l'accessibilité synthétique relative aux composés les plus intéressants. Bien que l'accessibilité synthétique ne soit pas le seul facteur à prendre en compte lors de la définition des priorités pour le suivi, elle constitue l'un des facteurs les plus importants et décisifs dans le succès ou l'échec de nombreux efforts d'optimisation [82].

2.6.2. Propriétés pharmacocinétiques

➤ Absorption gastro-intestinale (GI)

Ce descripteur indique la capacité d'un composé à traverser la barrière gastro-intestinale pour accéder au sang. Elle se caractérise essentiellement par l'un des trois mécanismes qui comprennent la diffusion facilitée, la diffusion passive, et le transport actif.

➤ La perméabilité BBB

Ce descripteur indique la pénétration d'un composé à traverser la barrière hémato-encéphalique (BBB) qui contrôle le passage de la plupart des composés du sang vers le système nerveux central (SNC).

➤ Inhibition de CYP 450

Les cytochromes P450 sont des enzymes clés intervenant dans le métabolisme de différentes molécules endogènes ou exogènes. Elles existent sous plusieurs iso-formes (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4) mais les plus importants sont les deux derniers (voir figure N°35). La prédiction de l'interaction de nos meilleurs inhibiteurs avec ces iso-formes a été également essentielle puisque l'inhibition de ces iso-enzymes est certainement l'une des principales causes des interactions médicamenteuses entraînant des effets toxiques ou indésirables [83].

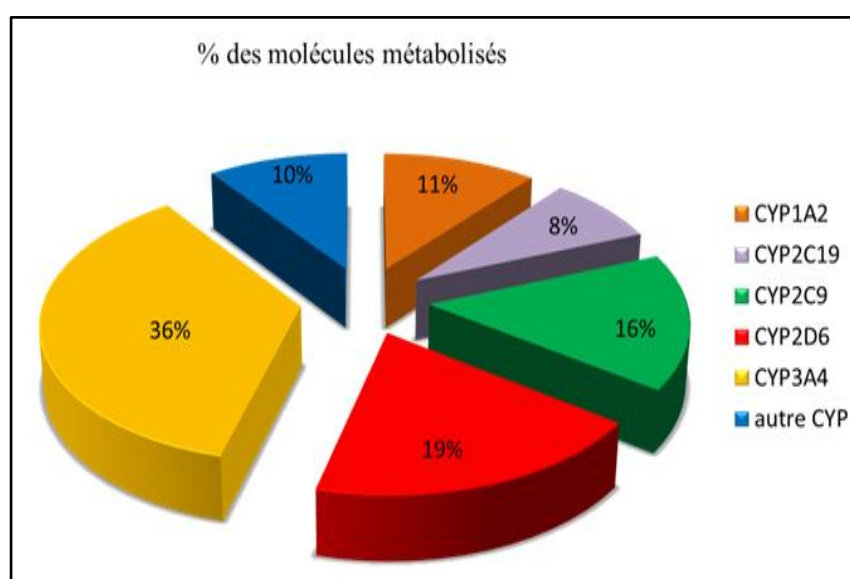


Figure N° 35 : Répartition de molécules métabolisées par les différentes iso-enzymes de CYP450 [83].

2.6.3. Toxicité

Un candidat médicament doit présenter un profil de sécurité acceptable dans toutes les études toxicologiques requises. Le serveur PreADMET utilise des descripteurs permettant non seulement de déterminer le profil de sécurité mais aussi de simuler les degrés des effets toxiques potentiels d'un composé envers plusieurs tests qui sont :

➤ Mutagénicité par test d'Ames

Le test d'Ames est une méthode simple pour tester la mutagénicité d'un composé. Il utilise plusieurs souches de la bactérie *Salmonella typhimurium* portant des mutations dans des gènes impliqués dans la synthèse de l'histidine, de sorte qu'elles ont besoin d'histidine pour leur croissance. Ce test consiste à évaluer la capacité d'un composé à provoquer une mutation permettant un retour à la croissance sur un milieu sans histidine (Voir figure N°36).

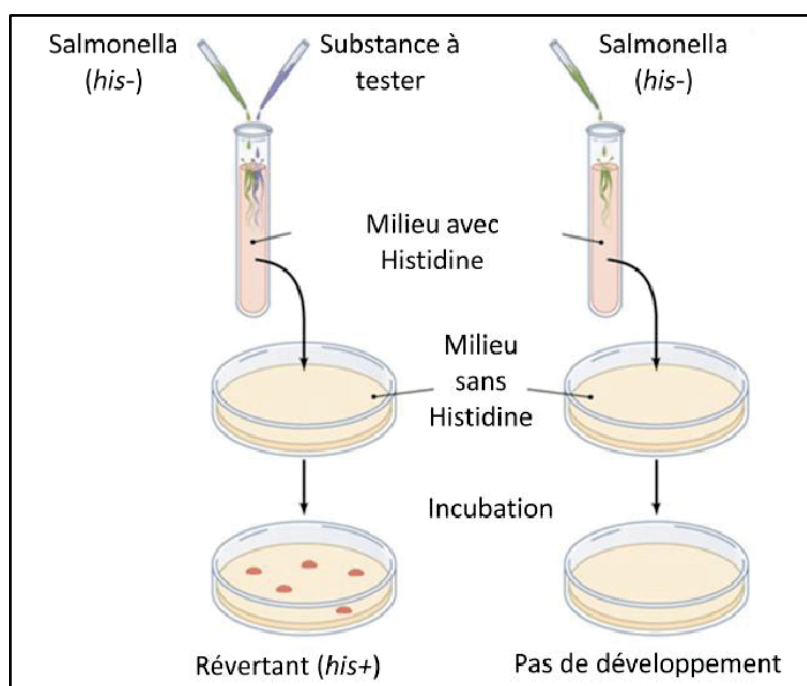


Figure N°36 : Schéma explicatif de test d'Ames [84].

➤ Cancérogénicité

Les études de cancérogenèse se font sur des modèles animaux des rongeurs (les rats et les souris) pour évaluer le potentiel carcinogène d'un composé.

➤ **Inhibition de hERG**

hERG (human Ether-à-go-go-Related Gene) est un gène codant un canal potassique voltage-dépendant qui fait sortir le potassium de la cellule. Le blocage de ce canal entraîne des fibrillations en cardiologie qui peut aboutir à un arrêt cardiaque.

➤ **Toxicité aigue**

Les tests de toxicité aigüe permettent d'évaluer le degré auquel une molécule peut nuire à un organisme vivant. Ces tests se font habituellement sur différents organismes aquatiques telle que les algues (*algae*), les crustacés (*daphnia*) et les poissons (*medaka* et *minnow*).



Chapitre 5: RÉSULTATS ET DISCUSSION



1. Fiabilité du programme AutoDock

1.1 Test RMSD

Ce test a été réalisé sur une série de cent complexes tirés de façon aléatoire de la PDB. Au cours de ce test, nous avons évalué la capacité d'AutoDock à prédire l'emplacement correct de chaque ligand au sein du site actif de la protéine. La prédiction est acceptable si les valeurs de RMSD ne dépassent pas 2Å [78]. La liste des complexes étudiés avec les valeurs de RMSD est représentée dans l'annexe-1. Les résultats obtenus de ce test sont illustrés dans les figures N°37, N°38.

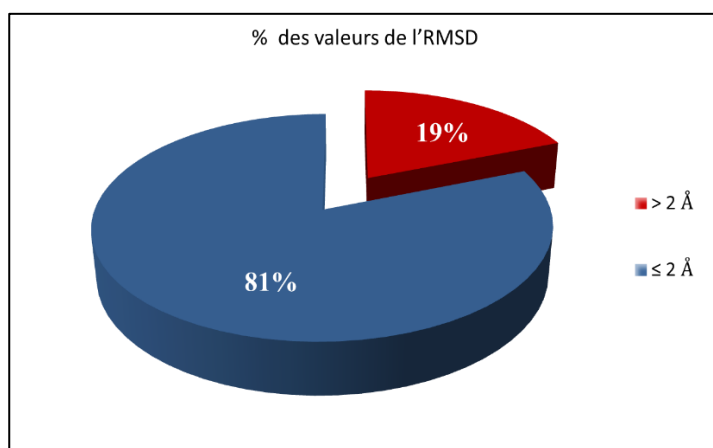


Figure N°37 : Résultats en pourcentage des valeurs de RMSD obtenus par « AutoDock ».

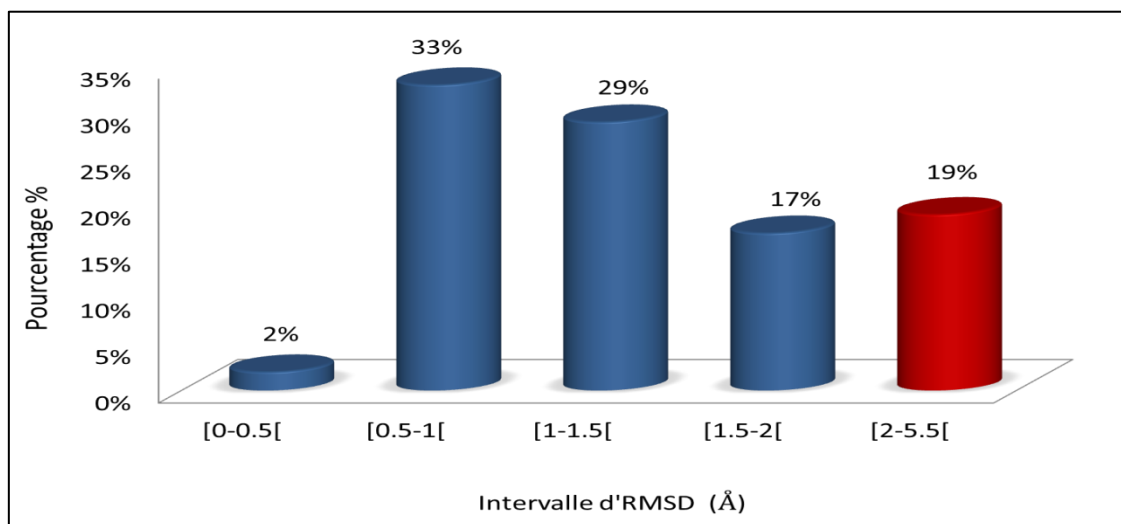


Figure N°38 : Histogramme en % des valeurs de RMSD à divers intervalles.

Il ressort de la figure N°37 que 81% des valeurs de RMSD sont inférieures ou égale à 2 Å alors que seulement 19% sont supérieures à cette valeur seuil. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Chikhi et Bensegueni (2008), et Gabb J et al (1997) [85][78] ce qui montre la pertinence de nos résultats. Il est à souligner que la majorité des bonnes valeurs de RMSD se situe dans l'intervalle 0,5 –1,0 Å avec un pourcentage égal à 33 % (voir figure N°38).

1.2 L'analyse visuelle

L'analyse visuelle faisant suite au test par RMSD est une étape essentielle pour s'assurer de la fiabilité des simulations menées par AutoDock. Elle permet d'avoir une vision sur les résultats décrits par la valeur numérique de RMSD. Pour ce qui est des trois complexes ADAMTS-5-inhibiteurs disponibles dans la PDB, l'analyse visuelle montre qu'il n'y a pas une différence significative entre la pose du ligand générée après docking (colorée en jaune) et celle de référence déterminée expérimentalement (colorée en bleu). Cela témoigne davantage de la fiabilité du programme AutoDock pour l'étude *in silico* de l'inhibition de l'ADAMTS-5 (Voir figure N°39).

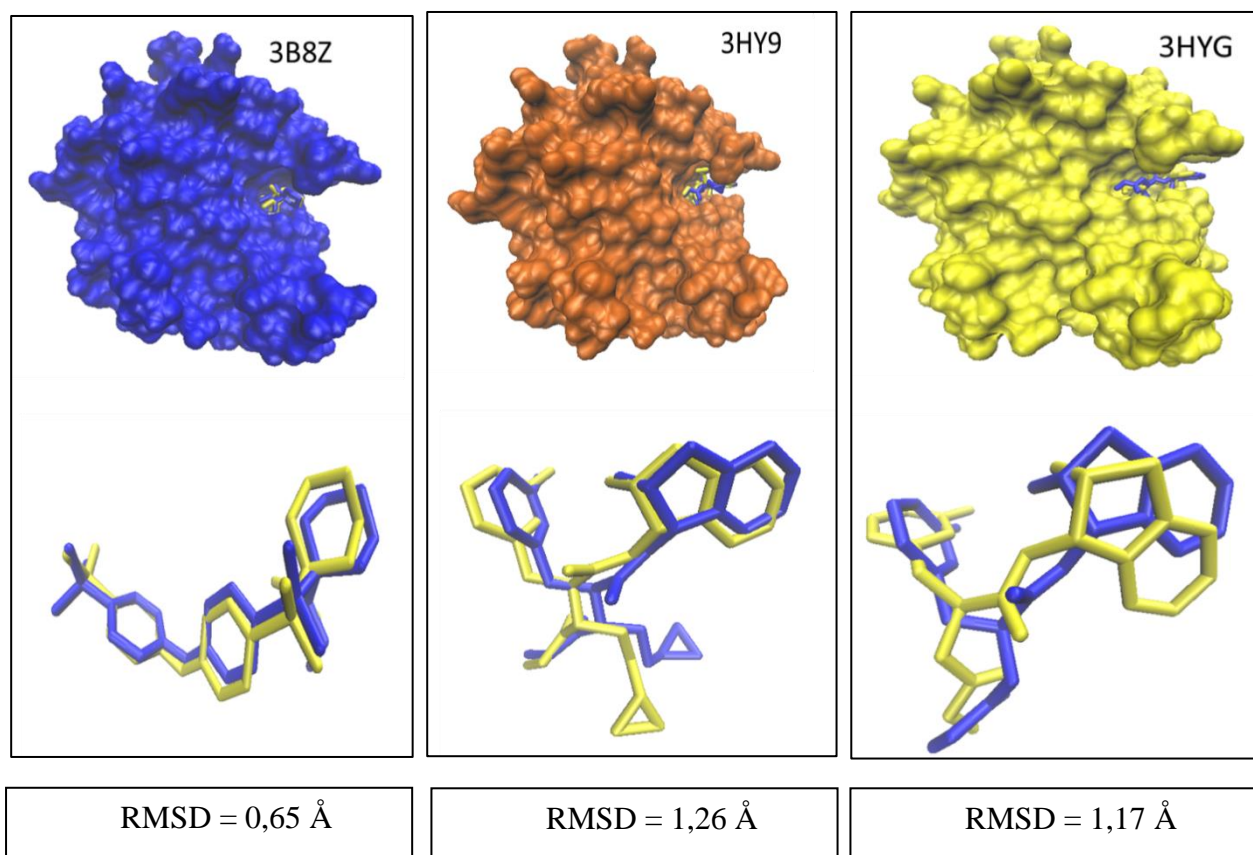


Figure N° 39 : Superposition des ligands du complexes simulés par « AutoDock » vis-à-vis au ligand de référence.

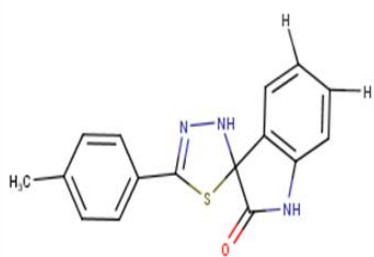
1.3. Test de corrélation linéaire

Ce test consiste à évaluer le degré de corrélation existant entre les énergies d'interaction (ΔG) des inhibiteurs simulés avec AutoDock et les valeurs expérimentales de leurs IC_{50} . Au total, 45 inhibiteurs de l'ADAMTS-5 issus de la littérature avec des IC_{50} connus ont été utilisés pour réaliser ce test. À l'aide du programme Excel, nous avons tracé la courbe de régression linéaire. À cause de valeurs très divergentes des IC_{50} , nous nous sommes servis des valeurs de $LogIC_{50}$ pour tracer cette courbe (voir figure N°41). Les valeurs théoriques de ΔG fournies par AutoDock des inhibiteurs étudiés ainsi que les valeurs de leurs IC_{50} et $Log IC_{50}$ sont représentés dans le tableau N°4.

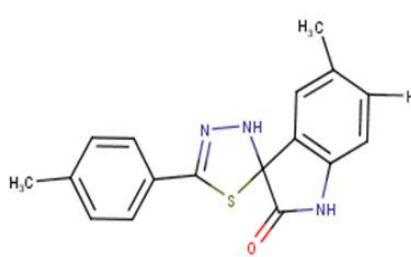
Tableau N°4 : Les 45 inhibiteurs de l'ADAMTS-5 ainsi leurs scores.

Composé	IC_{50} (μM)	$Log IC_{50}$	SCORE (kcal/mole)	Référence
1	3,7	0,568201724	-8,63	[55]
2	3	0,477121255	-8,79	[55]
3	1,9	0,278753601	-9,05	[55]
4	0,78	-0,107905397	-8,58	[58]
5	2,5	0,397940009	-8,69	[55]
6	1,4	0,146128036	-8,89	[55]
7	2	0,301029996	-8,71	[55]
8	2,4	0,380211242	-8,88	[55]
9	1,4	0,146128036	-8,64	[55]
10	1,2	0,079181246	-8,69	[55]
11	0,61	-0,214670165	-10	[55]
12	0,87	-0,060480747	-9,81	[55]
13	0,64	-0,193820026	-9,97	[55]
14	1,4	0,146128036	-9,67	[56]
15	0,76	-0,119186408	-9,65	[58]
16	6	0,77815125	-6,29	[54]
17	5	0,698970004	-6,1	[54]
18	5,4	0,73239376	-7,51	[54]
19	1,7	0,230448921	-9,37	[54]
20	1,7	0,230448921	-8,85	[54]

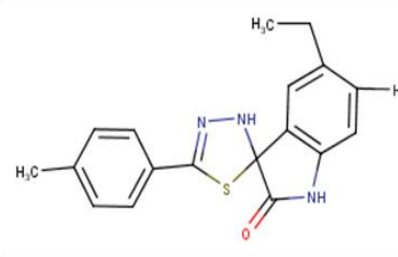
21	0,7	-0,15490196	-9,3	[54]
22	0,5	-0,301029996	-9,03	[54]
23	1,7	0,230448921	-7,93	[54]
24	2,7	0,431363764	-8,02	[54]
25	2,5	0,397940009	-8,12	[54]
26	6	0,77815125	-8,46	[54]
27	1,5	0,176091259	-8,46	[54]
28	4,2	0,62324929	-6,44	[57]
29	6,4	0,806179974	-8,09	[57]
30	4	0,602059991	-7,83	[57]
31	3	0,477121255	-8,31	[57]
32	2,8	0,447158031	-8,74	[57]
33	2,9	0,462397998	-8	[57]
34	7	0,84509804	-7,39	[57]
35	1,2	0,079181246	-9,04	[57]
36	1,3	0,113943352	-8,51	[57]
37	2,2	0,342422681	-9,11	[57]
38	1	0	-9,63	[58]
39	0,43	-0,366531544	-9,58	[57]
40	0,83	-0,080921908	-9,59	[58]
41	0,62	-0,207608311	-8,93	[58]
42	1,22	0,086359831	-8,94	[58]
43	1,85	0,267171728	-9,16	[58]
44	0,83	-0,080921908	-8,58	[58]
45	0,8	-0,096910013	-9,43	[58]



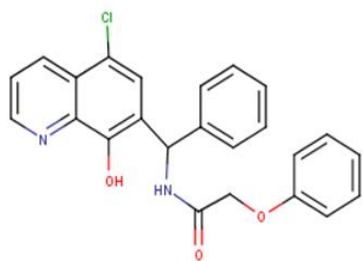
Composé 1



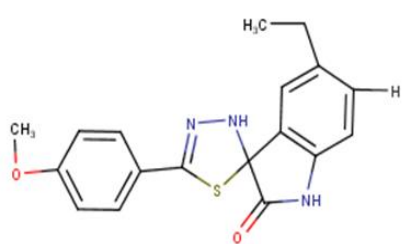
Composé 2



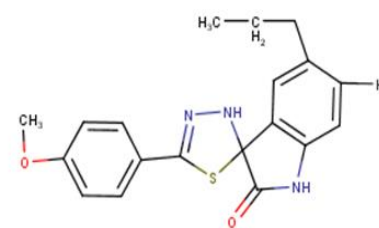
Composé 3



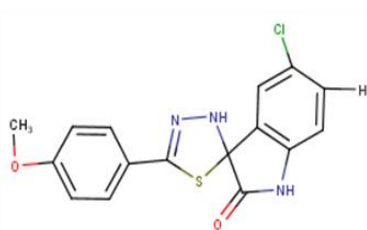
Composé 4



Composé 5



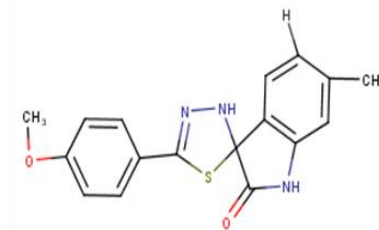
Composé 6



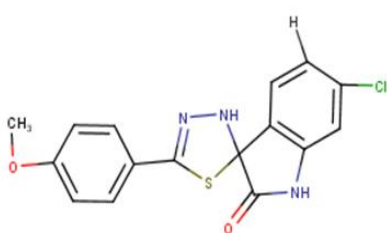
Composé 7



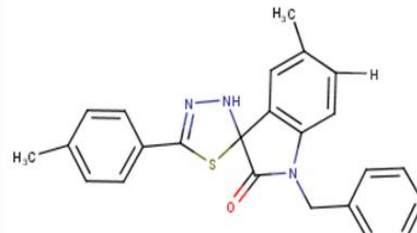
Composé 8



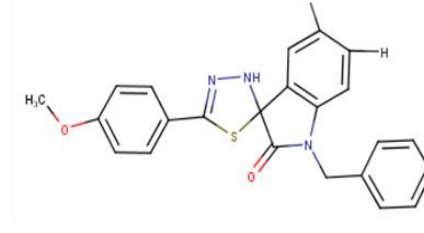
Composé 9



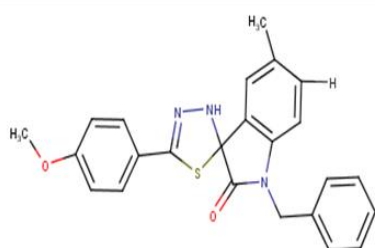
Composé 10



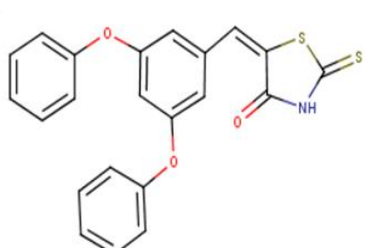
Composé 11



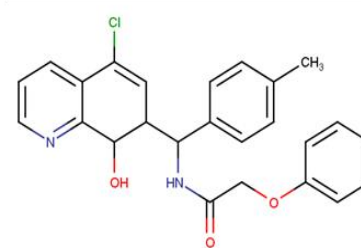
Composé 12



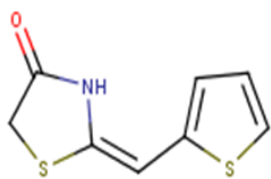
Composé 13



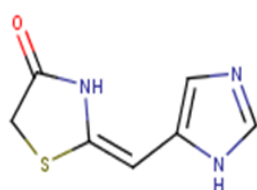
Composé 14



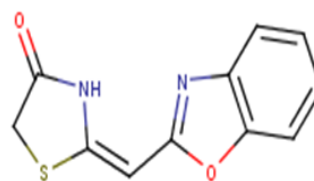
Composé 15



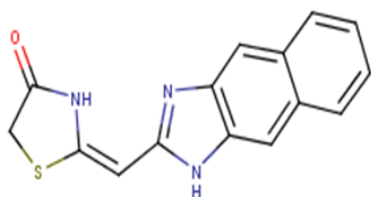
Composé 16



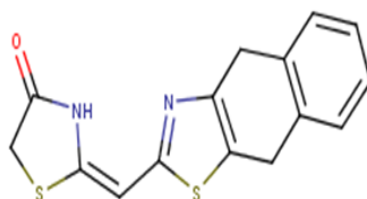
Composé 17



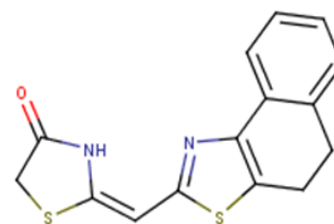
Composé 18



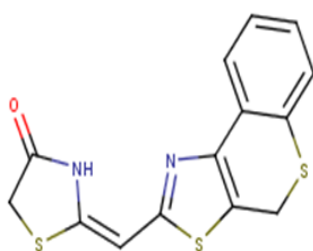
Composé 19



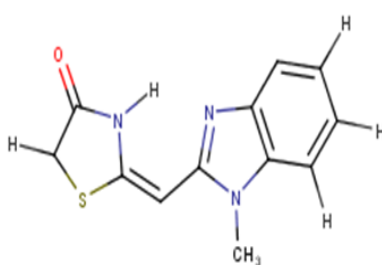
Composé 20



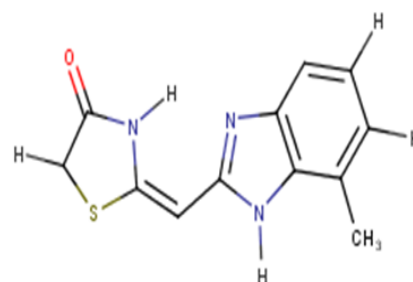
Composé 21



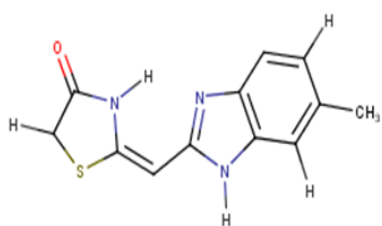
Composé 22



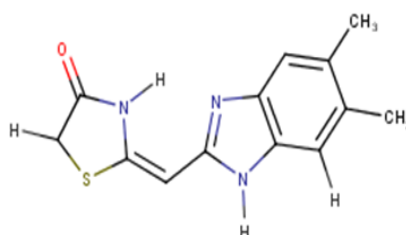
Composé 23



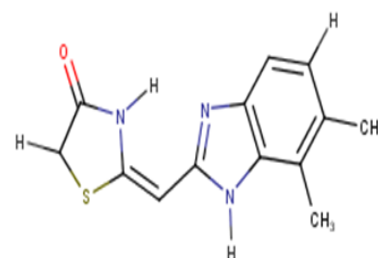
Composé 24



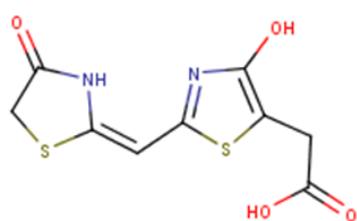
Composé 25



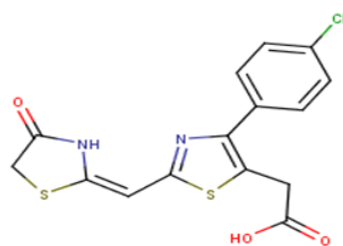
Composé 26



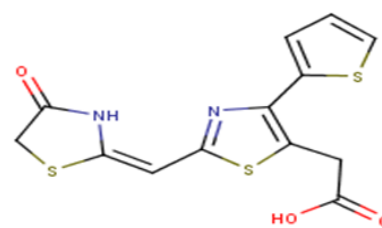
Composé 27



Composé 28



Composé 29



Composé 30

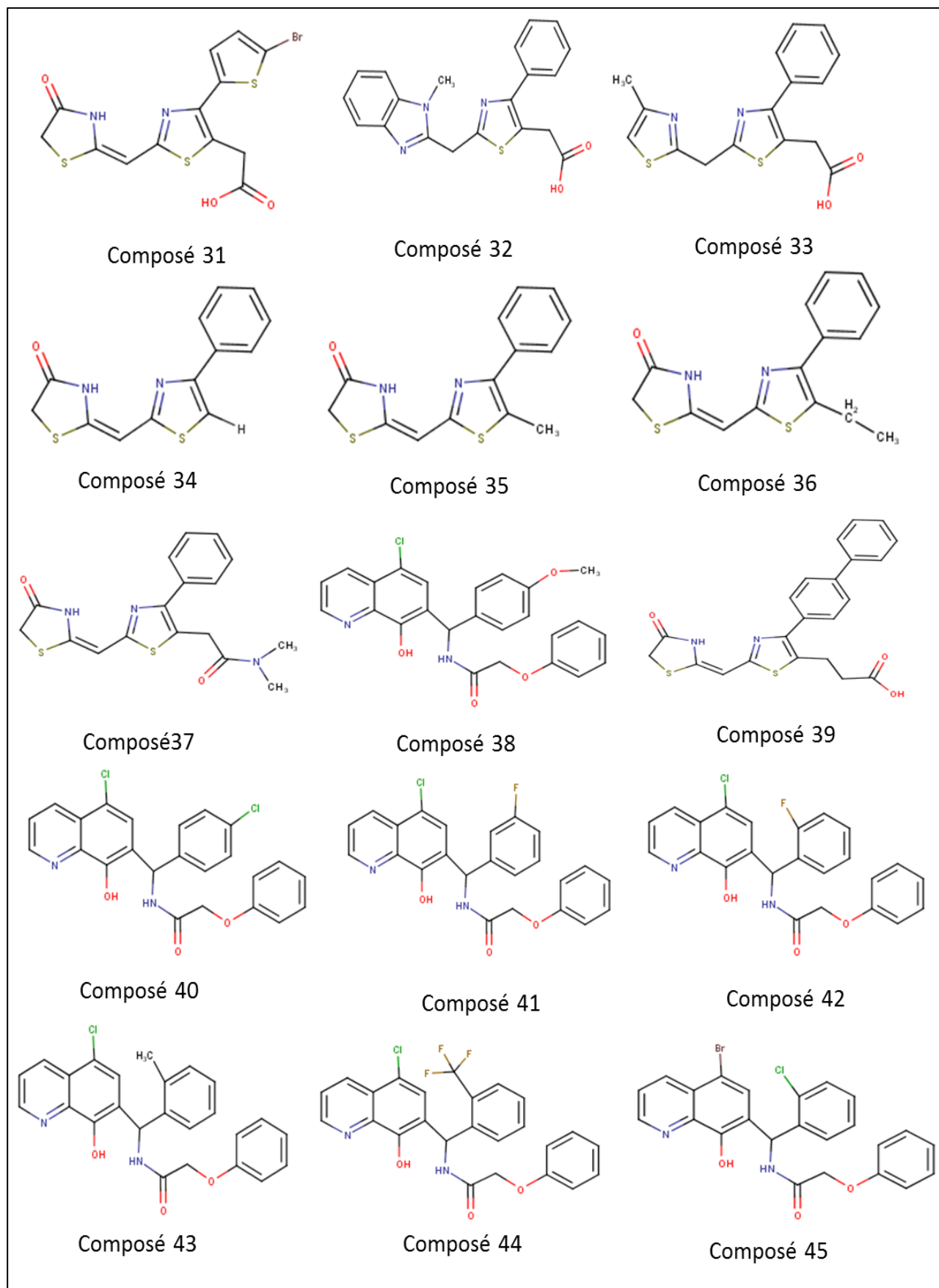


Figure N°40 : Structures des inhibiteurs de l'ADAMTS-5 utilisés dans l'étude de la corrélation linéaire.

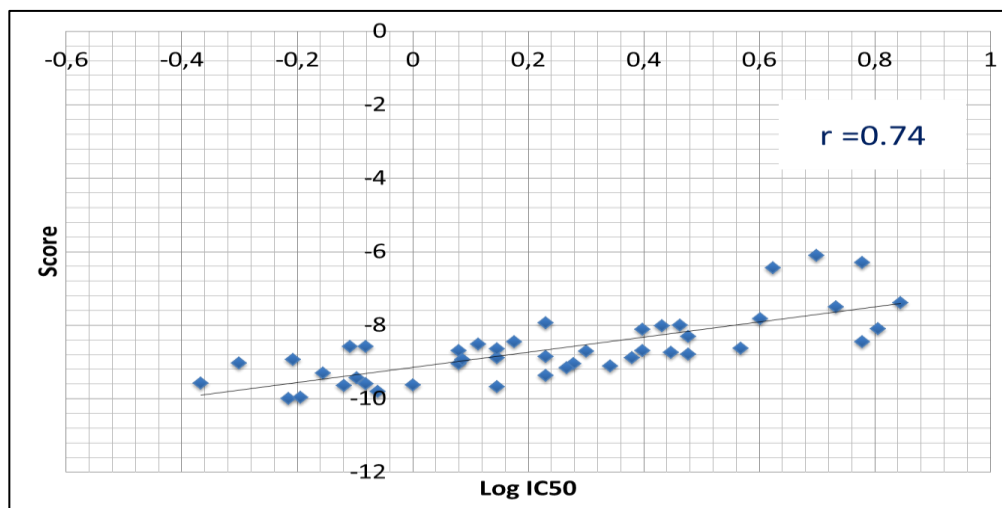


Figure N° 41 : Courbe de corrélation linéaire entre Log IC₅₀ des 45 inhibiteurs et leurs scores.

L'analyse par régression linéaire (figure N°41) montre qu'il existe une forte corrélation entre les énergies d'interaction et les valeurs de Log IC₅₀ des inhibiteurs étudiés et ce avec un coefficient de corrélation « r » égale à **0.74**. Ces résultats sont en accord avec les travaux de BENSEGUNEI A en (2007) montrant qu'un programme de docking moléculaire est aussi performant quand la valeur absolue du coefficient de corrélation linéaire (r) dépasse 0.5 [86].

1.4. Conclusion

À la lumière des résultats obtenus avec les tests de fiabilité par RMSD, analyse visuelle et régression linéaire, nous pouvons conclure que le programme AutoDock est performant. Il peut être utilisé, sans trop risque d'erreurs, pour étudier *in silico* l'inhibition de l'ADAMTS-5 par différents inhibiteurs.

2. Inhibition de l'ADAMTS-5 par divers inhibiteurs

Le test de corrélation linéaire décrit précédemment nous a permis de révéler, parmi les 45 inhibiteurs étudiés, le composé **39** comme l'un des meilleurs inhibiteurs de l'ADAMTS-5 tant sur le plan expérimental (IC₅₀ = 0.43 uM [57]) que théorique (score = -9.58 kcal/mole). En effet, le docking moléculaire de ce composé au sein du site actif de l'enzyme (voir figure 42) donne l'un des meilleurs scores dans cette étude soit -9.58 kcal/mole.

L'analyse visuelle montre que le composé **39** inhibe l'ADAMTS-5 en formant deux liaisons hydrogènes au sein du site actif. La première liaison est située entre le Gly380 et l'oxygène (O) de la fonction carboxyle (COOH) de la chaîne latérale avec une distance = 2,19 Å. La deuxième liaison,

distante de 2.23 Å, est formée entre Ser441 et l'azote (N) du thiazol de l'inhibiteur. Le complexe ADAMTS-5-composé **39** est stabilisé également par de nombreuses interactions hydrophobiques faisant intervenir les résidus Leu379, Met381, Ala382, Phe406, Ala409, Leu438, Met439, Ile442, Leu443 et Ile446. (Voir la figure N°43).

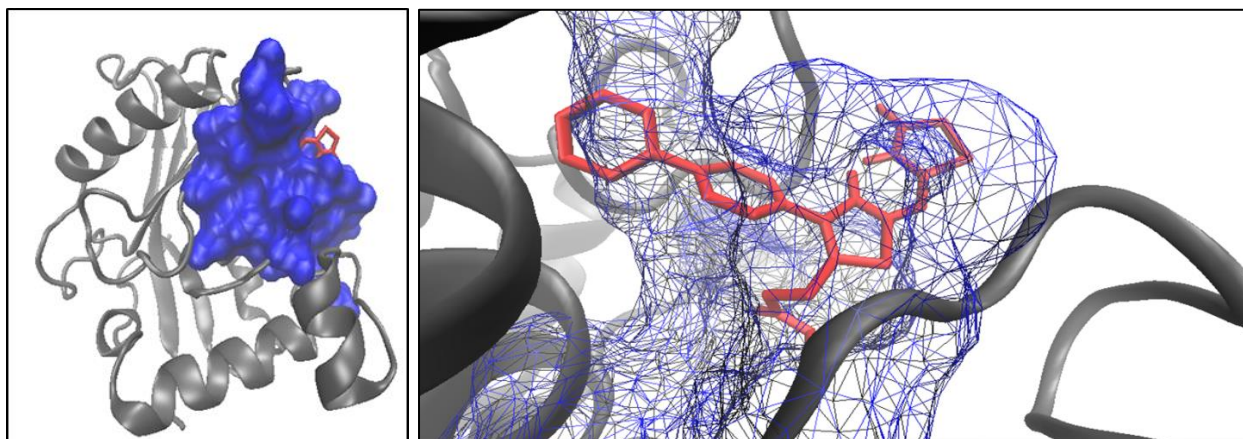


Figure N°42 : Illustration du positionnement de l'inhibiteur **39** dans le site actif de L'ADAMTS-5.

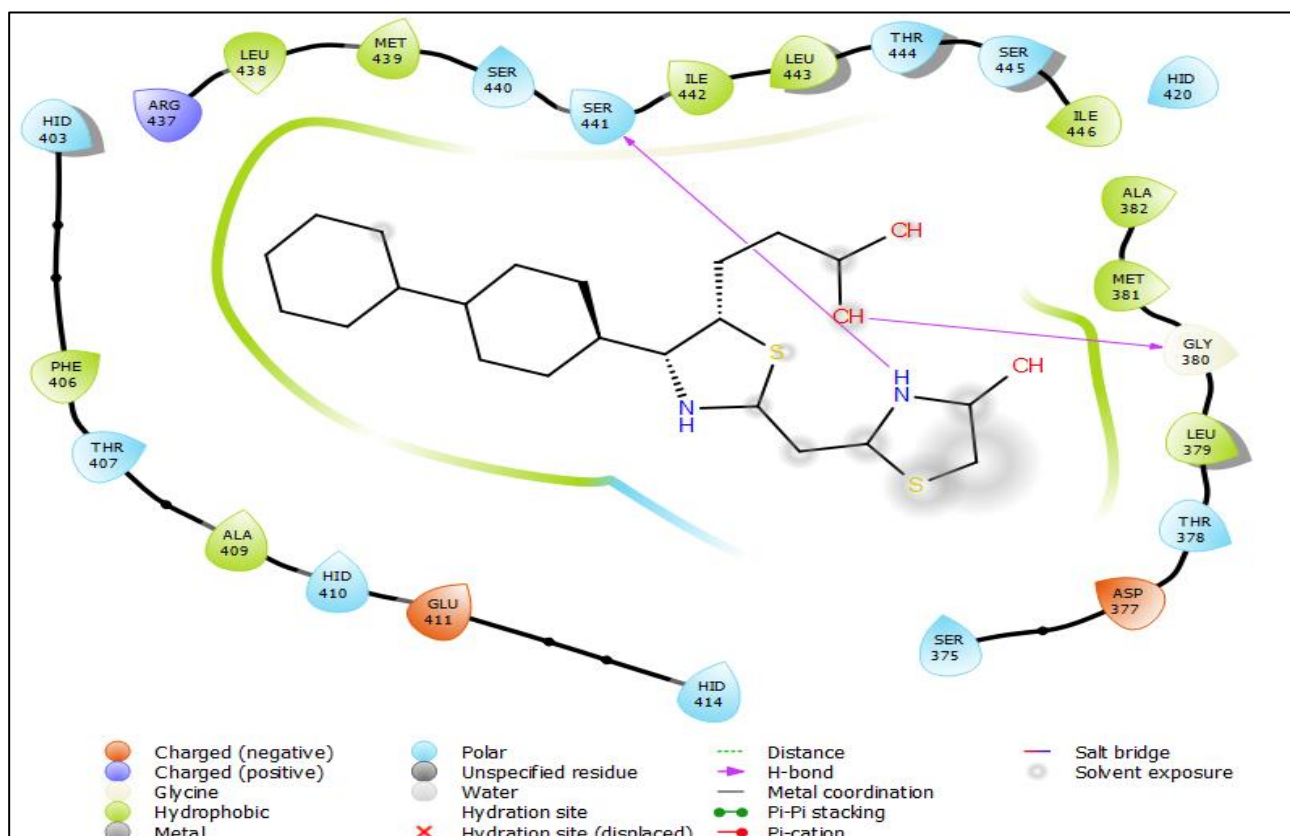


Figure N°43 : Diagrammes des interactions ADAMTS-5 – composé **39**.

3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'ADAMTS-5

3.1. Criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques

Le composé **39** a été utilisé comme structure de départ pour rechercher via la PubChem des composés similaires. Cette chimiothèque nous a proposé une collection de 322 similaires avec un taux de similarité allant jusqu'au 83 %. Les scores de docking de ses composés similaires sont représentés dans l'annexe-2.

Le docking moléculaire de ces composés similaires envers le site actif de la cible fait ressortir 40 composés présentant un score inférieur à -9.58 kcal/mole ; score du composé de départ. Ceci montre que ces composés similaires peuvent être des inhibiteurs potentiels de la cible. Les résultats obtenus sont représentés dans l'histogramme de la figure N°44.

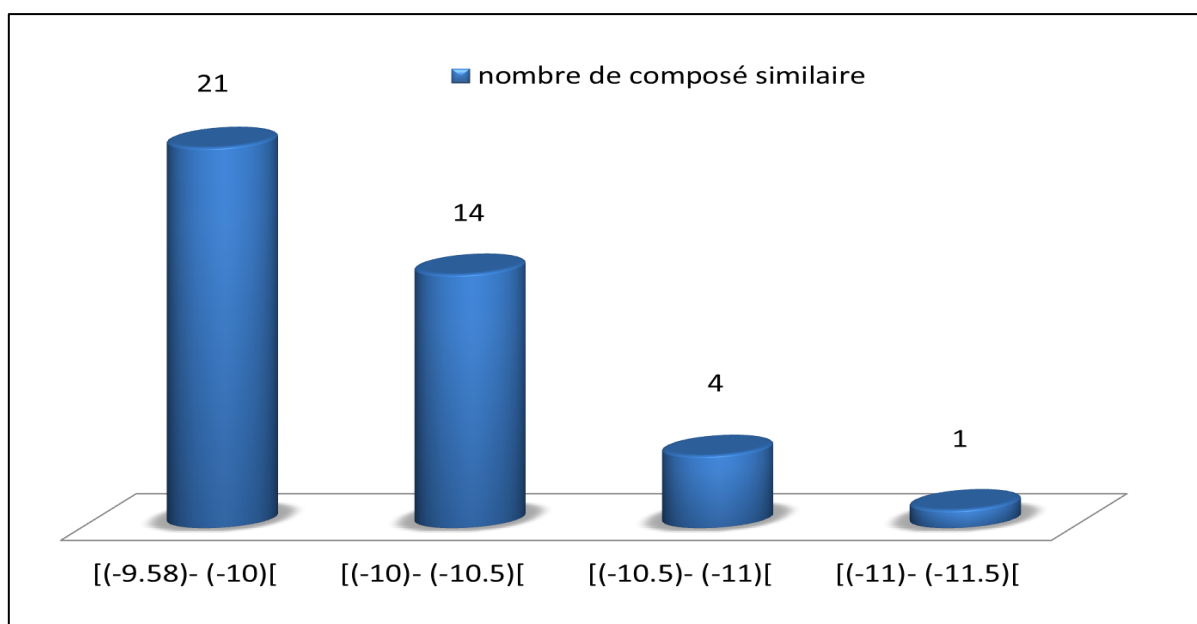


Figure N°44 : Distribution des scores des composés similaires ayant des scores inférieurs à -9.58 Kcal/mole

En tenant compte de la marge d'erreurs de 2 Kcal/mole du programme AutoDock, aucune amélioration significative de l'énergie d'interaction n'a été constatée parmi les 40 composés similaires ayant présenté un score inférieur à celui de l'inhibiteur de départ (voir figure N°44). Il ressort également de ce criblage que le composé **S94** présente le meilleur effet inhibiteur envers l'enzyme avec un score de -11.12 Kcal/mole.

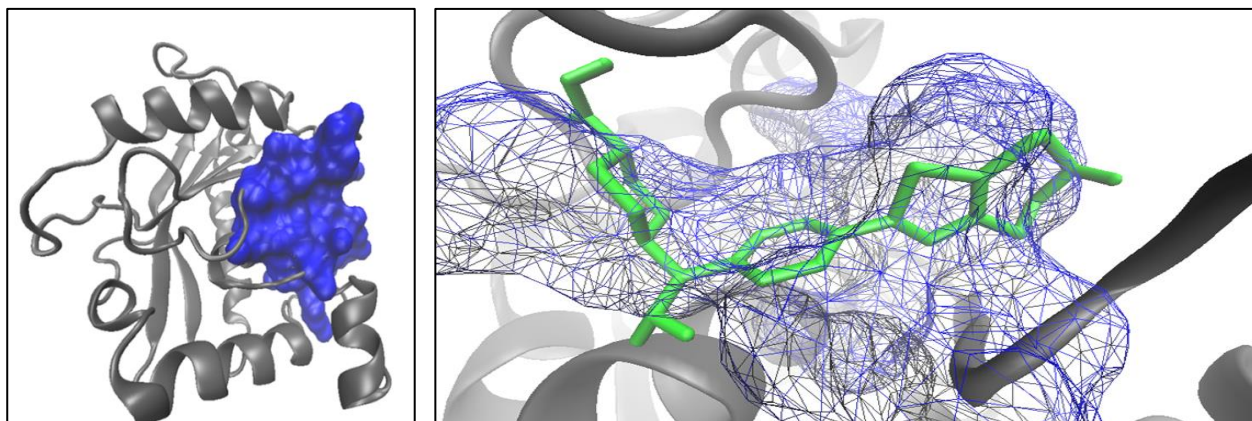


Figure N° 45 : Illustration du positionnement du composé **S94** dans le site actif de L'ADAMTS-5

L'analyse visuelle montre que ce composé est bien positionné au sein du site actif de l'ADAMTS-5 (voir figure N°45) en formant 3 liaisons hydrogènes. La première liaison est formée entre l'azote de l'Azèpane du composé **S94** et le résidu Thr378 avec une distance égale 2.14Å. La deuxième liaison est formée entre l'azote du groupement amine (NH₂) de l'inhibiteur et Thr407 distance égale 1.91Å. La dernière liaison est constatée entre l'oxygène du groupement carboxyle de l'inhibiteur et le résidu Ile442 avec une distance égale à 1.97 Å (voir figure N°46). De même, plusieurs interactions hydrophobiques sont formées entre l'inhibiteur et les résidus Cys371, Leu379, Met381, Ala404, Ala405, Phe406, Val408, Leu438, Met439, Ile442, Leu443 et Ile446 du site actif de l'enzyme.

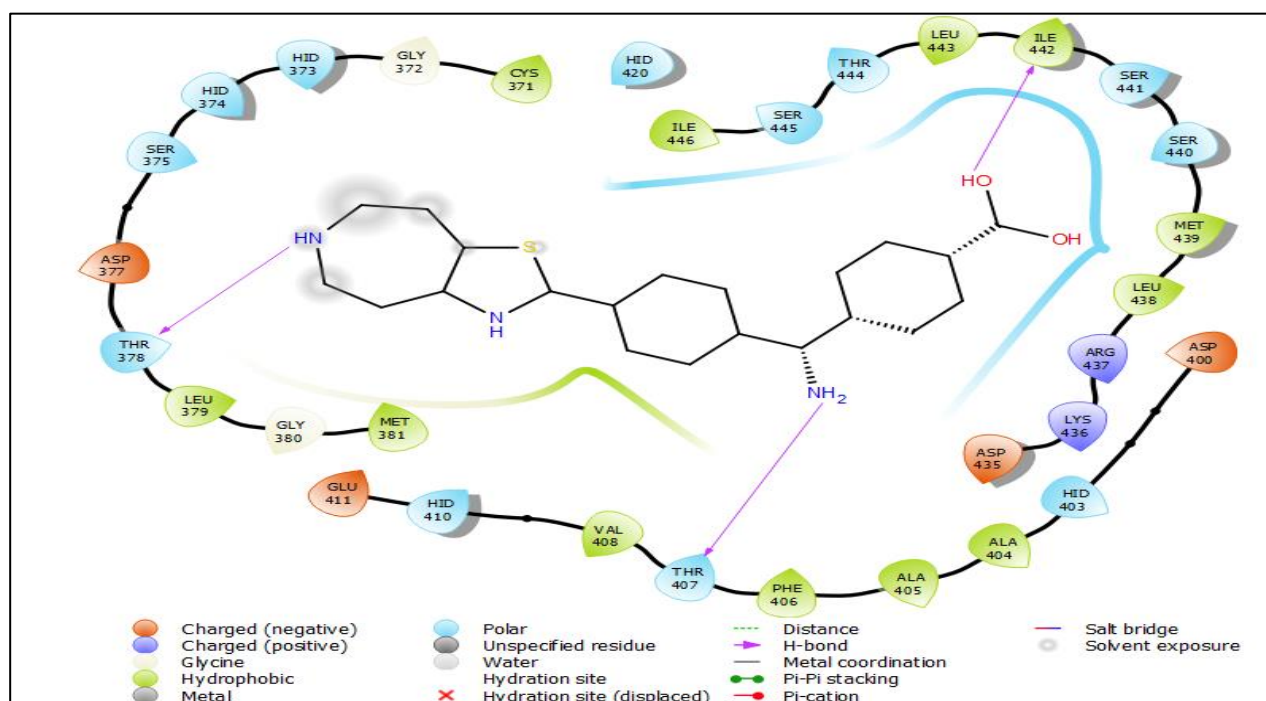


Figure N°46 : diagrammes des interactions ADAMTS-5–composé **S94**.

3.2. Substitution

Dans la perspective de proposer de nouveaux inhibiteurs plus puissants de l'ADAMTS-5, nous avons pris le composé **S94** comme structure de départ auquel nous avons introduit de nouveaux groupements présentant la capacité d'établir des liaisons hydrogène avec le site actif de l'enzyme. Comme illustré dans la figure N°47 ces groupements ont été introduits sur les positions R1, R2 et R3 de la molécule de départ. Le but de ces substitutions consiste soit en la création de nouvelles interactions avec les résidus du site actif soit en l'amélioration des interactions déjà existantes de façon à diminuer leur énergie d'interaction vis-à-vis de la cible.

3.2.1. Mono-substitution

Dans un premier temps, nous avons introduit un seul groupement chimique sur une seule des trois positions illustrées sur la figure N°47. Au total, 45 composés issus de la mono-substitution ont fait l'objet d'une campagne de docking moléculaire à l'égard de l'ADAMTS-5. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N°5.

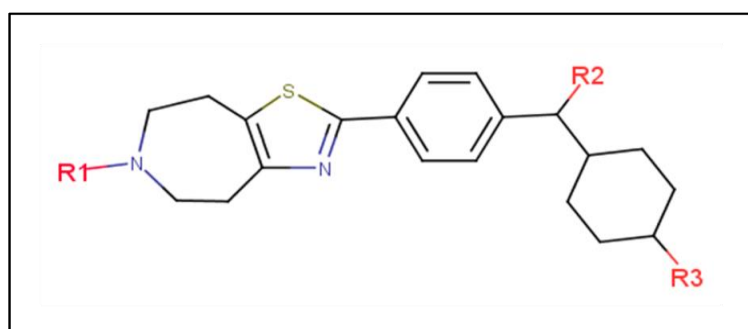


Figure N°47 : structure de base du composé **S94**.

Tableau N°5 : Structure et énergie d'interaction des 45 composés issus de la mono-substitution.

Composé monosubstitué	R1	R2	R3	Score (Kcal/mole)
M1	OH			-11.34
M2		OH		-11.14
M3			OH	-11.95
M4	COOH			-9.18
M5		COOH		-9.88
M6			COOH	-11.13

M7	CH3			-10.47
M8		CH3		-11.76
M9			CH3	-11.43
M10	NH2			-10.29
M11		NH2		-11.96
M12			NH2	-11.90
M13	NO			-10.57
M14		NO		-11.49
M15			NO	-11.91
M16	SH			-10.60
M17		SH		-11.22
M18			SH	-10.96
M19	PH2			-10.93
M20		PH2		-11.71
M21			PH2	-11.62
M22	I			-10.19
M23		I		-10.56
M24			I	-11.42
M25	Cl			-10.03
M26		Cl		-11.16
M27			Cl	-11.18
M28	Benzène			-10.54
M29		Benzène		-10.19
M30			Benzène	-11.25
M31	Cyclopentane			-11.45
M32		Cyclopentane		-10.83
M33			Cyclopentane	-12.27
M34	Pyridine			-10.50
M35		Pyridine		-9.83
M36			Pyridine	-9.28
M37	Pyrimidine			-9.67
M38		Pyrimidine		-10.08

M39			Pyrimidine	-10.31
M40	1,3 thiazole			-10.32
M41		1,3 thiazole		-9.87
M42			1,3 thiazole	-10.23
M43	Imidazole			-10.57
M44		Imidazole		-10.08
M45			Imidazole	-9.80

Il ressort du tableau N°5 que le composé **M33** présente la meilleure valeur de l'énergie d'interaction soit -12.27 Kcal/mole. Ce score résulte de la mise en place d'une seule liaison hydrogène avec le site actif de l'enzyme. Comme le montre la figure N°49 cette liaison est constatée entre l'azote (N) de l'Azèpane du composé **M33** et le résidu Asp377, avec une distance = 2,02 Å. De plus, de nombreuses interactions hydrophobiques participent à la stabilité du complexe ADAMTS-5-**M33**. Ces interactions font intervenir les résidus Cys376, Leu379, Phe406, Val408, Leu438, Met439, Ile442, Leu443 et Ile446 du site actif de l'enzyme.

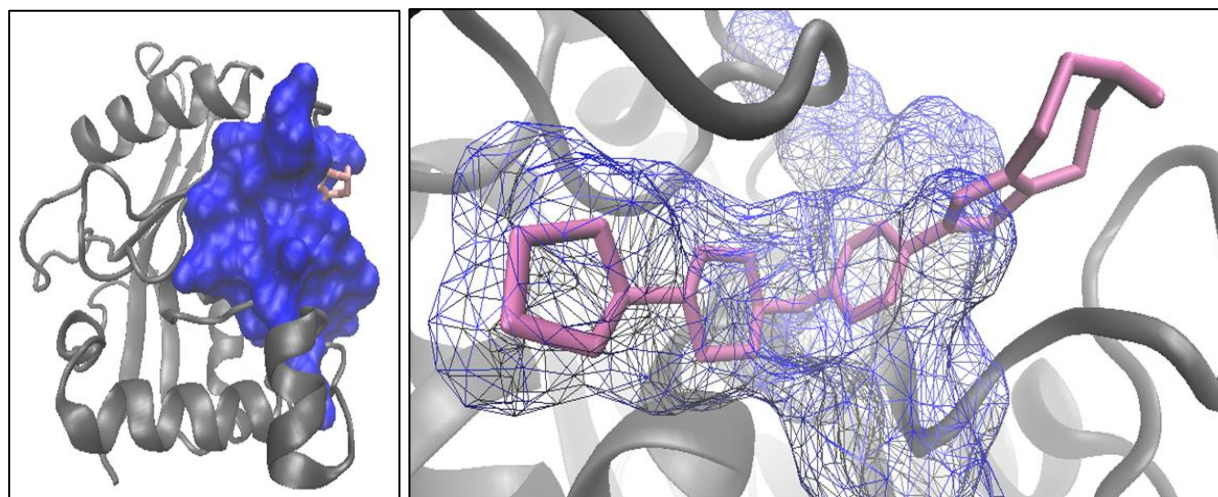


Figure N°48 : Représentation du positionnement du composé **M33** dans le site actif de L'ADAMTS-5.

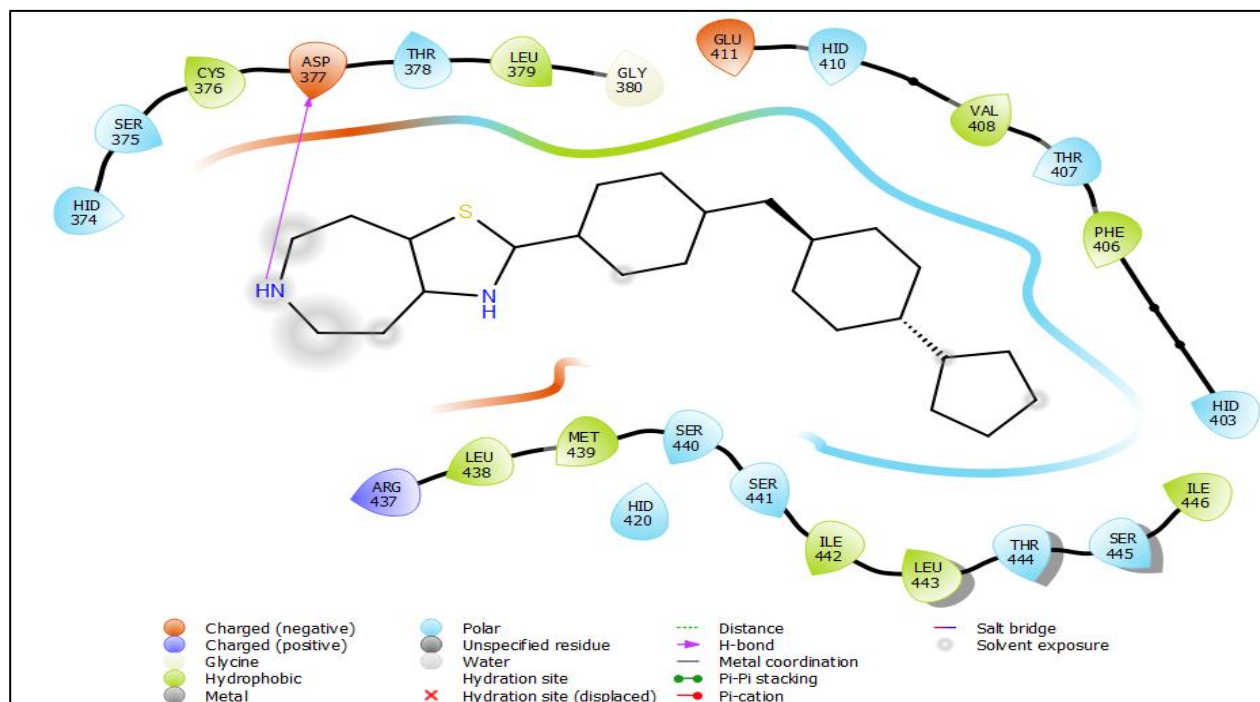


Figure N°49 : diagrammes à deux dimensions (2D) des interactions ADAMTS-5 –composé **M33**.

3.2.2. Bi-substitution

Dans un deuxième temps, nous avons procédé à une bi-substitution en prenant comme structure de départ le composé **M33** issu de la mono-substitution au quel nous avons introduit les mêmes groupements fonctionnels que précédents. Le docking moléculaire des 30 composés issus de la bi-substitution fait ressortir le composé **M53** comme meilleur inhibiteur de l'ADAMTS-5 obtenu dans cette étude avec une énergie d'interaction égale à -13.77 kcal/mole (voir tableau N°6).

Ce score résulte de la mise en place d'une liaison hydrogène lors de la formation de ce complexe. Cette liaison est située entre l'azote (N) de l'Azèpane du composé **M53** et le résidu Asp377 du site actif avec une distance = 1,92 Å. (Voir la figure N°51). Ce complexe est également stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobiques formées entre l'inhibiteur et les résidus Leu379, Met381, Phe406, Leu438, Ile442, Leu443 et Ile446 du site actif de l'enzyme.

Tableau N°6 : Structure et énergie d'interaction des 30 composés issus de la bi-substitution

Composé bi-substitué	R1	R2	Score (kcal/mole)
M46	OH		-11.42
M47		OH	-11.74

M48	COOH		-10.50
M49		COOH	-11.22
M50	CH3		-12.01
M51		CH3	-12.58
M52	NH2		-11.66
M53		NH2	-13.77
M54	NO		-12.13
M55		NO	-12.76
M56	SH		-11.77
M57		SH	-12.54
M58	PH2		-11.67
M59		PH2	-11.90
M60	I		-12.16
M61		I	-11.22
M62	Cl		-11.94
M63		Cl	-11.44
M64	Benzène		-11.75
M65		Benzène	-10.30
M66	Cyclopentane		-11.78
M67		Cyclopentane	-12.07
M68	Pyridine		-11.16
M69		Pyridine	-11.44
M70	Pyrimidine		-10.25
M71		Pyrimidine	-10.75
M72	1,3 thiazole		-10.83
M73		1,3 thiazole	-10.84

M74	Imidazole	-11.40
M75	Imidazole	-11.62

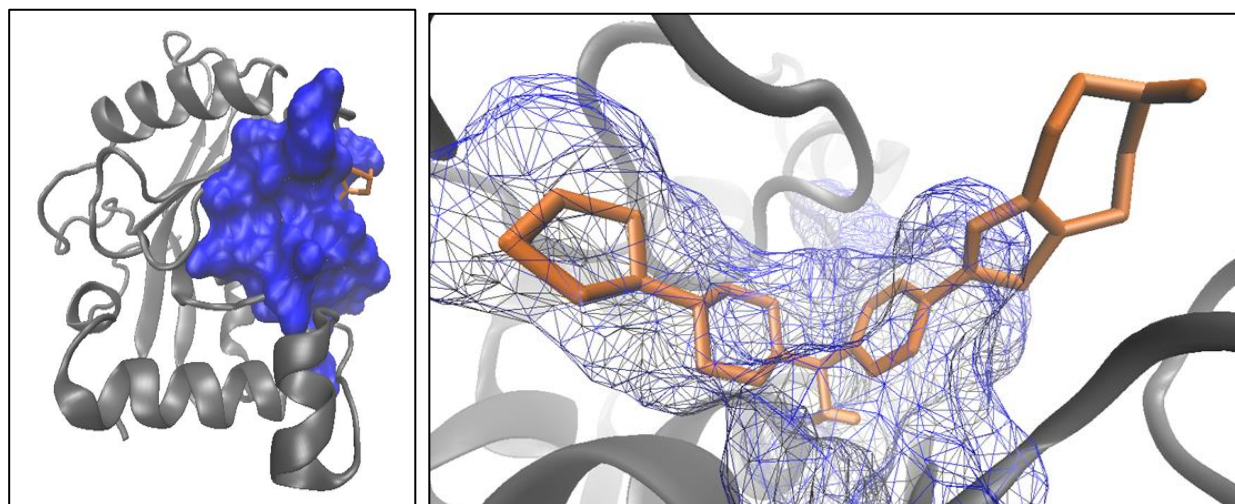


Figure N°50 : Représentation du positionnement du composé **M53** dans le site actif de L'ADAMTS-5.

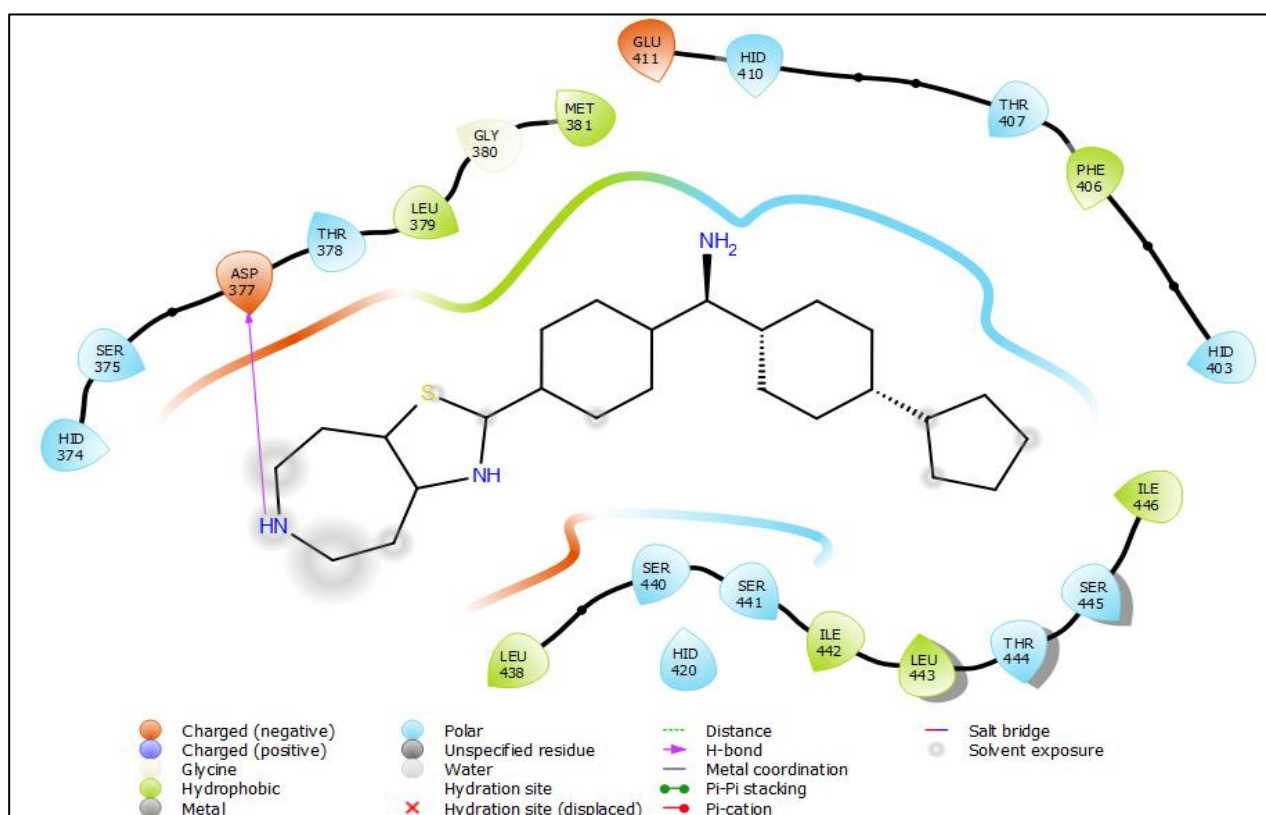


Figure N°51 : diagrammes à 2D des interactions ligand-protéine ADAMTS-5 – composé **M53**.

4. L'évaluation des propriétés ADMET

Plusieurs études soutiennent le fait qu'un bon candidat médicament doit posséder, en plus d'une activité élevée envers la cible, des propriétés ADMET compatibles avec une application biologique. Dans ce contexte, il était indispensable de conforter notre étude par évaluation de certaines propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques régissant les critères ADMET des meilleurs composés issus de la mono-substitution (**M33**) et de la bi-substitution (**M53**). Leurs propriétés ont été comparées envers celles du paracétamol. Rappelons qu'il n'existe aucun traitement curatif mis sur le marché pour traiter l'arthrose. Ce médicament, étant le plus prescrit dans le monde, permet de gérer les douleurs et d'améliorer la fonction articulaire au cours de l'arthrose.

4.1. Propriétés physico-chimiques

Le Tableau N°7 montre que les composés **M53** et **M33** répondent aux règles de Lipinski et de Veber, ce qui indique que ces composés peuvent être administrés par voie orale sans poser de problèmes. Cependant, nous avons noté une faible solubilité de ces composés dans l'eau ainsi qu'un LogP élevée. Ceci démontre le caractère hydrophobe de nos composés rendant leur solubilité dans les milieux aqueux difficile. Ce problème peut être résolu lors de l'optimisation de ces composés. Par ailleurs, l'une des questions les plus importantes à répondre lors de l'optimisation concerne l'accessibilité synthétique de ces composés. Ce critère a été évalué par un chiffre allant de 1 à 10. La difficulté de synthèse d'un composé est augmentée avec l'augmentation de sa valeur. Les résultats obtenus dans ce contexte montrent que la synthèse chimique des composés **M33** et **M53** semble être réalisable avec des valeurs inférieures à 5.

Tableau N°7 : Le profil ADME relative des composés candidats obtenus à partir de serveur swissADME.

Propriétés	Paracétamol	S53	S33
SCORE	\	-13.77	-12.27
Formule	C ₈ H ₉ NO ₂	C ₂₅ H ₃₅ N ₃ S	C ₂₅ H ₃₄ N ₂ S
PM (g/mol)	151.16 g/mol	409.63 g/mol	394.62 g/mol
n.LF	2	4	4
n.ON	2	3	2

n.OH/NH	2	2	1
Log P	0.93	5.01	6.00
TPSA Å²	49.33 Å ²	79.18 Å ²	53.16 Å ²
Règle de Lipinski	Parfaitement conforme	Conforme	Conforme
Règle de Veber	Oui	Oui	Oui
Solubilité dans l'eau	Soluble	Peu soluble	Peu soluble
Accessibilité à la synthèse	1.00	4.93	4.73

PM = Poids Moléculaire. **n.ON** = nombre d'Accepteur d'Hydrogène. **n.OH/NH** = nombre de donneur d'Hydrogène. **n.LF** = nombre de Liaison Flexible. **LogP** = coefficient de partage Eau/octanol. **TPSA** = La surface polaire topologique.

4.2. Propriétés pharmacocinétiques

Un bon candidat médicament doit être rapidement et complètement absorbé par voie gastro-intestinale, distribué spécifiquement vers son site d'action dans le corps, métabolisé d'une manière à ne pas altérer les fonctions de l'organisme, et éliminé de manière appropriée sans causer des dommages [87]. Dans notre travail, nous avons prédit plusieurs propriétés pharmacocinétiques des composés **M33** et **M53** à l'aide du serveur SwissADME.

Il ressort du tableau N°8 que ces deux composés ont présenté une forte l'Absorption gastro-intestinale ce qui rend possible leur accès au sang. Cependant, ils présentent une faible capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique. Ce critère est beaucoup plus important pour les composés dont la cible se trouve dans le SNC, ce qui n'est pas le cas ici. De plus, ceci peut protéger le cerveau d'un effet néfaste probable de ces composés. Les résultats montrent également que le composé **M53** ainsi que le paracétamol n'ont aucun effet inhibiteur sur les différents iso-formes de Cytochrome P450. L'inhibition de ces enzymes est une source importante d'interactions médicamenteuses indésirables étant donné que les changements dans l'activité enzymatique CYP peuvent affecter le métabolisme des médicaments. Cependant, un potentiel effet inhibiteur du CYP2D6 a été constaté dans le cas du composé **M33**.

Tableau N°8 : Le profil ADME relative des composés candidats obtenus à partir de serveur swissADME.

Propriétés	Paracétamol	53	33
GI absorption	Élevée	Élevée	Élevée
BBB perméabilité	Oui	Non	Oui
CYP1A2 inhibition	Non	Non	Non
CYP2C19 inhibition	Non	Non	Non
CYP2C9 inhibition	Non	Non	Non
CYP2D6 inhibition	Non	Non	Oui
CYP3A4 inhibition	Non	Non	Non

4.3. Toxicité

À l'aide du serveur PreADMET, nous avons simulé la toxicité potentielle des composés **M33** et **M53**. Le paracétamol a été utilisé comme molécule de référence. Comme le montre le tableau N°9, les composés **M33** et **M53** ont été prédit d'avoir un effet mutagène ainsi qu'un pouvoir cancérigène envers les rats. Nous avons également noté un risque moyen d'inhibition du gène hERG par ces molécules. Rappelons que l'inhibition de ce gène cause des problèmes cardiaques plus au moins graves. Cependant, les résultats obtenus des tests de toxicité aigüe sur les différentes espèces aquatiques étaient prometteurs. En effet, les valeurs obtenues étaient nettement inférieures à ceux observés dans le cas du paracétamol. Rappelons que ces tests permettent d'évaluer le degré auquel une molécule peut nuire à un organisme.

Tableau N°9 : le profil de toxicité relative des composés candidats obtenus à partir de serveur PreADMET.

Paramètre	Paracétamol	53	33
Test d'Ames	Mutagène	Mutagène	Mutagène
Cancérogénicité pour les souris	Négative	Négative	Négative

Cancérogénicité pour les rats	Positive	Positive	Positive
hERG inhibition	Risque faible	Risque moyen	Risque moyen
Algae-at	0.148916	0.00431138	0.00239139
Daphnia-at	1.18181	0.00905002	0.00387907
Medaka-at	1.56657	0.000191898	3.53843 e-005
Minnow-at	0.723244	0.000447373	5.69373 e-005

En bref, les composés **M33** et **M53**, avec un bon profil ADME et un pouvoir inhibiteur potentiellement élevé envers la cible, peuvent être proposés comme nouveaux inhibiteurs de l'ADAMTS-5. Les informations que nous avons fournies quant à leur toxicité potentielle seront très utiles lors de leur optimisation pour devenir des candidats-médicaments.



CONCLUSION ET PERSPECTIVE



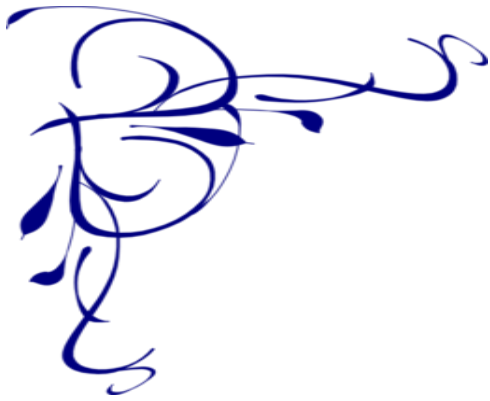
L'objectif primordial de notre travail de master était de proposer de nouveaux inhibiteurs de l'ADAMTS-5 par docking moléculaire avec AutoDock. Dans ce but, nous avons tenté, au préalable, de tester la fiabilité de ce programme au moyen de trois tests. Le premier test consiste à calculer le RMSD permettant d'évaluer la déviation de la pose du ligand simulée par AutoDock avec celle déterminée expérimentalement. Sur les 100 complexes pris arbitrairement de la PDB, 81% ont présenté de faibles valeurs de RMSD parfaitement dans les normes (inférieur à 2 Å). L'analyse visuelle faisant suite à ce test nous a permis d'avoir une meilleure appréciation des valeurs numériques de RMSD. Le dernier test consiste à évaluer le degré de corrélation existant entre les énergies d'interaction (ΔG) des inhibiteurs simulés avec AutoDock et les valeurs expérimentales de leurs IC_{50} . Avec un coefficient de corrélation égal à 0.74 et des valeurs de RMSD inférieures à 2 Å, le programme AutoDock est suffisamment fiable pour étudier *in silico* l'inhibition de l'ADAMTS-5.

Le docking moléculaire d'une collection de 45 inhibiteurs de l'ADAMTS-5 issus de la littérature fait ressortir le composé **39** comme meilleur inhibiteur avec de très faibles valeurs de son IC_{50} (0.43 μ M) et son énergie d'interaction (-9.58 kcal/mole). En prenant ce composé comme structure de départ, la PubChem nous a proposé 322 composés similaires avec un taux de similarité allant jusqu'à 83%. Le docking moléculaire de ces composés similaires révèle le composé **S94** comme meilleur inhibiteur de l'ADAMTS-5 avec une énergie d'interaction égale à -11.12 kcal/mole.

Afin d'améliorer davantage son énergie d'interaction, nous avons effectué des modifications structurales sur la structure de base du composé **S94**. Le docking moléculaire des 75 composés résultants envers le site actif de l'enzyme fait ressortir les composés **M33** et **M53** comme nouveaux inhibiteurs potentiellement puissants envers l'ADAMTS-5 avec des énergies d'interactions égales à -12.27 Kcal/mole, -13.77 Kcal/mole respectivement.

Enfin, l'étude *in silico* portant sur l'évaluation des différentes propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques a montré que les composés **M33** et **M53** possèdent un bon profil ADME.

Les résultats obtenus au cours de ce travail ne sont que préliminaires. Il conviendrait dans les perspectives d'avenir d'approfondir notre recherche en testant expérimentalement l'activité anti-ADAMTS-5.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- [1] Empereur-Mot C. Développement d'outils statistiques d'évaluation de méthodes de criblage virtuel : courbes de prédictivité & Screening Explorer. Thèse de doctorat d'université : Bioinformatique. Paris : Conservatoire National Des Arts et Métiers. France. 2017. 206p.
- [2] Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase – Substances Antibactériennes à l'aide de techniques de ‘‘docking’’ (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine. Algérie. 2007. 90p.
- [3] 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. 187p.
- [4] Roux C. Arthrose des membres inférieurs: aspects épidémiologiques, cliniques et fondamentaux. Thèse de doctorat d'Université : Interactions moléculaires et cellulaires. Nice : Université de Nice Sophia Antipolis. France. 2014. 108p.
- [5] Pengfei C., Shouan Z., Yanyan W., Qin M., Yan W., Qingqing Xia., *et al.* The amelioration of cartilage degeneration by ADAMTS-5 inhibitor delivered in a hyaluronic acid hydrogel. *Journal of Biomaterials*. 2014; **35**: 2827–2836.
- [6] Actualité scientifique : Le point sur l'arthrose en 6 questions [En ligne] <https://www.citrage.com/nutritiondesseniors/wp-content/uploads/2017/acru%20arthrose.pdf>. Consulté le : [07-03-2019].
- [7] Elissar E. H., Chauvet C., Rannou F. Cartilage articulaire, stress mécanique et arthrose. *Actualités en Médecine Physique et de Réadaptation*. 2013; **5**: 12–16.
- [8] Arthrose : définition - docteurclic.com [En ligne] <https://www.docteurclic.com/encyclopedie/arthrose-sf.aspx>. Consulté le : [07-03-2019].
- [9] Définition | Articulation | Futura Santé [En ligne] <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/corps-humain-articulation-3022/> Consulté le : [07-03-2019].
- [10] Articulations attention fragile ! - Laboratoire Nutergia [En ligne] <https://www.nutergia.com/fr/nutergia-votre-expert-conseil/dossiers-bien-etre/articulations.php>. Consulté le : [09-03-2019].

- [11] De Jaeger C., Cherin P. L'arthrose : une nouvelle maladie inflammatoire ? Actualités fondamentales et thérapeutiques. *Journal of Elsevier Masson*. 2011; **3**: 116–136.
- [12] Arthrose : symptômes, traitements, facteurs de risque, remèdes ... [En ligne] <https://www.topsante.com/medecine/rhumatismes/arthrose>. Consulté le : [10-03-2019].
- [13] Protéger des articulations | A.Vogel [En ligne] <https://www.avogel.ch/fr/votre-sante/articulations/Protoger-articulations.php>. Consulté le : [10-03-2019].
- [14] Traitement de l'arthrose - Comment soigner l'arthrose ? - Doctissimo [En ligne] http://www.doctissimo.fr/html/sante/principalespatho/sa_93_arthrose_fatal.htm. Consulté le : [13-03-2019].
- [15] Arthrose - Qu'est-ce que l'arthrose ? Comment la traiter ? - Doctissimo [En ligne] <http://www.doctissimo.fr/html/dossiers/arthrose.htm>. Consulté le : [13-03-2019].
- [16] De Ghey M. Rôle du pharmacien d'officine dans la prise en charge de l'arthrose. Thèse de doctorat d'Université : Droit et santé. Lille : Université de Lille 2. France. 2017. 63p.
- [17] Auger J., Berenbaum F. Le grand livre de l'arthrose. *Edition Eyrolles*. 201; **1**: 1-10
- [18] Maladies rhumatismales : l'arthrose, la pathologie la plus fréquente [En ligne] <https://www.djazairress.com/fr/elwatan/431327>. Consulté le : [14-03-2019].
- [19] 14ème congrès algérien antirhumatismal : Six millions d'Algériens touchés par l'arthrose [En ligne] <http://www.elmoudjahid.com/fr/actualites/60673>. Consulté le : [08-04-2019].
- [20] Une découverte pour bloquer l'arthrose - L'Expression [En ligne] <http://www.lexpressiondz.com/index.php/chroniques/l-envers-du-decor/une-decouverte-pour-bloquer-larthrose-301672>. Consulté le : [08-04-2019]
- [21] L'arthrose - Fondation arthrose - La Fondation Arthrose [En ligne] <http://www.fondationarthrose.org/L-arthrose.aspx>. Consulté le : [23-03-2019].
- [22] Epidemiology of Osteoarthritis - NCBI [En ligne] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2920533/>. Consulté le : [25-03-2019].
- [23] Delarue Y. Facteurs de risques de l'arthrose. *Douleurs : Evaluation - Diagnostic - Traitement*. 2005; **6**: 1 : 4–8.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [24] Arthrose (Ostéoarthrite) - Traitements médicaux - Passeport Santé [En ligne] <https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=arthrose-pm-traitements-medicaux-de-l-arthrose>. Consulté le : [25-03-2019].
- [25] Paracétamol - EurekaSanté par VIDAL [En ligne] <https://eurekasante.vidal.fr/medicaments/bon-usage/paracetamol-aspirine-ains.html?pb=paracetamol>. Consulté le : [09-04-2019].
- [26] Définition | Paracétamol - Acétaminophène | Futura Santé [En ligne] <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-paracetamol-3747/>. Consulté le : [09-04-2019].
- [27] E. Liechti M. Pharmacologie des analgésiques pour la pratique – première partie : paracétamol, AINS et métamizole. Forum Med Suisse. 2014; **14**: 437–440.
- [28] Acetaminophen | C₈H₉NO₂ - PubChem - NIH [En ligne] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/acetaminophen>. Consulté le : [09-04-2019].
- [29] Ibuprofen | C₁₃H₁₈O₂ - PubChem - NIH [En ligne] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ibuprofen>. Consulté le : [09-04-2019].
- [30] Ketoprofen | C₁₆H₁₄O₃ - PubChem - NIH [En ligne] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ketoprofen>. Consulté le : [09-04-2019].
- [31] Diclofenac | C₁₄H₁₁Cl₂NO₂ - PubChem - NIH [En ligne] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/diclofenac>. Consulté le : [09-04-2019].
- [32] *Corticoides : Les points essentiels [En ligne] <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/corticoides-les-points-essentiels>. Consulté le : [09-04-2019].
- [33] Ayral X. Les traitements intra-articulaires de la gonarthrose. *Revue du Rhumatisme*. 2000; **67**: 180–5.
- [34] Chapelle C. Les injections intra-articulaires. *Revue Médicale de Bruxelles*. 2015; **36**: 281-7.
- [35] sulfate de chondroïtine, glucosamine, acide hyaluronique [En ligne] <https://www.revmed.ch/RMS/2012/RMS-332/Place-des-antiarthrosiques-symptomatiques-d-action-lente-dans-l-arthrose-sulfate-de-chondroïtine-glucosamine-acide-hyaluronique>. Consulté le : [09-04-2019].

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [36] D-Glucosamine | C₆H₁₃NO₅ - PubChem - NIH [En ligne] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/D-glucosamine>. Consulté le : [09-04-2019].
- [37] Chondroïtin sulfate | C₁₃H₂₁NO₁₅S - PubChem - NIH [En ligne] https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chondroïtin_sulfate. Consulté le [09-04-2019].
- [38] Servier obtient la licence de GLPG1972 dans l'arthrose auprès de Galapagos [En ligne] https://servier.com/wp-content/uploads/2017/07/CP_Servier_Galapagos.pdf. Consulté le : [24-03-2019].
- [39] Forum : Galapagos » GLPG1972 | Participaties.nl [En ligne] <https://www.google.com/search?tbm=isch&q=GLPG1972&spell=1&sa=X&ved=0ahUKEwjQmquN2bbhAhUKmRoKHdzpBvoQBQg6KAA&biw=1172&bih=529&dpr=1#imgrc=IUbXudjAgBavKM:>. Consulté le : [24-03-2019].
- [40] Malfait A. M., C.Arner E., Song R. H., T. Alston J., Markosyan S., Staten N., *et al.* Proprotein convertase activation of aggrecanases in cartilage in situ. *Journal of Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2008; **478**: 43–51.
- [41] Shiraishi A., Mochizuki S., Miyakoshi A., Kojoh K., Okada Y. Development of human neutralizing antibody to ADAMTS4 (aggrecanase-1) and ADAMTS5 (aggrecanase-2). *Journal of Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2016; **469**: 62–69.
- [42] The ADAMTS (A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin motifs) family [En ligne] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4448532/>. Consulté le : [28-03-2019].
- [43] Bondeson J., Wainwright S., Caterson B., Hughes C. Adamts5. *Handbook of Proteolytic Enzymes*. 2013; **3**: 1174–1180.
- [44] Shieh H. S., Mathis. K. J., Williams J. M., Hills R. L., Wiese J. F., Benson T., *et al.* High resolution crystal structure of the catalytic domain of ADAMTS-5 (aggrecanase-2). *journal of biological chemistry*. 2007; **283**(3): 1501–7.
- [45] Kumar S., Rao N., Ge R. Emerging roles of ADAMTSS in angiogenesis and cancer. *Journal of Cancers (Basel)*. 2012; **4**(4): 1252–1299.
- [46] McCulloch D. R., Wylie J. D., Longpre J. M., Leduc R., Apte S. S. 10 mM glucosamine prevents activation of proADAMTS5 (aggrecanase-2) in transfected cells by interference with post-translational modification of furin. *Journal of Osteoarthritis and Cartilage*. 2010; **18**(3): 455–463.

- [47] Malfait A. M., Ritchie J., Gil A. S., Austin J. S., Hartke J., Qin W., *et al.* ADAMTS-5 deficient mice do not develop mechanical allodynia associated with osteoarthritis following medial meniscal destabilization. *Journal of Osteoarthritis and Cartilage*. 2010; **18**(4): 572–580.
- [48] Miwa H. E., Gerken T. Z., Huynh T. D., Duesler L. R., Cotter M., Hering T. M. Conserved sequence in the aggrecan interglobular domain modulates cleavage by ADAMTS-4 and ADAMTS-5. *Journal of Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. 2009; **1790**(3): 161–72.
- [49] Fosang A. J., Rogerson F. M., East C. J., Stanton H. ADAMTS-5: The story so far. *Journal of European Cells & Materials*. 2008; **15**: 11–26.
- [50] Mead T. J., Apte S. S. ADAMTS proteins in human disorders. *Journal of Matrix Biology*. 2018; **71–72**: 225–239
- [51] Sugimoto K., Liwaza T., Harada H., Yamada K., Katsumata M., Takahashi M. Cartilage degradation independent of MMP/aggrecanases. *Journal of Osteoarthritis and Cartilage*. 2004; **12**: 1006-1014
- [52] Verma P., Dalal K. ADAMTS-4 and ADAMTS-5: Key enzymes in osteoarthritis. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2011; **112**(12): 3507–3514.
- [53] Durham T. B., Klimkowski V. J., Rito C. J., Marimuthu J., Toth J. L., Liu C., *et al.* Identification of Potent and Selective Hydantoin Inhibitors of Aggrecanase-1 and Aggrecanase-2 That Are Efficacious in Both Chemical and Surgical Models of Osteoarthritis. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2014; **57**(24): 10476-10485
- [54] Sogame S., Suenaga Y., Atobe M., Kawanishi M., Tanaka E., Miyoshi S. Discovery of a benzimidazole series of ADAMTS-5 (aggrecanase-2) inhibitors by scaffold hopping., *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014; **71**: 250–258.
- [55] Bursavich M. G., Gilbert A. M., Lombardi S., Georgiadis K. E., Reifenberg E., Flannery C. R., *et al.* 5'-Phenyl-3'H-spiro[indoline-3,2'-[1,3,4] thiadiazol]-2-one inhibitors of ADAMTS-5 (Aggrecanase-2). *Journal of Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2007; **17**(20): 5630–5633.
- [56] Bursavich M. G., Gilbert A. M., Lombardi S., Georgiadis K. E., Reifenberg E., Flannery C. R., *et al.* Synthesis and evaluation of aryl thioxothiazolidinone inhibitors of ADAMTS-5 (Aggrecanase-2). *Journal of Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*., 2007; **17**(5): 1185–1188.

- [57] Atobe M., Markawara N., Ishiguro N., Sogame S., Suenaga Y., Kawanishi M., *et al.* A series of thiazole derivatives bearing thiazolidin-4-one as non-competitive ADAMTS-5 (aggrecanase-2) inhibitors. *Journal of Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2013; **23**(7): 2106–2110.
- [58] Gilbert A. M., Bursavich M. G., Lombardi S., Georgiadis K. E., Reifenberg E., Flannery C. R., *et al.* N-((8-Hydroxy-5-substituted-quinolin-7-yl)(phenyl)methyl)-2-phenyloxy/aminoacetamide inhibitors of ADAMTS-5 (Aggrecanase-2). *Journal of Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2008; **18**(24): 6454–6457.
- [59] Boucherit H., Chikhi A., Bensegueni A., Merzoug A., Hioual K. S., Mokrani EL. H. L'amarrage moléculaire : une nouvelle approche pour lutter contre le développement de la tuberculose. *Microbiologie Industrielle Santé et Environnement*. 2013 ; **7**(2) : 133–149.
- [60] Mokrani EL. H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Mémoire du magister d'Université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2012. 75p.
- [61] Boucherit H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de Mycobacterium Tuberculosis par diverses molécules. Mémoire du magister d'Université : Technologies des explorations biochimiques. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2012. 70p.
- [62] DockThor [En ligne] <https://dockthor.lncc.br/v2/>. Consulté le : [22-04-2019].
- [63] Hoffer L. Développement et validation du logiciel S4MPLE : application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du fragment-based drug design. Thèse de doctorat d'Université : Chimie / Chémoinformatique. Strasbourg : Université de Strasbourg. France, 2013. 164p.
- [64] Benhamoud A., Boufrah M. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs De la Bêta-Lactamase de classe C par Docking Moléculaire. Mémoire de master d'Université : Biochimie Moléculaire et Santé. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2017. 64p.
- [65] RCSB PDB : Homepage [En ligne] <http://www.rcsb.org/>.

- [66] Zouaghi K., Hamdi A. Contribution à la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de l'ECA par criblage virtuel. Mémoire de Master d'Université : Biochimie Moléculaire et Santé. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2016. 29p.
- [67] Chimiotheque-nationale.enscm.fr [En ligne] <http://chimiotheque-nationale.enscm.fr>
- [68] PubChem [En ligne] <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- [69] Welcome to ZINC, a free database of commercially-available compounds for virtual screening [En ligne] <http://zinc.docking.org>.
- [70] Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat d'université : Pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier-Grenoble. France. 2007. 90p.
- [71] Lagarde N. Méthodes 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 : Conservatoire National Des Arts et Métiers. France. 2015. 316p.
- [72] Criblage virtuel par docking moléculaire [En ligne] <http://bioinfo-pharma.u-strasbg.fr/labwebsite/publications/paper99.pdf>. Consulté le : [29-04-2019].
- [73] Humphrey W., Dalke A., Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics*. 1996; **14**(1): 33-38.
- [74] Maestro | Schrödinger [En ligne] <https://www.schrodinger.com/maestro>.
- [75] Open Babel: Main Page [En ligne] <http://openbabel.org/api/2.0.2/>.
- [76] SwissADME [En ligne] <http://www.swissadme.ch/>.
- [77] PreADMET | Prediction of ADME/Tox – Just another BMDRC Sites site [En ligne] <https://preadmet.bmdrc.kr/>.
- [78] 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.
- [79] Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development setting. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997; **23**: 3-25.

- [80] Veber D. F., Johnson S. R., Cheng H. Y., Smith B. R., Ward K. W., Kopple K. D. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of medicinal chemistry*. 2002; **45**: 2615-2623.
- [81] Water Solubility - ChemSafetyPro.COM [En ligne] https://www.chemsafetypro.com/Topics/CRA/Water_Solubility.html. Consulté le [29/05/2019].
- [82] Predicting Synthetic Accessibility | Depth-First [En ligne] <https://depth-first.com/articles/2010/10/28/predicting-synthetic-accessibility/>. Consulté le : [31/05/2019].
- [83] Le métabolisme d'un médicament [En ligne] http://udsmed.u-strasbg.fr/pharmaco/pdf/DCEM1_Pharmacologie_chapitre_5_Metabolisme_des_medic.pdf. Consulté le : [09-06-2019].
- [84] Déroulement d'un test d'Ames. Copyright © 2006 Pearson Education ... [En ligne] https://www.researchgate.net/figure/Deroulement-dun-test-dAmes-Copyright-C-2006-Pearson-Education-Inc_fig3_285061897. Consulté le [02-06-2019].
- [85] Chikhi A., Bensegueni A. Docking Efficiency Comparison of Surflex, a Commercial Package and Arguslab, a Licensable Freewar. *Journal of Computer Science and Systems Biology*. 2008; **1**: 081-086.
- [86] Bensegueni A. Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxycgénase et la cyclooxygénase. Thèse de doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2007. 76p.
- [87] Stryer L., Berg J. M., Tymoczko J. L. Le développement des médicaments. *Médecine Sciences. Biochimie* (7ème éd). 2013; **36**: 1029–1054.



ANNEXES



➤ **Annexe 1** : Tableau RMSD de 100 complexes Protéine – ligand

Composé	Code PDB	Code des Ligands	RMSD (Å)
1	1BNQ	AL4	1.77
2	1BNU	AL3	1.42
3	1DY9	2ZF	2.69
4	1FS4	CRA	2.26
5	1G32	R11	2.18
6	1H3A	R04	2.54
7	1H3C	R79	0.77
8	1H35	R01	1.16
9	1H36	R88	1.42
10	1H37	R02	1.74
11	1H39	R03	1.46
12	1HDC	CBO	1.71
13	1IL4	9DG	1.78
14	1IL9	MOG	0.18
15	1K1I	FD1	1.12
16	1K1J	FD2	0.99
17	1K22	MEL	0.86
18	1KTS	C24	1.37
19	1NMS	161	0.83
20	1O6Q	R17	1.37
21	1O6R	R19	1.63
22	1O79	R23	1.20
23	1QPL	587	1.86
24	1YDT	IQB	0.91
25	1ZXC	IH6	1.18
26	2B8I	5HA	1.45
27	2BPZ	3IN	2.69
28	2C8W	C7M	2.64

29	2FDU	D1G	0.87
30	2FDW	D3G	1.01
31	2FSW	D3G	1.01
32	2GYI	HYA	1.61
33	2H5A	X1P	0.69
34	2HIW	7MP	0.67
35	2I6B	89I	0.90
36	2IS0	I03	1.07
37	2OAH	QIN	0.95
38	2P83	MR0	2.71
39	2RJP	886	1.09
40	2RJQ	BAT	3.71
41	2VAQ	VAW	1.18
42	2XJ1	XJ1	0.80
43	2ZGX	29U	0.63
44	3ANS	S38	0.84
45	3ANT	S82	0.98
46	3B8Z	294	0.65
47	3CTT	3CU	0.69
48	3DUX	64U	0.83
49	3EXO	5MS	2.72
50	3F8Z	DH1	1.44
51	3F68	91U	0.60
52	3F91	DH1	2.08
53	3FS6	DH1	1.06
54	3FTS	STL	1.15
55	3FTU	RE2	1.86
56	3GC4	AAQ	0.72
57	3HY7	097	0.95
58	3HY9	098	1.26
59	3HYG	099	1.17
60	3I1Y	33N	0.86

61	3I28	34N	0.59
62	3K5F	AYH	1.10
63	3K54	1N1	3.13
64	3KOO	24D	1.00
65	3LJT	LA3	1.51
66	3NS7	3NS	1.70
67	3OF8	I0Y	1.99
68	3P7B	P7B	0.75
69	3PDC	ZYI	0.87
70	3RZ3	U94	1.96
71	3S1G	ITE	3.23
72	3TPP	5HA	0.87
73	3TPR	5HA	1.18
74	3VEU	0GO	1.54
75	3WI2	P98	1.10
76	3WS8	X4C	0.62
77	4A6L	P43	0.83
78	4BQG	50Q	3.62
79	4BXK	1IU	5.04
80	4CQ0	SXS	1.95
81	4DA5	0H7	0.91
82	4 E73	0NR	1.38
83	4EY7	E20	1.35
84	4GID	0GH	2.74
85	4GL7	1N1	0.65
86	4GS6	1FM	1.07
87	4JP9	1M5	0.52
88	4JPC	1M6	3.13
89	4JPE	1M7	0.99
90	4K9H	1QU	1.63
91	4LC7	1WP	4.99
92	4O1L	HO4	0.38

93	4OGN	2U5	1.56
94	4OGT	2U6	1.21
95	4ZZ2	3YG	1.14
96	4ZZI	1NS	0.98
97	5C28	4XV	3.04
98	5CLM	52K	0.80
99	5ER2	0EK	3.49
100	7TLN	INC	1.57

➤ **Annexe 2** : Numéros d'accession et scores des 322 similaires.

Composé similaire	CID	Score (Kcal/mole)
S1	CID_184415	-7.95
S2	CID_2811049	-8.02
S3	CID_3546738	-8.87
S4	CID_4033797	-8.03
S5	CID_4352459	-7.35
S6	CID_6450639	-8.19
S7	CID_9464993	-8.05
S8	CID_10127980	-9.61
S9	CID_10151803	-9.55
S10	CID_10173730	-9.10
S11	CID_10217423	-10.05
S12	CID_10239240	-9.63
S13	CID_10289058	-8.74
S14	CID_10310515	-8.92
S15	CID_11617842	-9.33
S16	CID_11617843	-9.37
S17	CID_11696300	-9.46
S18	CID_14051457	-8.63
S19	CID_14456670	-10.28
S20	CID_15136093	-10.06
S21	CID_15136094	-10.17
S22	CID_15163907	-8.55
S23	CID_15163911	-10.45
S24	CID_15751805	-10.20
S25	CID_18288991	-9.38
S26	CID_18322906	-9.22
S27	CID_19376363	-6.46

ANNEXES

S28	CID_19376425	-8.26
S29	CID_19969917	-10.27
S30	CID_20065142	-9.72
S31	CID_20084353	-9.20
S32	CID_20992294	-7.83
S33	CID_21814987	-8.38
S34	CID_21814989	-7.40
S35	CID_22077440	-9.26
S36	CID_22611074	-8.29
S37	CID_23157256	-9.56
S38	CID_24251598	-7.36
S39	CID_24809631	-8.32
S40	CID_26709387	-9.78
S41	CID_28343246	-7.51
S42	CID_29134007	-9.74
S43	CID_32378049	-10.19
S44	CID_32378055	-9.84
S45	CID_32470246	-9.17
S46	CID_36184016	-7.61
S47	CID_38170580	-9.21
S48	CID_38170583	-10.37
S49	CID_39385986	-8.08
S50	CID_42905538	-9.61
S51	CID_44349739	-9.51
S52	CID_44409690	-8.55
S53	CID_44409729	-9.22
S54	CID_44409916	-9.08
S55	CID_45354397	-9.72
S56	CID_46229758	-8.75
S57	CID_46230191	-9.27
S58	CID_46482922	-8.37
S59	CID_46880901	-8.57

ANNEXES

S60	CID_49756636	-8.25
S61	CID_49756637	-7.99
S62	CID_49756638	-8.24
S63	CID_49756643	-8.57
S64	CID_49756644	-8.30
S65	CID_49756653	-8.29
S66	CID_53805574	-9.66
S67	CID_53855638	-9.15
S68	CID_53885740	-8.79
S69	CID_53929264	-9.35
S70	CID_54057255	-8.66
S71	CID_54374402	-9.65
S72	CID_54440070	-10.35
S73	CID_54567873	-9.35
S74	CID_55440246	-8.54
S75	CID_55788207	-9.64
S76	CID_57346419	-8.14
S77	CID_57346420	-7.77
S78	CID_58033114	-8.28
S79	CID_58626652	-9.79
S80	CID_58765778	-8.50
S81	CID_59113661	-8.85
S82	CID_59226668	-8.49
S83	CID_59226674	-8.60
S84	CID_59654660	-8.65
S85	CID_60033538	-8.88
S86	CID_60033760	-8.89
S87	CID_60033792	-8.51
S88	CID_60033900	-8.87
S89	CID_60033935	-8.65
S90	CID_60662823	-6.97
S91	CID_60699331	-7.20

ANNEXES

S92	CID_65345345	-7.56
S93	CID_65345477	-7.44
S94	CID_67710405	-11.12
S95	CID_67760815	-9.39
S96	CID_67761754	-10.42
S97	CID_67762460	-7.47
S98	CID_67808877	-8.93
S99	CID_67808986	-9.48
S100	CID_67844061	-10.77
S101	CID_68767343	-9.68
S102	CID_69003728	-7.92
S103	CID_69003792	-7.99
S104	CID_69003826	-8.03
S105	CID_69004521	-9.43
S106	CID_69005166	-8.19
S107	CID_69006661	-9.58
S108	CID_69009033	-8.19
S109	CID_69841656	-10.10
S110	CID_69850221	-9.61
S111	CID_71213518	-8.30
S112	CID_71239745	-8.51
S113	CID_71239748	-8.59
S114	CID_71579916	-7.76
S115	CID_75422180	-7.17
S116	CID_75430054	-7.75
S117	CID_75469187	-6.76
S118	CID_77066214	-7.62
S119	CID_80619977	-8.65
S120	CID_80620280	-8.07
S121	CID_81007815	-9.05
S122	CID_81009202	-8.61
S123	CID_82049395	-6.55

ANNEXES

S124	CID_82049733	-6.48
S125	CID_82049866	-6.61
S126	CID_82132640	-7.68
S127	CID_82134563	-7.96
S128	CID_82134880	-8.26
S129	CID_82135196	-8.39
S130	CID_82155096	-8.17
S131	CID_82161874	-7.37
S132	CID_82161879	-7.50
S133	CID_82161880	-7.21
S134	CID_82161881	-7.53
S135	CID_82161882	-7.68
S136	CID_82302249	-7.09
S137	CID_82428236	-7.58
S138	CID_82428331	-7.28
S139	CID_82428594	-7.61
S140	CID_82428624	-7.35
S141	CID_82429965	-7.63
S142	CID_82430251	-7.80
S143	CID_82431342	-7.59
S144	CID_82431422	-7.12
S145	CID_82431637	-7.39
S146	CID_82431662	-7.49
S147	CID_82432748	-7.45
S148	CID_82432755	-7.70
S149	CID_82433653	-7.32
S150	CID_82433731	-7.53
S151	CID_82433937	-7.48
S152	CID_82433961	-7.45
S153	CID_82435049	-7.50
S154	CID_82435657	-7.54
S155	CID_82436035	-6.98

S156	CID_82436254	-7.35
S157	CID_82436279	-7.26
S158	CID_82437399	-7.45
S159	CID_82438344	-7.43
S160	CID_82438406	-7.43
S161	CID_82438561	-7.62
S162	CID_82438580	-7.58
S163	CID_82501464	-5.59
S164	CID_82543147	-6.31
S165	CID_82543155	-6.45
S166	CID_82543239	-6.89
S167	CID_82543254	-6.72
S168	CID_82543269	-6.25
S169	CID_82543284	-5.98
S170	CID_82543313	-7.22
S171	CID_82543328	-6.20
S172	CID_82543343	-7.29
S173	CID_82543358	-6.24
S174	CID_82543453	-6.70
S175	CID_84009847	-8.74
S176	CID_85472331	-6.18
S177	CID_87890110	-9.82
S178	CID_88458309	-9.53
S179	CID_90453083	-10.77
S180	CID_90455088	-10.21
S181	CID_93189813	-6.88
S182	CID_93189814	-7.55
S183	CID_93189815	-6.92
S184	CID_93190054	-7.13
S185	CID_94713936	-8.55
S186	CID_94713937	-8.58
S187	CID_94761108	-8.11

S188	CID_94761111	-8.19
S189	CID_94761112	-7.87
S190	CID_94761116	-7.77
S191	CID_98019423	-7.92
S192	CID_98019426	-7.79
S193	CID_98019429	-7.92
S194	CID_107272412	-6.66
S195	CID_110311513	-9.33
S196	CID_110311514	-7.78
S197	CID_110311516	-8.18
S198	CID_110447373	-6.86
S199	CID_110447382	-5.45
S200	CID_110447450	-5.71
S201	CID_110447463	-6.20
S202	CID_110447471	-7.21
S203	CID_110447497	-5.42
S204	CID_115930164	-8.80
S205	CID_116885524	-7.61
S206	CID_116885552	-7.67
S207	CID_116885580	-7.51
S208	CID_116886764	-8.60
S209	CID_118075235	-8.60
S210	CID_118947127	-9.19
S211	CID_118947129	-9.16
S212	CID_119229142	-8.84
S213	CID_119229382	-9.07
S214	CID_119229566	-8.70
S215	CID_119351570	-7.69
S216	CID_119351660	-8.29
S217	CID_119351780	-8.44
S218	CID_119353080	-6.89
S219	CID_119355423	-6.99

S220	CID_120185004	-9.17
S221	CID_120185117	-7.07
S222	CID_120280683	-8.95
S223	CID_120280706	-8.67
S224	CID_120281080	-7.97
S225	CID_120281388	-8.06
S226	CID_120281516	-9.18
S227	CID_120281690	-7.90
S228	CID_120281764	-9.00
S229	CID_120281776	-7.76
S230	CID_120282060	-8.58
S231	CID_120389446	-8.96
S232	CID_120389700	-9.53
S233	CID_120509632	-8.22
S234	CID_120509667	-8.47
S235	CID_120509724	-8.79
S236	CID_120509726	-8.83
S237	CID_120509879	-9.20
S238	CID_120512014	-9.21
S239	CID_120528347	-7.52
S240	CID_120528689	-8.23
S241	CID_120537758	-7.29
S242	CID_120538124	-7.09
S243	CID_120540819	-8.17
S244	CID_120545851	-8.31
S245	CID_120546219	-9.00
S246	CID_120549159	-9.16
S247	CID_120549165	-9.22
S248	CID_120672357	-8.76
S249	CID_120672380	-8.87
S250	CID_120673115	-9.41
S251	CID_120673263	-8.82

S252	CID_120673457	-9.19
S253	CID_120673555	-9.89
S254	CID_120673852	-8.68
S255	CID_120674367	-8.67
S256	CID_120674369	-9.10
S257	CID_121565853	-6.99
S258	CID_121619736	-7.65
S259	CID_121619846	-7.45
S260	CID_121653080	-7.88
S261	CID_121653352	-7.98
S262	CID_121768651	-7.92
S263	CID_121769304	-7.54
S264	CID_121769616	-8.05
S265	CID_121836100	-7.71
S266	CID_121888186	-8.00
S267	CID_121888276	-8.44
S268	CID_121888863	-7.84
S269	CID_121929211	-8.65
S270	CID_121929212	-8.56
S271	CID_121929226	-8.94
S272	CID_121932517	-7.23
S273	CID_121932545	-7.76
S274	CID_121932547	-8.15
S275	CID_121980564	-8.81
S276	CID_121981575	-7.94
S277	CID_121984733	-7.04
S278	CID_121985088	-9.22
S279	CID_121985330	-8.56
S280	CID_121985464	-7.65
S281	CID_121985528	-8.54
S282	CID_121988158	-7.46
S283	CID_121997749	-9.17

ANNEXES

S284	CID_122000445	-8.98
S285	CID_122029735	-8.95
S286	CID_122030088	-9.17
S287	CID_122031093	-9.00
S288	CID_122031112	-8.83
S289	CID_122031162	-9.42
S290	CID_122031496	-9.87
S291	CID_122033749	-8.41
S292	CID_122074951	-8.96
S293	CID_122078724	-8.94
S294	CID_122101036	-8.99
S295	CID_123274796	-6.32
S296	CID_124696341	-6.63
S297	CID_130386875	-9.19
S298	CID_122684558	-6.88
S299	CID_67844060	-10.61
S300	CID_68719292	-9.46
S301	CID_90835375	-7.54
S302	CID_90908721	-8.50
S303	CID_134065431	-8.02
S304	CID_134601417	-8.74
S305	CID_134601453	-8.70
S306	CID_134601660	-8.25
S307	CID_136219121	-9.77
S308	CID_136219122	-9.85
S309	CID_136219132	-7.71
S310	CID_136219134	-6.92
S311	CID_136219136	-7.70
S312	CID_136219137	-7.61
S313	CID_136219138	-8.36
S314	CID_136219139	-9.14
S315	CID_136219140	-7.62

S316	CID_136219144	-8.98
S317	CID_136249509	-9.88
S318	CID_136249511	-10.39
S319	CID_136249514	-9.04
S320	CID_136249515	-9.01
S321	CID_136249517	-9.53
S322	CID_136249518	-10.81



Résumés



Résumé

L'arthrose est devenue un problème de santé publique majeur au niveau mondial où elle constitue la deuxième cause d'invalidité après les maladies cardiovasculaires. Dans ce travail, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs de l'ADAMTS-5 ; cible thérapeutique de l'arthrose. Pour atteindre notre objectif, nous avons fait recours à l'approche par docking moléculaire à l'aide du programme AutoDock. Par docking moléculaire d'une collection de 322 similaires chimiques ainsi d'une collection de 75 composés issus de la substitution, l'énergie d'interaction a pu être améliorée de -9.58 Kcal/mole (composé de départ) jusqu'à -13.77 Kcal/mole dans le cas du composé **M53**. Enfin, l'application des filtres ADMET nous renseigne de manière positive sur le composé **M53** qui se présente comme un nouvel inhibiteur potentiellement plus actif envers l'ADAMTS-5.

Mots Clés : ADAMTS-5, Arthrose, AutoDock, Docking moléculaire, Inhibiteur.

Abstract

Osteoarthritis has become a major public health problem worldwide where it is the second leading cause of disability after cardiovascular disease. In this work, we have tried to propose new inhibitors of ADAMTS-5; therapeutic target of osteoarthritis. To achieve our goal, we used the molecular docking approach using the AutoDock program. By molecular docking of a collection of 322 chemical analogues and a collection of 75 compounds resulting from the substitution, the interaction energy could be improved from -9.58 Kcal / mole (starting compound) to -13.77 Kcal / mole in the case of compound **M53**. Finally, the application of the ADMET filters gives us a positive indication of the **M53** compound, which presents itself as a new inhibitor potentially more active towards ADAMTS-5.

Key Words: ADAMTS-5, Osteoarthritis, AutoDock, Molecular Docking, Inhibitor.

الملخص

أصبح هشاشة العظام مشكلة صحية عامة رئيسية في جميع أنحاء العالم حيث أنها السبب الرئيسي الثاني للإعاقة بعد أمراض القلب والأوعية الدموية. في هذا العمل، حاولنا اقتراح مثبطات جديدة لـ ADAMTS-5 باعتبارها الهدف العلاجي لهشاشة العظام. لتحقيق هدفنا، اتبعنا نهج الالتحام الجزيئي باستخدام برنامج AutoDock. من خلال الالتحام الجزيئي لمجموعة من 322 نظيرًا كيميائيًا ومجموعة من 75 مركبًا ناتجًا عن الاستبدال، تمكنا من تحسين طاقة التفاعل من -9.58 Kcal / mole (مركب البدء) إلى -13.77 Kcal / mole في حالة المركب **M53**. أخيرًا، منح ترشيح خصائص ADMET إشارة إيجابية للمركب **M53**، والذي يقدم نفسه كمثبط جديد يحتمل أن يكون أكثر نشاطًا تجاه ADAMTS-5.

الكلمات المفتاحية: ADAMTS-5، هشاشة العظام، AutoDock، الالتحام الجزيئي، المثبط.

Année universitaire : 2018/2019

Présenté par : ZEMOURI Rania

DEHAMCHI Abdelkarim

Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'ADAMTS-5 pour le traitement de l'arthrose.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliquée.

Résumé

L'arthrose est devenue un problème de santé publique majeur au niveau mondial où elle constitue la deuxième cause d'invalidité après les maladies cardiovasculaires. Dans ce travail, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs de l'ADAMTS-5 ; cible thérapeutique de l'arthrose. Pour atteindre notre objectif, nous avons fait recours à l'approche par docking moléculaire à l'aide du programme AutoDock. Par docking moléculaire d'une collection de 322 similaires chimiques ainsi d'une collection de 75 composés issus de la substitution, l'énergie d'interaction a pu être améliorée de -9.58 Kcal/mole (composé de départ) jusqu'à -13.77 Kcal/mole dans le cas du composé **M53**. Enfin, l'application des filtres ADMET nous renseigne de manière positive sur le composé **M53** qui se présente comme un nouvel inhibiteur potentiellement plus actif envers l'ADAMTS-5.

Mots Clés : ADAMTS-5, Arthrose, AutoDock, Docking moléculaire, Inhibiteur.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie appliquée.

Jury d'évaluation :

- **Président du jury :** Mr. CHIKHI A (Professeur - UFM Constantine-1)
- **Rapporteur :** Mr. MOKRANI E. H (Maitre Assistant ' A ' - UFM Constantine-1)
- **Examineur :** Mr. BENSEGUENI A (Professeur - UFM Constantine-1)

Date de soutenance : 07 / 07 / 2019