



Université Frères Mentouri  
Constantine 1



Université Frères Mentouri  
Constantine



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERRCHE SCIENTIFIQUE

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

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème

---

## Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'Aldose réductase par docking moléculaire

---

Présenté et soutenu publiquement Par :

Le 07/07/2019

- BAHITA Soraya salssabila
- HOURI Ibtesam

Jury d'évaluation :

**Président du jury** : BENSEGUENI A. (Professeur à UFM Constantine 1),

**Examinatrice** : TENIOU S. (Maitre assistante A à UFM Constantine 1),

**Rapporteur** : MOKRANI E.H. (Maitre-assistant A à UFM Constantine 1).

*Année universitaire*

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.*

*Les cinq longues années que nous avons passé entre les amphis, les laboratoires et les couloirs de cette grande édifice, nous ont permis de grandir et de nous développer sur le plan scientifique, intellectuel et personnel.*

*L'année 2019 la toute dernière, est la plus belle car elle était pleine d'expériences et de défis que nous avons réussi à les surmonter grâce à notre volonté et notre persévérance.*

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadreur Mr Mokrani E.H Maitre-assistant « A » à l'université Frères Mentouri Constantine 1 pour son suivi consciencieux, son énorme soutien et le temps précieux qu'il nous a consacré, sachant que sans lui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Nous nous adressons humblement à Mr BENSEGUENI A. professeur à Université Frères Mentouri-Constantine 1 pour le remercier de l'honneur qu'il nous a accordé en acceptant de présider le jury de ce mémoire, sans oublier notre gratitude pour tous ces prodigieux conseils.*

*C'est avec un grand plaisir que nous remercions Mme TENIOU S. Maitre assistante « A » à l'université Frères Mentouri Constantine 1 pour avoir accepté d'évaluer notre travail et d'être présente durant notre parcours.*

*Nous adressons notre sincère remerciement à Dr Beloued. Maitre de conférences « B » à l'université Frères Mentouri Constantine 1 et Dr Djoudi. B Maitre de conférences « B » à l'université Frères Mentouri Constantine 1, pour leur soutien moral et pour leur esprit critique qui nous a poussé toujours de donner le meilleur de nous.*

# *Dédicaces*

*A ma très chère mère*

*A celle qui était et sera toujours mon idole*

*Quoi que je fasse ou je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit.  
Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide, ton amour a fait de moi ce  
que je suis aujourd'hui et ta présence à mes cotes a toujours été ma source de  
force pour affronter les différents obstacles que j'ai rencontré dans mon chemin  
je te présente par le biais de ce travail le témoignage de ma profonde  
reconnaissance et mon grand amour.*

*A mon adorable père*

*A celui qui a été le meilleur guide durant le long chemin de ma vie, a celui  
qui m'a appris le travail et le bon comportement, j'espère te rendre fière par ce  
mémoire.*

*A ma chère tante karima*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes  
exigences qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse et qui par son  
amour infini m'a toujours protégé.*

*A mes chères frères **Heithem Zakaria** et **Mouhamed Nadir***

*A mes charmantes sœurs **Kaouther Cheima** et **Bessemala Ritedj***

*Je vous dédie ce travail en témoignage des liens solides et intimes qui nous  
unissent et pour votre soutien, encouragement en vous souhaitant un avenir  
plein de succès et de bonheur*

*A mes amis*

***Rania, Lina, Imène, Amine, Chakib, Oussama, Brahim et Mouhamed** qui ont  
partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce  
travail. Ils m'ont chaleureusement supporté tout au long de mon parcours que  
dieu vous protège et vous garde à mes cotes*

*A mon binôme Souna et sa famille*

*A celle qui a partagé avec moi les bons et les mauvais moments : les rires et les pleurs, la joie et la tristesse, le courage et la détresse, le stress et la paix, les différentes pressions, la faim ainsi que le fast Food*

*A celle qui a été mon pilier de l'année, qui a cru en moi et m'a toujours encouragé*

*Que dieux nous garde si tendre si aimante l'une envers l'autre*

*Salsabila*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à ma chère famille,*

*À ma mère, ma source de tendresse,*

*Celle qui m'a soutenu durant toute ma vie, qui a su me donner  
l'espoir et le courage nécessaire pendant mon long trajet d'étude.*

*À mon père, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études,  
celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir.*

*Ainsi que ma tendre sœur **Faiza**, mes chers frères **Djamel Eddine** et  
**Amar** pour leur amour, leurs encouragements et leur soutien.*

*À ma petite nièce **Layane**.*

*Que DIEU vous bénisse.*

*À ma chère amie et binôme **Salssabila**,*

*Mon épaulement solide qui n'a cessé de me soutenir et de m'aider  
durant les moments difficiles, à celle qui m'apporte un bonheur  
immense, et plus que tout, la joie de vivre et le courage d'aller  
toujours vers l'avant.*

*Ce travail ne serait pas fait si facilement sans toi.*

*Je ne te dis pas assez la chance que j'ai eu de t'avoir, mais je le sais,  
chaque jour. Un grand MERCI à toi.*

*À mes chers amis*

***Lina, Rania, Meissa, Oussama, Amine, Brahim et Mouhamed***

*Qui m'ont toujours encouragé, vous êtes les meilleurs, aucun mot ne  
pourra décrire votre dévouement pour vos aides et supports.*

*Je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite et de bonheur.*

*À mes camarades de la promotion de master en Biochimie Appliquée.*

*À tous ceux qui me sont chers.*

*Ibtissem*

# Table des matières

## Revue bibliographique

Introduction générale .....	1
<b>Chapitre 1: Les complications diabétiques</b>	
1 Introduction.....	3
2 Épidémiologie .....	3
3 Les complications diabétiques .....	5
3.1 Rétinopathie diabétique .....	5
3.2 Neuropathie diabétique.....	5
3.3 Cardiomyopathie diabétique .....	5
3.4 Néphropathie diabétique.....	6
4 Traitement :.....	7
<b>Chapitre2 : L'enzyme Aldose réductase</b>	
1 Les aldo-céto-réductases (AKR).....	10
2 L'aldose réductase.....	10
3 Structure.....	11
4 Mode d'action .....	13
5 Les inhibiteurs de l'AR.....	14
5.1 Classe des dérivés d'acide carboxylique .....	15
5.1.1 L'inhibiteur 3,3 tetramethyleneglutaric acide (TMG).....	15
5.1.2 L'inhibiteur Tolrestat .....	16
5.1.3 L'inhibiteur Zopolrestat.....	16
5.2 Classe des spirohydantoin dérivés.....	10
5.2.1 L'inhibiteur sorbinil .....	10
5.3 Classe des dérivés phénoliques .....	11
5.4 Inhibiter 6- [(5-chloro-3-methyl-1-benzofuran2yl) sulfonyl] pyridazine-3(2H)-one	12

**Chapitre3 : Le docking moléculaire**

1	Introduction .....	20
2	Reconnaissance moléculaire .....	20
2.1	Interactions de Van Der Waals .....	20
2.2	Les interactions ioniques .....	21
2.3	Liaison hydrogène .....	21
2.4	L'effet hydrophobe .....	22
3	Outils du docking moléculaire .....	22
3.1	Le récepteur .....	23
3.2	Le ligand .....	23
3.3	Programme de docking moléculaire.....	23
4	Principe théorique .....	24
5	Le docking : du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité .....	25
6	Algorithmes de docking.....	25
6.1	L'ajustement de fragments (Reconstruction).....	20
6.2	Simulation par trajectoire (Aléatoire).....	20
7	Programme utilisé : AutoDock .....	20

*Partie pratique***Chapitre4 : Matériel et méthodes**

1	Matériel.....	22
1.1	Microordinateur.....	22
1.2	Logiciels : .....	22
1.3	Banques de données .....	31
2	Méthodes.....	32
2.1	Le choix de la protéine .....	32
2.2	Les ligands .....	34
2.3	Le protocole d'utilisation d'AutoDock .....	34

2.3.1	Préparation du récepteur .....	34
2.3.2	Préparation des ligands .....	30
2.3.3	Calcul des grilles de potentiel .....	30
2.3.4	La recherche des solutions d'amarrage .....	30
2.3.5	Analyse des résultats .....	31
2.4	Les tests de fiabilité du programme de docking .....	31
2.4.1	Le coefficient de corrélation .....	32
2.4.2	Le test RMSD .....	32
2.4.3	L'analyse visuelle.....	33
3	Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'AR.....	33
3.1	Criblage virtuel d'une collection de similaires .....	33
3.2	Substitution .....	33
4	Les propriétés ADMET .....	34
4.1	Propriétés physico-chimiques .....	40
4.1.1	La règle de lipinski .....	40
4.1.2	La règle de Veber .....	40
4.1.3	L'inhibition des Cytochromes P450 .....	40
4.1.4	La solubilité dans l'eau .....	41
4.2	Propriétés pharmacocinétiques .....	41
4.2.1	L'absorption gastro-intestinal .....	41
4.2.2	LA BBB perméabilité.....	41
4.2.3	Accessibilité à la synthèse .....	41
4.3	Les tests de toxicité .....	41
4.3.1	Le test d'AMES .....	42
4.3.2	Le test de hERG _inhibition .....	42
4.3.3	Le test de la toxicité aigüe de Daphnia.....	42
4.3.4	Le test de la toxicité aigüe sur les algues.....	42

4.3.5	Le test de la toxicité aigüe sur le Medaka .....	42
4.3.6	Le test de la toxicité aigüe sur Minnow.....	43
4.3.7	Le test de la cancérogénicité pour les souris et les rats .....	43
<b>Chapitre5 : Résultats et discussion</b>		
1	Les tests de fiabilité du programme de docking .....	40
1.1	Le coefficient de corrélation .....	40
1.2	Le test RMSD ( <i>Root Mean Square Deviation</i> ) .....	41
1.3	Analyse visuelle .....	42
1.4	Conclusion .....	45
2	Etude des interactions de l'Aldose réductase – inhibiteur.....	45
3	Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'aldose réductase .....	51
3.1	Criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques .....	51
3.2	Substitution du composé <b>S71</b> .....	50
3.2.1	Mono-substitution .....	50
3.2.2	Poly-substitution .....	53
4	Prédiction des propriétés ADMET .....	61
4.1	Propriétés physico-chimiques .....	61
4.2	Propriétés pharmacocinétiques .....	62
4.3	Les tests de toxicité .....	63
	Conclusion générale .....	61
	Références bibliographiques	
	Annexes	
	Résumés	

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Les complexes Aldose Réductase humaine/Inhibiteur avec leur résolution. ....	33
<b>Tableau 2:</b> Propriétés physicochimiques du composé <b>36</b> .....	50
<b>Tableau 3:</b> Score de docking ainsi que l'absorption gastro-intestinale des 10 meilleurs similaires. ....	52
<b>Tableau 4:</b> Structure énergie d'interaction et absorption gastro-intestinale des composés issus de la substitution de <b>S71</b> sur les radicaux R1, R2 et R3. ....	55
<b>Tableau 5:</b> Structure, énergie d'interaction et absorption gastro-intestinale des composés issus de la substitution de <b>S71</b> sur les radicaux R1, R3, R4, R5, R6 et R7. ....	59
<b>Tableau 6:</b> Propriétés physicochimiques du composé <b>Sub42</b> et l'Epalrestat .....	61
<b>Tableau 7:</b> Propriétés pharmacocinétiques du composé <b>Sub42</b> ainsi que l'Epalrestat .....	62
<b>Tableau 8:</b> Toxicité potentielle du composé <b>Sub42</b> ainsi que l'Epalrestat .....	63

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Nombre estimé de personnes atteintes de diabète par région .....	4
<b>Figure 2:</b> Schéma représentant les complications diabétique .....	6
<b>Figure 3:</b> Structure du médicament Alrestatine .....	8
<b>Figure 4:</b> Structure du médicament Sorbinil .....	8
<b>Figure 5:</b> Structure du médicament Ranirestat .....	9
<b>Figure 6:</b> Structure du médicament Epalrestat .....	9
<b>Figure 7:</b> Vue en perspective de la structure de l'AR humaine avec NADPH/Substrat .....	11
<b>Figure 8:</b> Le motif Alpha/Bêta de l'AR avec le site actif .....	12
<b>Figure 9:</b> Schéma des résidus des sites de liaison de l'AR .....	13
<b>Figure 10:</b> Implication de la voie des polyols dans les complications du diabète [44] .....	14
<b>Figure 11:</b> Structure de 3,3 tetramethyleneglutaric acide .....	15
<b>Figure 12:</b> Structure de l'inhibiteur Tolrestat PDB : <b>1AH3</b> .....	16
<b>Figure 13:</b> Structure de l'inhibiteur Zopolrestat .....	10
<b>Figure 14:</b> Structure de l'inhibiteur Sorbinil .....	11
<b>Figure 15:</b> Structure de l'inhibiteur Quercétine .....	12
<b>Figure 16:</b> Structure de l'inhibiteur 6-[(5-chloro-3-methyl-1-benzofuran-2-yl)] .....	12
<b>Figure 17:</b> Interactions de Van Der Waals [64] .....	21
<b>Figure 18:</b> La liaison ionique [65] .....	21
<b>Figure 19:</b> Liaison hydrogène [64] .....	22
<b>Figure 20:</b> Auto-organisation de molécules amphiphiles dans un solvant aqueux .....	22
<b>Figure 21:</b> Comparaison des programmes de docking les plus cités .....	24
<b>Figure 22:</b> Principe général d'un programme de docking [64] .....	25
<b>Figure 23:</b> L'interface graphique de logiciel AutoDock .....	22
<b>Figure 24:</b> L'interface graphique du logiciel Titan .....	23
<b>Figure 25:</b> L'interface graphique du logiciel VMD .....	24
<b>Figure 26:</b> L'interface graphique du logiciel Pymol .....	24
<b>Figure 27:</b> L'interface graphique du logiciel ChemDraw .....	30
<b>Figure 28:</b> L'interface de logiciel OpenBabel .....	30
<b>Figure 29:</b> Le logiciel Excel .....	31
<b>Figure 30:</b> L'interface de la Protein Data Bank .....	31
<b>Figure 31:</b> L'interface de la Pubchem .....	32

<b>Figure 32:</b> Complexe <b>4LB4</b> avec l'inhibiteur <b>1WX</b> .....	34
<b>Figure 33:</b> Position de la boîte d'amarrage dans le site actif de la <b>4LB4</b> .....	30
<b>Figure 34:</b> Les étapes de calcul du coefficient de corrélation.....	32
<b>Figure 35:</b> Les différentes fonctions ajoutées .....	34
<b>Figure 36:</b> Régression linéaire entre les valeurs de LogIC <sub>50</sub> et les énergies d'interaction des inhibiteurs étudiés.....	41
<b>Figure 37:</b> Résultat en pourcentage du test RMSD .....	42
<b>Figure 38:</b> Superposition de la pose de référence du ligand <b>TOL</b> (jaune) et celle calculé par AutoDock (rouge) du complexe <b>2FZD</b> .....	43
<b>Figure 39:</b> Superposition de la pose de référence du ligand <b>47D</b> (jaune) et celle calculée par AutoDock (rouge) du complexe <b>2PDG</b> .....	43
<b>Figure 40:</b> Superposition de la pose de référence du ligand <b>Q74</b> (jaune) et celle calculée par AutoDock (rouge) du complexe <b>3G5E</b> .....	44
<b>Figure 41:</b> Superposition de la pose de référence du ligand <b>4O9</b> (jaune) et celle calculée par AutoDock (rouge) du complexe <b>4LBR</b> .....	44
<b>Figure 42:</b> Structure du composé <b>36</b> .....	50
<b>Figure 43:</b> Mode d'interaction du composé <b>36</b> envers le site actif de l'AR.....	51
<b>Figure 44:</b> Structure du composé <b>S71</b> .....	52
<b>Figure 45:</b> Mode d'interaction du composé <b>S71</b> envers le site actif de l'AR. ....	53
<b>Figure 46:</b> Représentation des positions des radicaux R1, R2 et R3.....	50
<b>Figure 47:</b> Structure du composé <b>Sub21</b> .....	52
<b>Figure 48:</b> Mode d'interaction du composé <b>Sub21</b> envers le site actif de l'AR.....	53
<b>Figure 49:</b> Représentation des positions des radicaux.....	54
<b>Figure 50:</b> Structure du composé <b>Sub42</b> .....	60
<b>Figure 51:</b> Mode d'interaction du composé <b>Sub42</b> envers le site actif de l'AR.....	60

## Liste des abréviations

**2D** : Deux dimensions.

**3D** : Trois dimensions.

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

**AKR** : Aldo-céto-réductase.

**AR** : Aldose réductase.

**ARIs** : Inhibiteurs de l'Aldose réductase.

**Å** : Angström.

**ADT** : AutoDock Tools.

**AGL** : Algorithme Génétique Lamarkien.

**BBB** : Barrière hémato-encéphalique.

**Da** : Dalton.

**Dlg** : Docking Log file.

**Dpf** : Dock Parameters File.

**DT1** : Diabète type 1.

**DT2** : Diabète type 2.

**FDA** : Food and drug administration.

**FID** : Fédération internationale du diabète.

**GI absorption** : Absorption gastro-intestinale.

**Glg** : Grid Log file.

**Gpf** : Grid Parameters File.

**hERG** : human Ether-à-go-go-Related Gene.

**IC<sub>50</sub>** : Inhibitory concentration 50.

**kDa** : Kilo Dalton.

**Ki** : Constante d'inhibition.

**LogP** : Coefficient de partition octanol / eau.

**μM** : Micro molaire.

**nM** : Nano molaire.

**NAD** : Nicotinamide adénine dinucléotide.

**NADP** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**PDB** : Protein Data Bank (banque de donnée protéique).

**r** : Coefficient de corrélation linéaire.

**RMSD** : Root Mean Square Deviation.



# *Introduction générale*



Le développement d'un nouveau médicament est un processus long et coûteux, allant de l'identification d'une cible biologique d'intérêt thérapeutique jusqu'à sa mise sur le marché. Ce processus dure environ 12 à 15 ans en moyenne et le coût global est estimé d'un milliard de dollars. Dans le passé, la méthode expérimentale établie pour la recherche de nouveaux médicaments s'appelle le criblage à haut débit (en anglais High-Throughput Screening). Cette méthode consiste à tester l'activité d'un très grand nombre de composés chimiques (molécules naturelles ou synthétiques) envers des cibles pharmacologiques afin d'identifier des hits ou des molécules actives susceptibles de moduler des effets sur le processus biologique en question [1]. Avec le développement de l'outil informatique et la mise au point des structures 3D des différentes cibles thérapeutiques, la bioinformatique, particulièrement la modélisation par docking moléculaire, s'est très vite incrustée dans le domaine de la recherche de nouveaux médicaments. Il s'agit d'une nouvelle approche consistant à prédire et à simuler la position la plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur, ce qui est plus facile à mettre en œuvre, plus rapide et moins onéreux que l'utilisation d'une méthode expérimentale [2].

À l'heure actuelle, il existe un bon nombre de logiciels de docking moléculaire. Le plus fréquemment utilisé est bien le programme AutoDock. Cité dans plusieurs articles scientifiques, il a joué un rôle majeur dans le développement préclinique de la molécule Raltegravir (inhibiteur de l'intégrase du VIH), dont la distribution sur le marché américain a été autorisée fin 2007 par la FDA [3].

Le programme AutoDock a été utilisé dans le présent travail en vue d'étudier les mécanismes mis en jeu dans l'inhibition de l'aldose réductase. Il s'agit d'une cible thérapeutique responsable de la production du sorbitol par voie des polyols. L'accumulation excessive de ce métabolite conduit à l'installation, l'apparition et le développement des symptômes et des complications dégénératives liés au diabète [4].

L'objectif du présent travail était, dans un premier temps, d'évaluer la performance du programme AutoDock, au moyen de trois tests de fiabilité. Le premier test consiste à évaluer le degré de corrélation existant entre les énergies d'interaction obtenues par docking et les valeurs expérimentales des  $IC_{50}$  des inhibiteurs de l'AR étudiés. Le deuxième test consiste à calculer, en angströms, l'écart quadratique moyen ou RMSD entre la position du ligand conçue par le logiciel et celle déterminée expérimentalement. Le dernier test sert à analyser visuellement les résultats obtenus à l'issue du test précédent.

Dans un deuxième temps, une étude approfondie du mode d'inhibition de l'AR par des dérivés d'acide carboxylique a été menée. Cette étude nous a permis de dégager un composé intéressant ayant présenté un effet inhibiteur relativement faible avec une mauvaise pénétration gastro-intestinale. Ce composé a été utilisé comme structure de départ pour développer de nouveaux inhibiteurs de l'AR davantage plus puissants, tout en présentant une meilleure absorption gastro-intestinale. Dans cette perspective, nous avons au préalable simulé l'affinité d'une collection de composés similaires envers la cible. Le meilleur composé similaire a subi une série de modifications et substitutions structurales afin de proposer de nouveaux inhibiteurs potentiels de cette enzyme.

En fin, le composé ayant présenté le meilleur score de docking a fait l'objet d'une étude de ses propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et de toxicité potentielle régissant ses paramètres ADMET.



# *Chapitre 1*



## 1 Introduction

Le diabète est une pathologie métabolique qui se caractérise par une hyperglycémie chronique. Il se développe suite à des troubles de la sécrétion ou de l'action de l'insuline ou les deux [5]. Chez les sujets diabétiques, des perturbations du métabolisme des glucides, des lipides ainsi que des protéines sont généralement constatées [6].

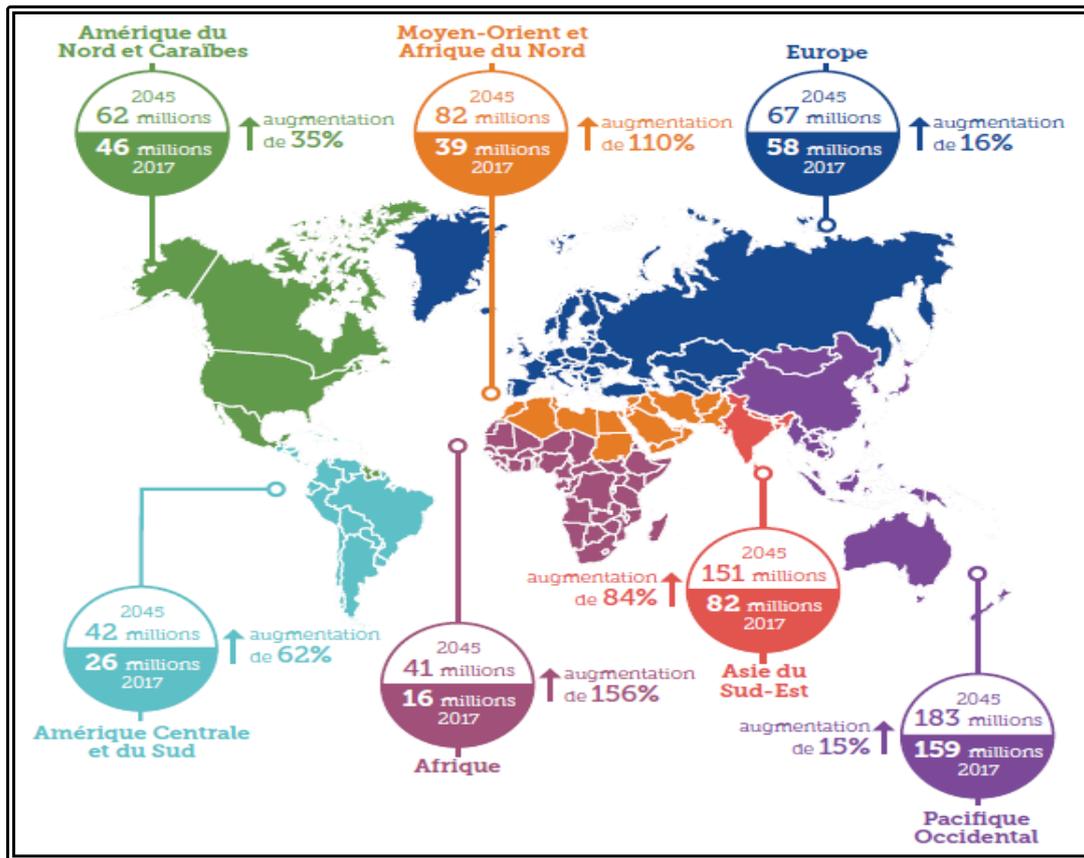
D'un point de vue étiologique, le diabète peut être subdivisé en deux types : le premier est connu sous les noms : diabète de type 1, diabète sucré juvénile ou diabète insulino-dépendant. Ce type de diabète se manifeste par une destruction auto-immune des cellules bêta-pancréatiques entraînant ainsi un déficit en insuline. Le deuxième type de diabète appelé diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant s'installe suite à une résistance à l'insuline ou à une diminution de sa sécrétion [7].

Le diabète sucré a un effet négatif profond sur la qualité de la vie des patients [7]. Sur le plan métabolique, l'hyperglycémie stimule la voie des polyols [8]. Cette voie permet la réduction du glucose en sorbitol via l'aldose réductase [9]. Il est à souligner que l'accumulation de ce métabolite à l'intérieur des cellules est l'une des principales causes des complications dégénératives caractérisant le diabète [4], citons à titre d'exemple les complications macrovasculaires (affectant les gros vaisseaux du corps), les complications microvasculaires (touchant les petits vaisseaux) et les complications endocrines [10].

## 2 Épidémiologie

Le diabète sucré est un problème de santé publique majeur, tant dans les pays développés que dans les pays en développement [11]. En 2015, la Fédération internationale du diabète (FID) a estimé qu'environ 415 millions de personnes sont atteintes de cette maladie [12]. Encore pire, ce nombre devrait atteindre 629 millions en 2045 si rien n'est fait pour diminuer le développement du diabète [13].

Le diabète type 1 (DT1) représente 5% à 10% du total des cas de diabète dans le monde [14] et à l'heure actuelle, environ 1 adulte sur 11 dans le monde est atteint de diabète sucré. Il est à souligner que 90% des cas de diabètes sont ceux de type 2 (DT2) [12].



**Figure 1:** Nombre estimé de personnes atteintes de diabète par région en 2017 et 2045 [13].

Selon les estimations, 15.5 millions d’adultes souffrent de diabète dans la région Afrique en 2017 [13].

Selon les nouvelles données de l’Organisation mondiale de la santé (OMS), le nombre de patients s’évalue à 4 100 000 en Algérie [100]. L’étude réalisée par Dr M. Khiari et son groupe pour comparer les complications dégénératives entre les deux types du diabète, montre que la prévalence de la rétinopathie était de 22.11 % chez les diabétiques DT1 et de 41.02 % chez les diabétiques DT2. La néphropathie était présente chez 7.7 % des diabétiques DT1 et chez 17.3 % des diabétiques DT2. La neuropathie était 3.37 fois plus fréquente dans le groupe 2 [15].

### 3 Les complications diabétiques

#### 3.1 Rétinopathie diabétique

La rétinopathie est considérée comme la complication la plus fréquente chez les diabétiques. Elle est l'une des principales causes de la cécité dans le monde [16]. Son développement est proportionnel à la durée du diabète [17]. En effet, des signes de rétinopathie diabétique apparaissent fréquemment chez 95 % des diabétiques de type 1 et 60 % des diabétiques de type 2 dont la maladie dure plus de 20 ans [18].

D'un point de vue physiopathologique, l'accumulation accrue du sorbitol au niveau des yeux crée un effet hyperosmotique. Pour maintenir l'équilibre, l'eau s'infiltré dans les fibres des lentilles et commencent à se gonfler, ce qui entraîne la formation de l'opacité [18]. L'augmentation de l'hydratation des lentilles affecte la perméabilité de sa membrane de sorte que les acides aminés libres, le glutathion, le myoinositol, les cations de sodium et de potassium commencent à fuir [19].

#### 3.2 Neuropathie diabétique

La neuropathie diabétique est l'une des complications microvasculaires les plus courantes à long terme du diabète sucré [20]. Le terme "Neuropathie diabétique" a été décrit pour la première fois par Marchel de Calvi en 1864 qui a déclaré que la neuropathie était une conséquence plutôt qu'une cause du diabète [21].

Les troubles métaboliques sont la principale cause de la neuropathie diabétique [8]. Une relation directe a été établie entre la durée du contrôle glycémique médiocre et le développement de la neuropathie diabétique [21]. L'hyperglycémie induite par une diminution de la sécrétion ou de la résistance à l'insuline, est la cause de l'activité accrue de la voie des polyols [8], induisant l'augmentation de l'accumulation du sorbitol intracellulaire au niveau de la membrane basale des nerfs périphériques [9]. Il en résulte une diminution de l'activité de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase, essentielle pour la conduction nerveuse [9].

#### 3.3 Cardiomyopathie diabétique

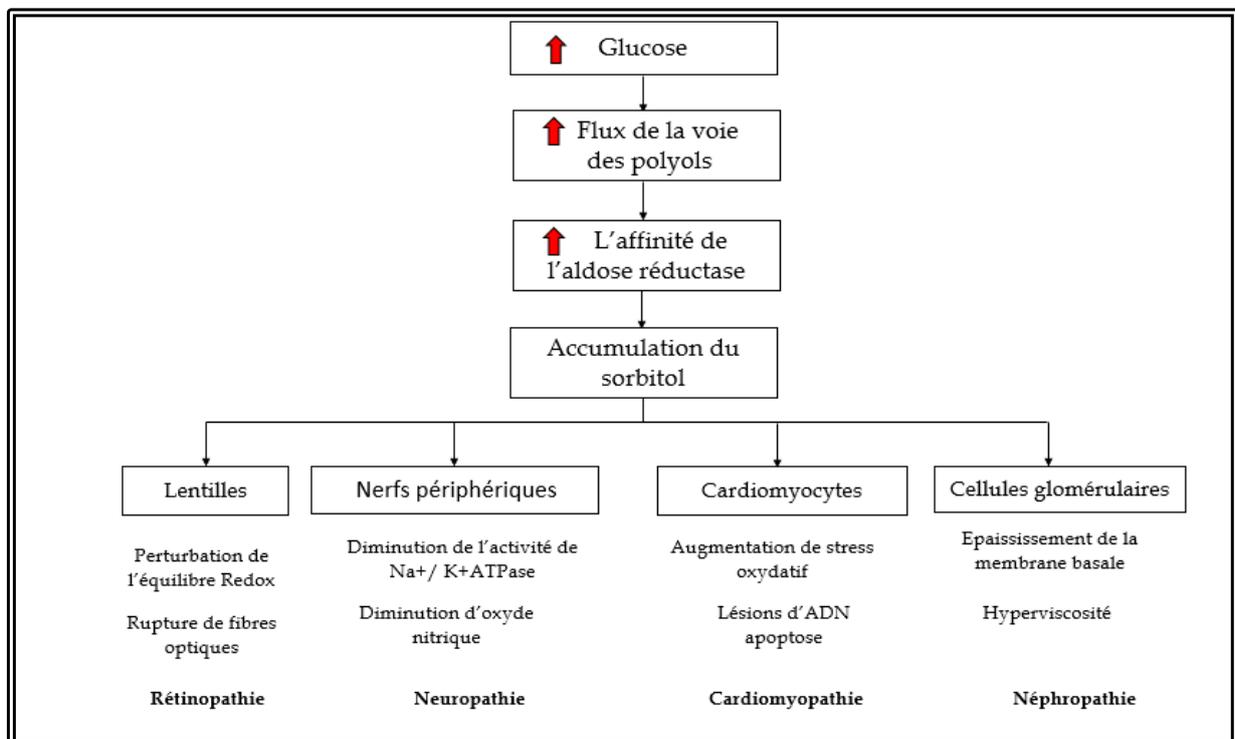
Le concept de la cardiomyopathie diabétique a été introduit pour la première fois par Rubler et al [22], pour décrire les modifications de la structure et du fonctionnement du myocarde associées au diabète qui ne sont pas directement imputables à d'autres facteurs de

confusion [23]. Dans des conditions physiologiques normales, le glucose est l'un des principaux glucides utilisés par le cœur [24]. Contrairement à cet état, l'hyperglycémie chronique augmente le flux de la voie des polyols ce qui induit l'accumulation du sorbitol et une utilisation accrue du cofacteur NADPH, perturbant ainsi l'équilibre redox des cellules cardiaques, ce qui entraîne des lésions de l'ADN et l'apoptose des cardiomyocytes [25].

### 3.4 Néphropathie diabétique

La néphropathie diabétique fait partie des microangiopathies qui sont caractérisées par l'atteinte de petits vaisseaux dont le diamètre est inférieur à 30  $\mu\text{m}$  [26]. Elle est également l'une des principales causes d'insuffisance rénale terminale [26]. Cette complication a été clarifiée par Kimmel steil et Wilson dans les années 1930 [27].

La néphropathie diabétique est une maladie à plusieurs degrés qui prend plusieurs années avant de devenir cliniquement manifeste [28]. L'excès de glucose pénètre dans les cellules glomérulaires par un transport de glucose facilité, principalement le transporteur de glucose 1 [29]. A ce niveau, le sorbitol issu du métabolisme de glucose s'accumule [30]. L'hyperglycémie est responsable des modifications hémodynamiques aboutissant à un épaississement des membranes basales et à une hyperviscosité [31].



**Figure 2:** Schéma représentant les complications diabétique

#### 4 Traitement :

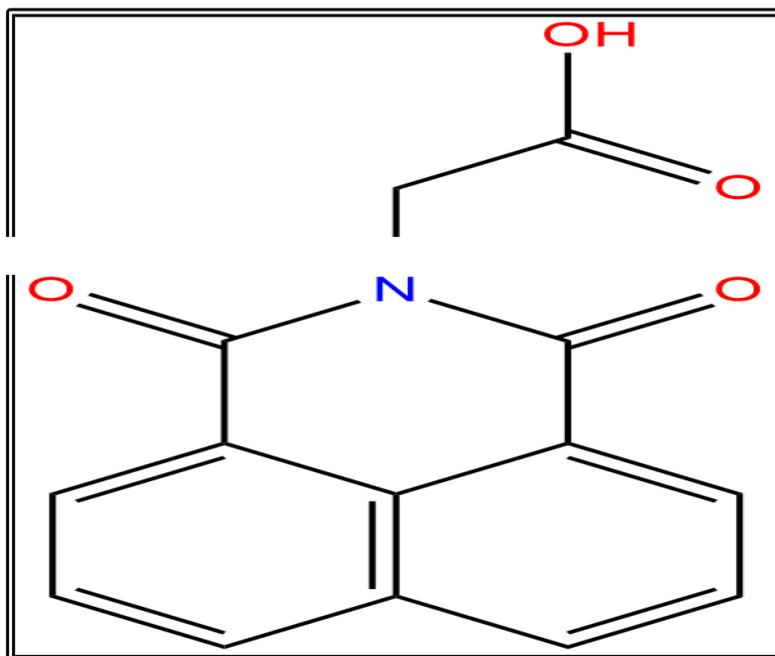
Le traitement du DT1 vise à remplacer la sécrétion d'insuline déficiente par l'administration d'insuline exogène (humaine ou analogue) [32].

Le traitement du DT2 comprend soit des médicaments insulino-sécréteurs, soit des insulino-sensibilisateurs, soit éventuellement une combinaison des deux [33]. Jusqu'en 2008, cinq types d'agents hypoglycémisants oraux étaient disponibles et ont été pris en compte dans les recommandations Haute Autorité de Santé : les sulfonylurées, les glinides, les biguanides, les thiazolidinediones et les inhibiteurs des alphaglucosidases.

Les traitements actuels du diabète ont déjà prouvé leur efficacité en baissant le taux de glycémie chez les sujets atteints. Cependant le contrôle adéquat quotidien de la glycémie est très difficile à atteindre dans la plupart des cas, ce qui conduit à long terme à l'émergence de complications très sérieuses [34].

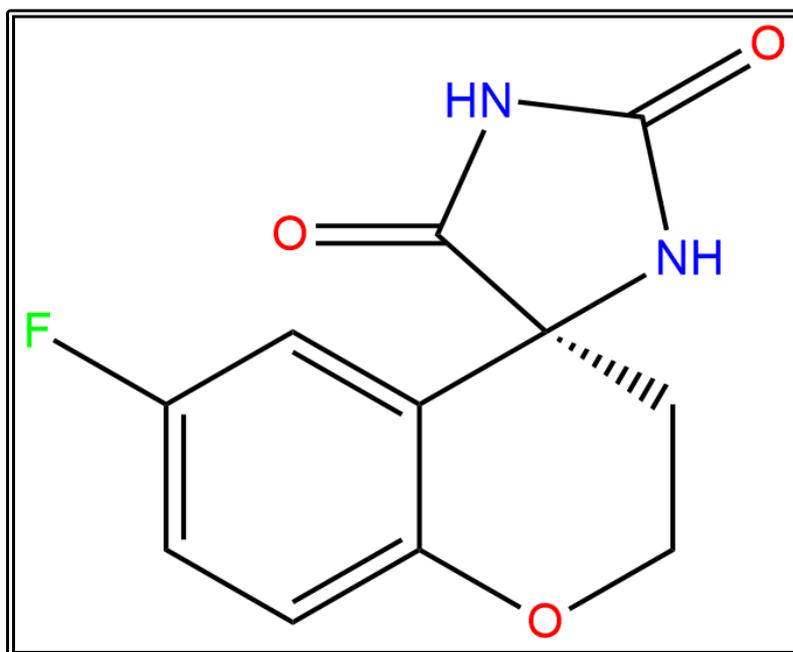
Plusieurs études montrent l'implication du sorbitol (métabolite accumulé suite à l'hyperglycémie) dans l'installation des complications plus au moins sévères au niveau des nerfs, des reins, la rétine, et le cœur chez les diabétiques. Afin de diminuer le taux du sorbitol, les médecins font actuellement appel aux inhibiteurs de l'aldose réductase ; enzyme responsable de la synthèse de ce métabolite. Il s'agit de petites molécules bloquant le site actif de cette enzyme diminuant ainsi la synthèse et l'accumulation du sorbitol. Les médicaments faisant partie de cette voie thérapeutique améliorent les anomalies et les dommages installés à différents niveaux chez les diabétiques.

En 1973, le premier inhibiteur actif par voie orale, l'alrestatine (AY-22,284) a été mis au point pour la prévention de la cataracte voir (figure 3). En 1981, les premiers essais cliniques sur cette molécule chez des patients atteints de neuropathie diabétique ont été signalés [35].



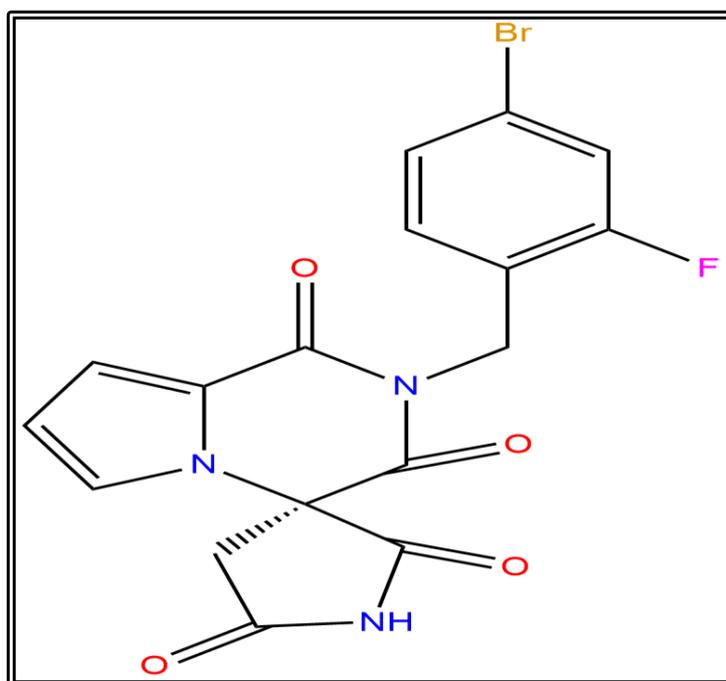
**Figure 3:** Structure du médicament Alrestatine

Parmi les inhibiteurs de l'aldose réductase (ARIs) ayant fait l'objet d'essais cliniques, le sorbinil voir (figure 4). Il a été le premier ARI testé de façon approfondie avec une bonne activité *in vitro* et *in vivo* [36]. Ce composé a démontré une approche efficace pour prévenir du dysfonctionnement des nerfs périphériques, changements cataractes et une inhibition de la fibronectine en réponse du glucose [37].



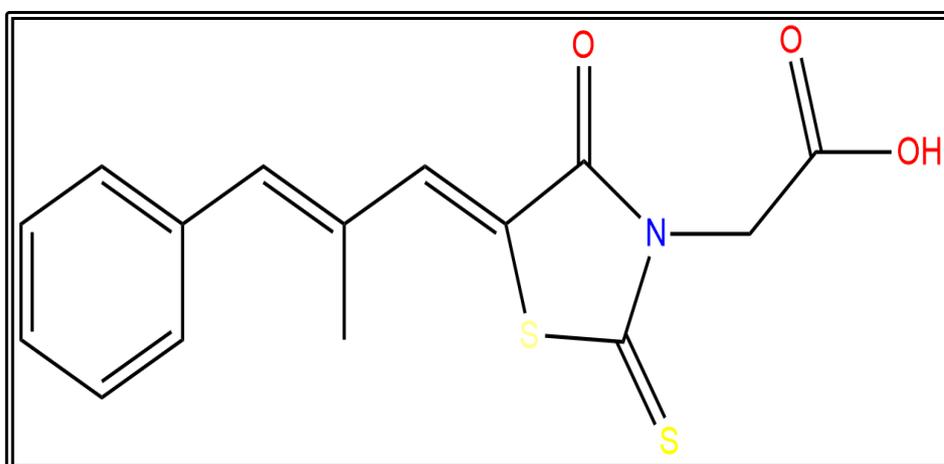
**Figure 4:** Structure du médicament Sorbinil

Ranirestat (AS-3201) est un inhibiteur de la classe des spirosuccinimides, (voir figure 5) [36], il est l'un des ARIs disponible par voie orale en cours de développement pour le traitement potentiel des complications diabétiques, telles que la neuropathie, la cataracte, la rétinopathie et la néphropathie. Il est actuellement en phase tardive des essais cliniques [37].



**Figure 5:** Structure du médicament Ranirestat

Epalrestat est un inhibiteur dérivé d'acide carboxylique [35] (voir figure 6). Jusqu'à présent, il est le seul des ARIs commercialisé en Japon [38], en Chine et en Inde pour l'amélioration des symptômes subjectifs de neuropathie, l'anomalie du sens vibratoire et les changements anormaux du rythme cardiaque associés à la neuropathie périphérique diabétique [37].



**Figure 6:** Structure du médicament Epalrestat



## *Chapitre 2*

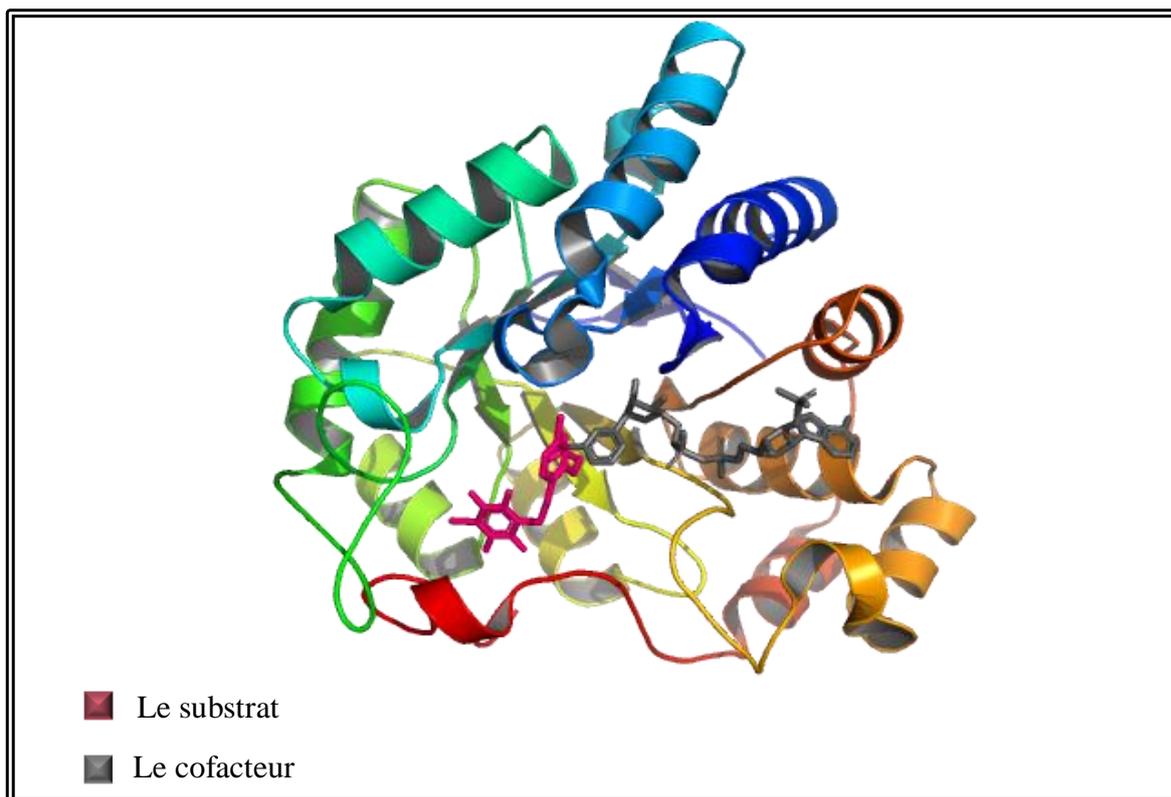


## 1 Les aldo-céto-réductases (AKR)

Les *aldo-céto-réductases* (AKR) forment une superfamille de protéines englobant précisément 16 familles [39]. Elles catalysent des réactions d'oxydo-réduction sur une large gamme de substrats en utilisant le NAD(P)H comme cofacteur [40]. Elles ont une large spécificité de substrat, capable de métaboliser les glucides, stéroïdes, prostaglandines, autres aldéhydes endogènes et cétones, ainsi que des composés xénobiotiques [41]. Parmi les membres de cette superfamille nous citons l'Aldose-réductase (AR). Cet enzyme, appartient à la sous-famille AKR1B est de loin la plus étudiée en raison de son implication dans le développement des complications secondaires du diabète [41].

## 2 L'aldose réductase

L'AR humain (EC 1.1.1.21), est une enzyme cytoplasmique ubiquitaire [42] responsable de la réduction du glucose en sorbitol en utilisant le NADPH comme cofacteur [9]. Elle a été identifiée dans divers tissus comme le cerveau, les reins, le foie, le cristallin et le tissu musculaire squelettique [42]. L'AR humaine a été identifiée pour la première fois par Hers en 1956 [43]. Son implication dans le développement des complications diabétiques a été mise en évidence dans les années 60 [44]. L'AR a d'abord été connue comme une enzyme qui fournit de l'énergie aux cellules du sperme en convertissant le glucose sanguin en fructose dans la vésicule séminale en 1956 [45]. Quatre ans après son identification, Van Heyningen a montré une accumulation de fortes concentrations de galactitol et de sorbitol dans le cristallin chez le rat pendant la cataractogénèse induite par le sucre [46]. Kinoshita et *al* ont suggéré que l'accumulation des polyols dans les lentilles mène à l'augmentation de la pression osmotique intracellulaire [19].



**Figure 7:** Vue en perspective de la structure de l'AR humaine avec NADPH/Substrat

### 3 Structure

L'AR est une enzyme globulaire ayant un poids moléculaire de 37 kDa avec 315 acides aminés. Cette enzyme est codée par le gène AKR1B1 qui est cartographié à la région chromosomique 7q35 [47], [48],[49]. La protéine se plie dans le motif bêta/alpha ( $\beta/\alpha$ ) de l'enzyme [50]. Les huit brins  $\beta$  parallèles qui sont reliés par huit segments  $\alpha$ -hélicoïdaux antiparallèles [48] se disposent pour former le site actif de l'enzyme dans le centre [47] (voir figure 8). Ce site est considérablement flexible permettant d'accueillir plusieurs variétés de composés carbonylés chimiquement distinctes [50].



**Figure 8:** Le motif Alpha/Bêta de l'AR avec le site actif

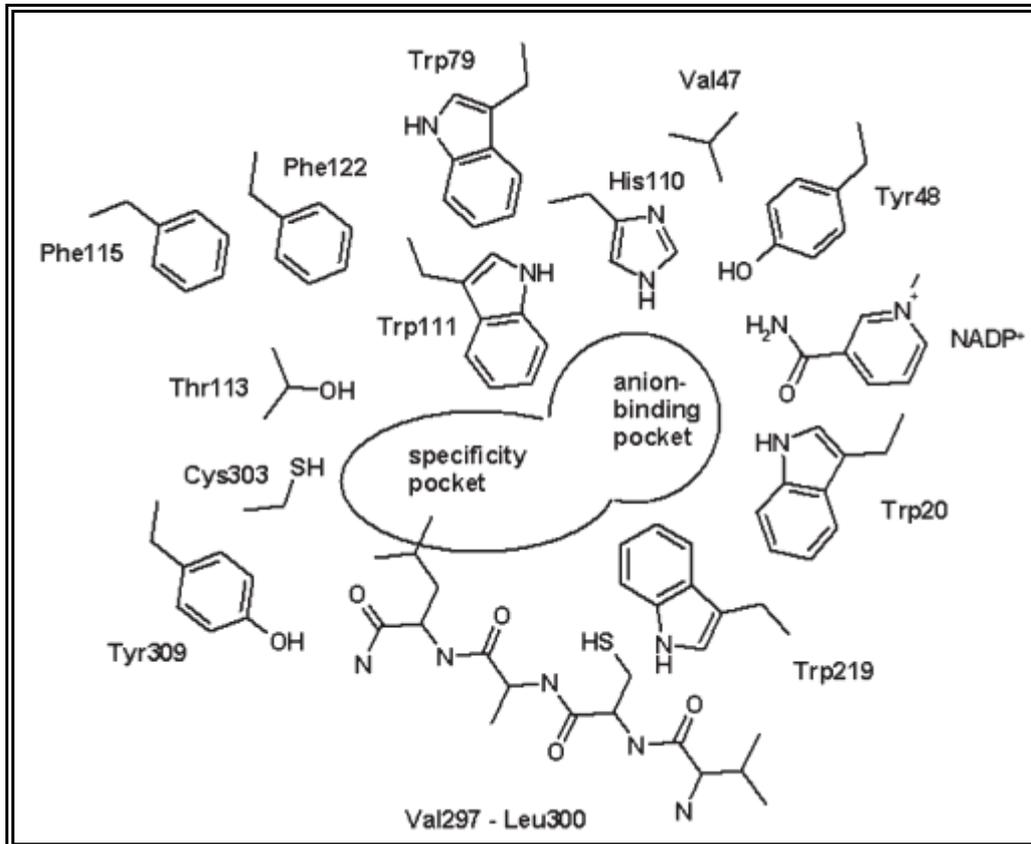
Les études cristallographiques aux rayons X montrent que le site de fixation du substrat de l'aldose réductase humaine est située dans une fente large et profonde au niveau du C terminal du tonneau, avec le cofacteur pyridine  $\text{NADP}^+$  lié au fond. Ce site est délimité par des boucles reliant le brin central  $\beta$  avec les hélices  $\alpha$  externes [36].

Une analyse comparative des structures cristallines du complexe inhibiteur /AR a permis de conclure que le site de liaison de l'AR [42] comprend les résidus Trp20, Tyr48, His110, Trp111, Phe122, Phe115, Met 303 et Leu300 [47].

Le Trp111 divise la poche de fixation en deux parties avec des propriétés de flexibilité différentes [42]. La première partie, formée principalement par les résidus du site catalytique Trp20, Tyr48, Val47, His110, Trp49 et Trp111 et le cofacteur  $\text{NADP}^+$ , nommé la "poche de liaison anionique" [42]. La deuxième partie de la poche de liaison comprenant les résidus Trp111, Thr113, Phe122, Ala299, Leu300, Ser302 et Cys303 [36] est connue sous le nom "poche de spécificité", ou "zone de cavité induite". Les résidus formant cette poche sont très hydrophobiques et flexibles [42]. Grâce à cette grande flexibilité, la poche de spécificité peut donc adopter de différentes conformations en fonction de la taille et de la nature du ligand

(substrats ou inhibiteurs) qu'elle reconnaît [51].

Leu300 joue un rôle déterminant en tant que gardien : en fonction du réarrangement de sa chaîne latérale, et de la position résultante des Cys303 et Tyr309 voisins, ce résidu rend "la poche de spécificité" plus accessible en l'élargissant d'avantage [52].

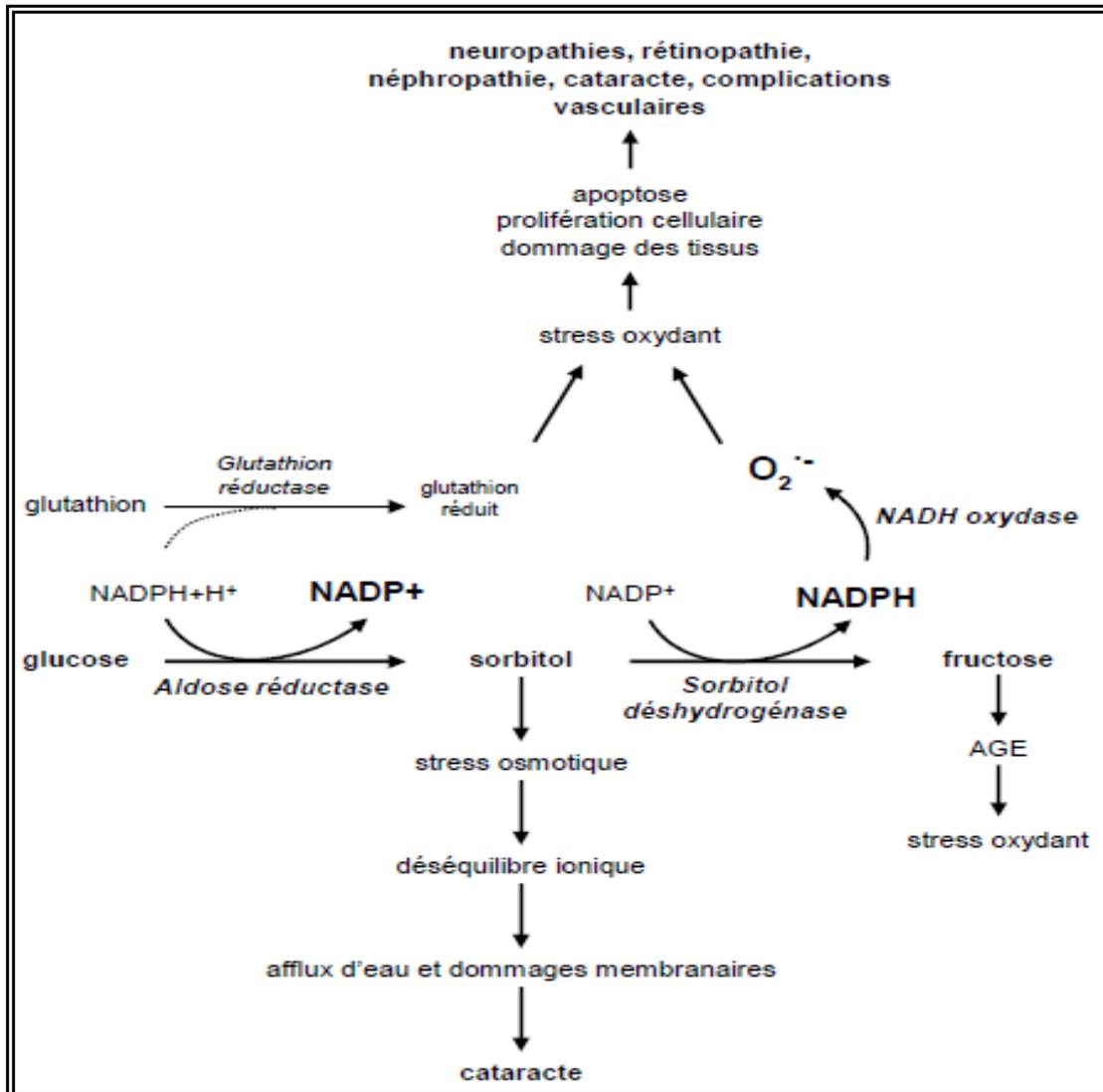


**Figure 9:** Schéma des résidus des sites de liaison de l'AR

#### 4 Mode d'action

L'AR est l'enzyme clé de la voie des polyols, dont l'activation dans des conditions d'hyperglycémie conduit à l'apparition de complications diabétiques chroniques à savoir la neuropathie, la rétinopathie, la néphropathie et la cardiomyopathie [52]. En effet, la voie des polyols est un processus métabolique intracellulaire aboutissant à la formation de sorbitol en tant que produit intermédiaire. Cette voie s'active lorsque le taux du glucose sanguin s'élève à 1,26 g/L [53], et comprend deux enzymes clés : l'AR et la sorbitol déshydrogénase. Le métabolisme du glucose par cette voie se déroule en deux étapes : Lors de la première étape, le glucose est catalysé en sorbitol par l'action de l'AR en utilisant le cofacteur NADPH. Par la

suite, le sorbitol est converti en fructose sous l'action de Sorbitol déshydrogénase, en utilisant le cofacteur nicotinamide adénine dinucléotide ( $\text{NAD}^+$ ) [17].



**Figure 10:** Implication de la voie des polyols dans les complications du diabète [44]

## 5 Les inhibiteurs de l'AR

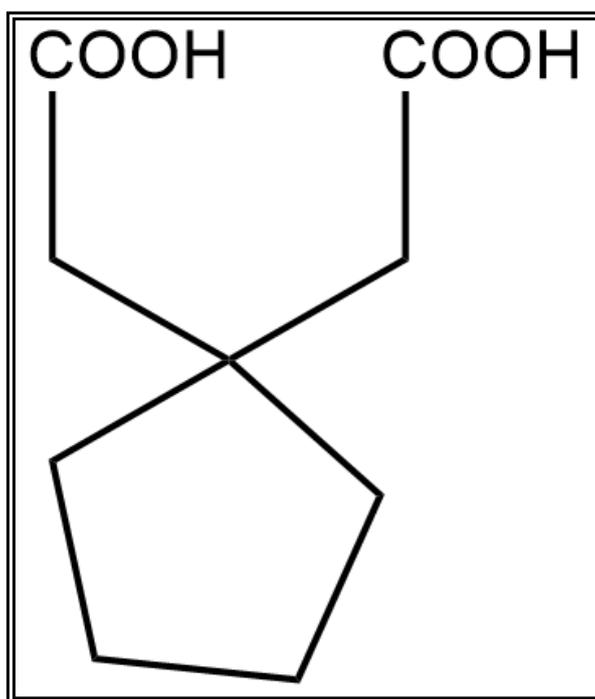
Depuis que la structure de l'AR humaine a été mise en évidence, un bon nombre d'inhibiteurs (ARI) synthétiques et naturels ont été développés [37]. Les inhibiteurs de l'AR actuellement connus peuvent être regroupés en quatre principaux groupes en fonction de leur structure : dérivés de l'acide carboxylique (tolrestat et épalrestat), dérivés spirohydantoïne (sorbini), dérivés phénoliques (quercétine) et dérivés phénylsulfonyl nitro méthane [54].

## 5.1 Classe des dérivés d'acide carboxylique

Une grande diversité dans la structure chimique des ARI développés a été rapportée. Bien que les dérivés d'acides carboxyliques soient les plus fréquemment utilisés [35] en raison de la caractéristique structurelle du groupe de tête anionique carboxylate qui peut bien s'insérer dans la poche dite de liaison anionique de l'AR [37]. Ces composés ont montré une forte activité inhibitrice *in vitro* dont l'IC<sub>50</sub> peut atteindre des valeurs très faibles allant jusqu'au 81nM. Cependant, ils ne peuvent pas pénétrer facilement dans les biomembranes en raison de leur degré d'ionisation plus élevé dans les conditions physiologiques, ce qui entraîne une faible biodisponibilité et une faible activité *in vivo* [37]. Parmi les inhibiteurs de cette classe nous pouvons citer : 3,3 tetramethyleneglutaric acide, tolrestat et zopolrestat.

### 5.1.1 L'inhibiteur 3,3 tetramethyleneglutaric acide (TMG)

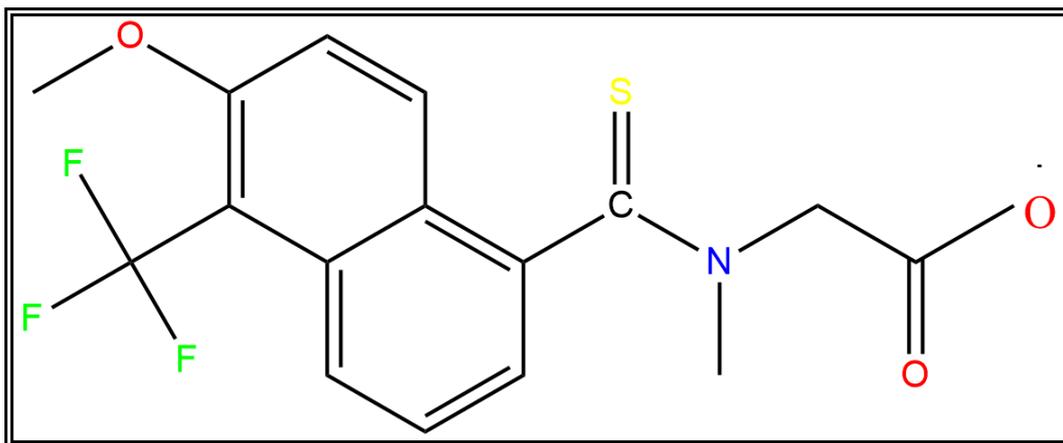
Au début de la recherche sur les propriétés de l'AR, il a été signalé que l'enzyme est sensible aux anions organiques, en particulier aux acides gras à longue chaîne [37]. Ceci a conduit au développement du premier ARI à savoir 3,3-tétraméthylène-glutariqueacide (TMG). Ce composé peut inhiber 68 % de l'enzyme à une concentration de 0,1 mM [35].



**Figure 11:** Structure de 3,3 tetramethyleneglutaric acide

### 5.1.2 L'inhibiteur Tolrestat

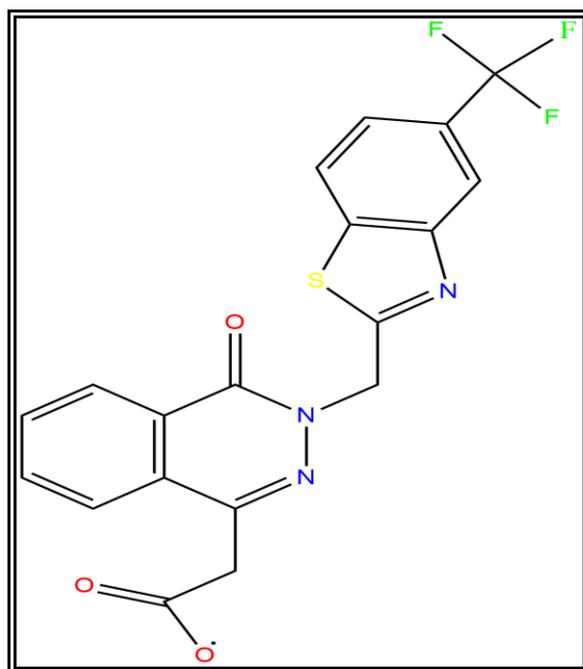
Tolrestat est un inhibiteur synthétique [54] dérivé d'acide carboxylique, lancé sur le marché en 1989 et retiré en 1996 en raison de sa toxicité hépatique grave et de sa faible efficacité *in vivo* [36]. Structuralement parlant, ce composé a une tête hydrophile COOH, similaire à celle de nombreux substrats d'AR. Il présente une forte affinité envers l'AR avec une IC<sub>50</sub> de 1000 nM.



**Figure 12:** Structure de l'inhibiteur Tolrestat PDB : 1AH3

### 5.1.3 L'inhibiteur Zopolrestat

Zopolrestat est un inhibiteur très puissant de l'AR faisant partie de la classe des dérivés d'acide carboxylique [36]. Ce composé a montré son efficacité *in vitro* avec une valeur faible de son IC<sub>50</sub> égale à 81 nM. Toutefois, son utilisation *in vivo* ne devrait se limiter qu'aux essais sur les animaux, car les doses thérapeutiques chez l'homme sont généralement élevées à cause de son *pKa* faible et d'une liaison importante aux protéines plasmatiques (> 90 %). Une élévation des enzymes hépatiques a été observée au cours des essais cliniques [55], d'où son retrait en raison d'une toxicité hépatique et/ou rénale [36].



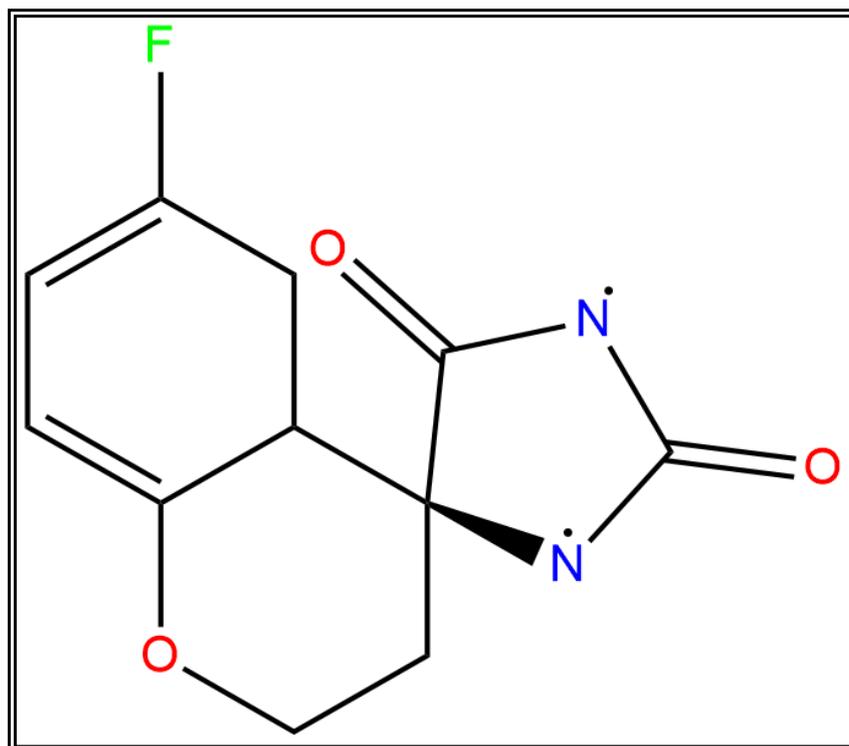
**Figure 13:** Structure de l'inhibiteur Zopolrestat

## 5.2 Classe des spirohydantoin dérivés

La deuxième classe chimique des ARIs est les dérivés de la spirohydantoïne. L'avantage des inhibiteurs de cette classe est leur faible degré d'ionisation à pH physiologique, ce qui leur permet de pénétrer facilement dans les biomembranes, rendant leur activité stable *in vivo* et/ou *in vitro*. Toutefois, ces composés ont eu certains effets secondaires indésirables, comme l'hypersensibilité et l'hépatotoxicité, qui sont des obstacles majeurs auxquels les spirohydantoïne sont confrontés dans les essais cliniques [37]. L'inhibiteur le plus connu et puissant de cette classe est la sorbinil.

### 5.2.1 L'inhibiteur sorbinil

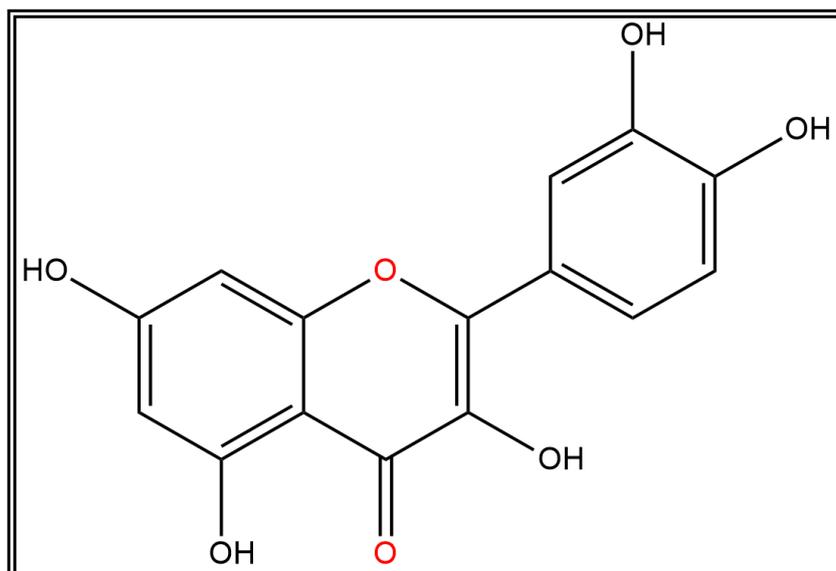
Sorbinil est un inhibiteur synthétique de l'AR [54]. Il a été le premier composé développé dans la famille des spirohydantoïne [38]. Le sorbinil peut être administré par voie orale avec une dose de 0,25 mg /kg tout en inhibant 85 % de l'accumulation de sorbitol [35]. En effet, ce composé a une sélectivité très élevée pour l'AR avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de 500 nM [35].



**Figure 14:** Structure de l'inhibiteur Sorbinil

### 5.3 Classe des dérivés phénoliques

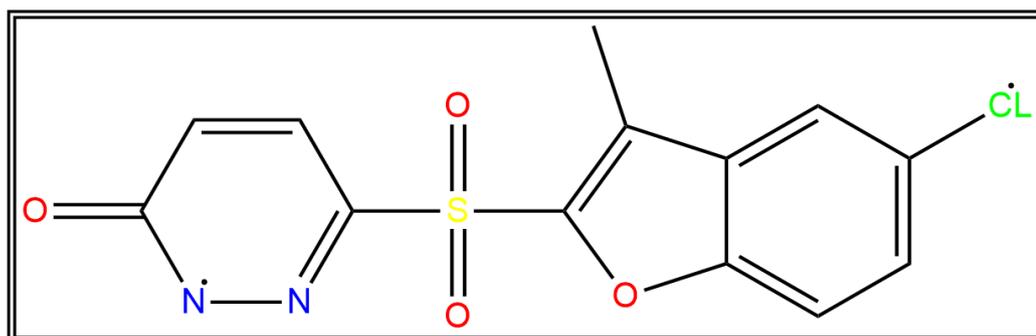
La quercétine est parmi les inhibiteurs naturels et puissants de l'AR. Elle fait partie de la famille des composés polyphénoliques précisément les flavonoïdes. Ce composé est très largement présent dans l'alimentation humaine et ses multiples effets bénéfiques sur la santé ont fait l'objet d'un examen approfondi, y compris les activités antioxydantes et l'inhibition de l'AR [56]. La quercétine présente une forte activité envers l'AR avec une  $IC_{50}$  de 14.8 nM tout en présentant une bonne pénétration à travers les membranes cellulaires [54]. Récemment, 21 nouveaux dérivés semi-synthétiques de quercétine ont été synthétisés et testés pour l'inhibition de l'AR [56].



**Figure 15:** Structure de l'inhibiteur Quercétine

#### 5.4 Inhibiter 6- [(5-chloro-3-methyl-1-benzofuran2yl) sulfonyl] pyridazine-3(2H)-one

En 2003, Mylari et *al* ont fait état du développement d'une nouvelle classe d'ARI dérivés de phénylsulfonyl nitro méthane présentant des propriétés remarquables. En effet, le composé 6-[(5-chloro-3-méthyl-1-benzofuran2yl)sulfonyl]pyridazine-3(2H) one faisant partie de cette classe a une valeur  $IC_{50}$  de l'ordre pico-molaire (840 pM), une sélectivité 1000 fois supérieure envers l'AR que par rapport à l'aldéhyde réductase, une biodisponibilité orale quasi parfaite ainsi qu'une efficacité *in vivo* marquée [57].



**Figure 16:** Structure de l'inhibiteur 6-[(5-chloro-3-méthyl-1-benzofuran2yl)

sulfonyl] pyridazine-3(2H) one PDB: 1Z89.



# *Chapitre 3*



## 1 Introduction

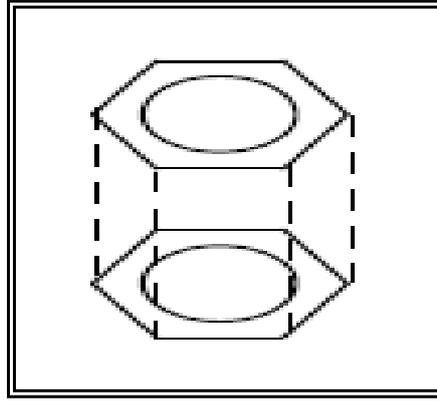
Dans le passé, la méthode expérimentale établie pour la recherche des ligands interagissant avec une protéine donnée est le criblage à haut débit (« HTS » en anglais). Cette méthode expérimentale consiste à tester *in vitro* l'affinité d'un très grand nombre de ligand envers une cible thérapeutique donnée. Les composés les plus prometteurs (ou "hits") sont par la suite optimisés en vue d'obtenir des candidats médicaments, ayant des caractéristiques proches de celles d'un médicament (« drug-like », en anglais) [58]. Ce processus étant très long et coûteux dure entre 12 à 15 ans pour un coût globale allant jusqu'à un milliard de dollars [1]. Avec le développement de l'outils informatiques durant les 20 dernières années, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire s'est très vite introduit dans le domaine de la recherche en biologie, où il devient un élément essentiel dans la découverte de médicaments modernes [47]. En effet, le docking (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules [58]. Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales *in vitro* [59][60].

## 2 Reconnaissance moléculaire

Le docking moléculaire s'intéresse particulièrement à l'étude des interactions intervenant lors de la formation de complexes moléculaires telles que: les interactions hydrophobes, les interactions électrostatiques et les liaisons hydrogène [61][62].

### 2.1 Interactions de Van Der Waals

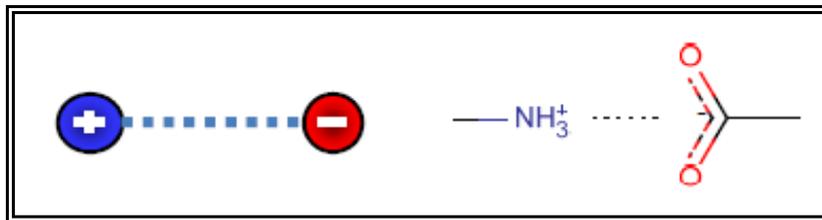
Les interactions de Van der Waals, également connues sous le nom d'interactions de London ou de forces de dispersion, impliquent des dipôles instantanés. Elles sont de faible intensité (ordre de grandeur du  $\text{kcal.mol}^{-1}$ ), mais elles sont néanmoins très importantes en pratique à cause de leur très grand nombre dans les complexes protéine-ligand [63].



**Figure 17:** Interactions de Van Der Waals [62]

## 2.2 Les interactions ioniques

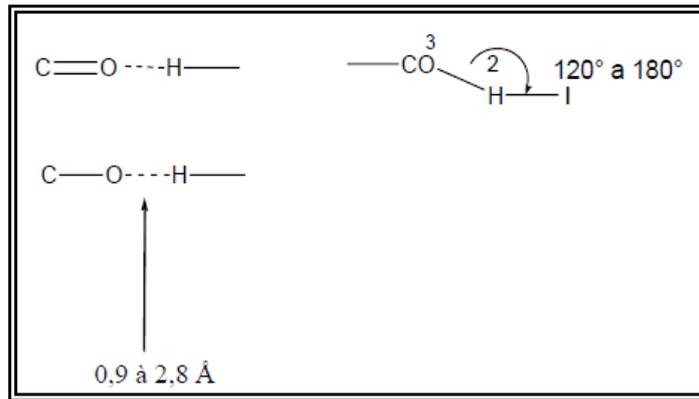
Les interactions ioniques ou ponts salins concernent les fortes interactions électrostatiques attractives entre deux ions de charges opposées [63]. La distance pour une liaison saline, par exemple, est de 3.7 à 4.5 Å, et sa force peut atteindre 8 Kcal/mol. En présence de solvant, ces interactions sont favorisées du fait de la polarité et de la petite taille de la molécule d'eau [62].



**Figure 18:** La liaison ionique [63]

## 2.3 Liaison hydrogène

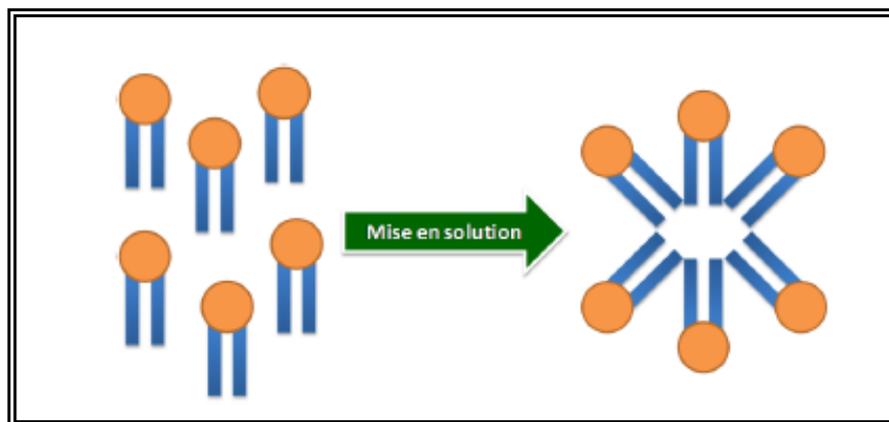
La liaison hydrogène est une liaison physique concerne la force attractive qui s'opère entre deux groupes d'atomes accepteur et donneur impliquant un atome d'hydrogène [64]. Cette liaison, avec une force de l'ordre de 2 à 4 Kcal/mol, agit dans les systèmes biologiques à très courte distance de 0.9 à 2.8 Å. Elles sont peu nombreuses et s'adaptent très bien à la flexibilité où l'angle peut varier de 120° à 180° [62].



**Figure 19:** Liaison hydrogène [62]

## 2.4 L'effet hydrophobe

Les molécules ou groupes d'atomes non polaires ne sont pas capables de former des liaisons hydrogène et ne peuvent donc pas s'hydrater [64][62]. L'effet hydrophobe est la tendance que possède ces groupes à se rassembler par coalescence de façon à minimiser les contacts avec l'eau. Les liaisons hydrophobes possèdent une énergie de l'ordre de 7 kcal/mol [63] [64].



**Figure 20:** Auto-organisation de molécules amphiphiles dans un solvant aqueux

Les zones orange représentent les parties hydrophiles et les queues bleues les chaînes hydrophobes [63]

## 3 Outils du docking moléculaire

Les éléments indispensables pour pratiquer un docking moléculaire se confinent en un récepteur macromoléculaire de nature protéique, une petite molécule appelée ligand et un programme de docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi [58].

### 3.1 Le récepteur

La Bank PDB (<https://www.rcsb.org/>) (« Protein Data Bank », en anglais) est la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques dont les protéines. Cette banque contient 141447 séquences de structures protéiques obtenues soit par cristallographie (rayons X), soit par RMN. Les coordonnées atomiques des structures se trouvent dans un format de référence, appelé *pdb*, lu par différents logiciels de visualisation, de modélisation, de criblage virtuel...etc. Donc il suffit de consulter la PDB et d'inscrire le nom de la structure pour télécharger le fichier du récepteur au format *pdb* indispensable à l'opération de docking moléculaire [101].

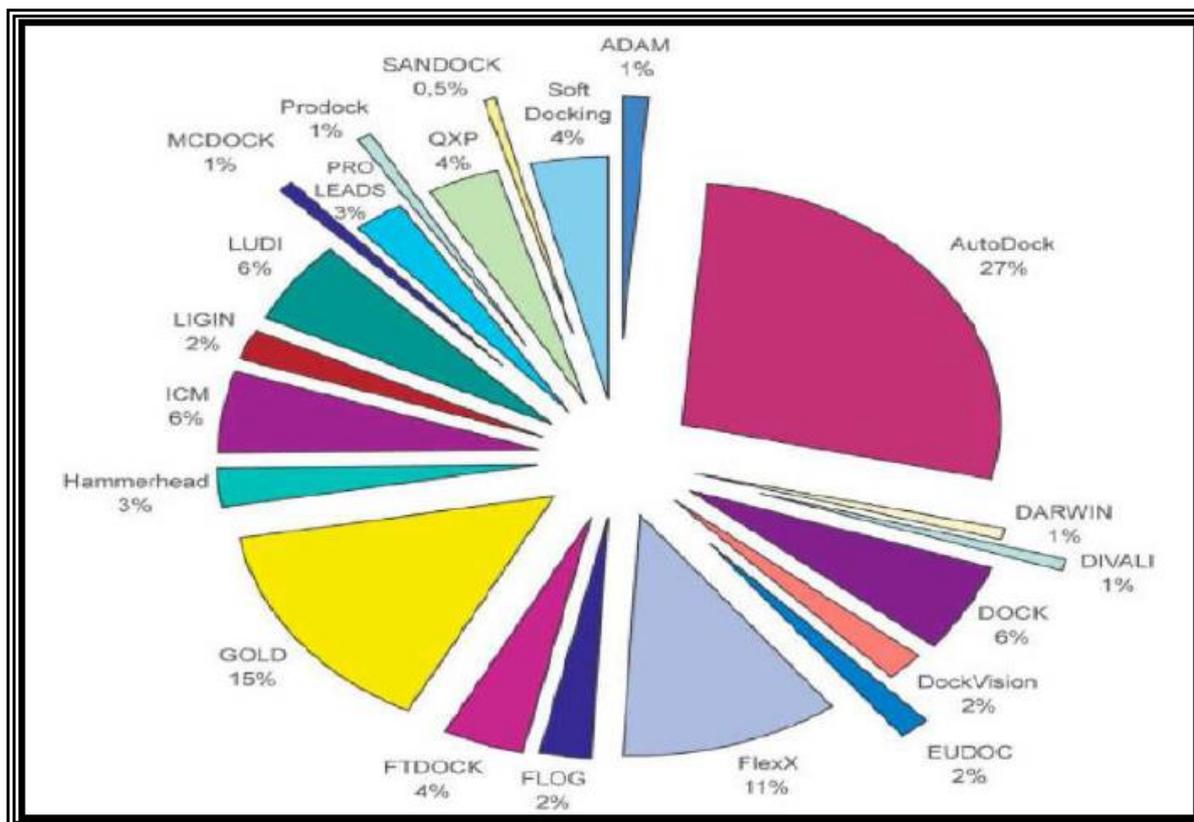
Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la Bank, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée [62].

### 3.2 Le ligand

En docking moléculaire, le choix du ligand est une étape très importante. Ce choix doit être pertinent en raison de la spécificité du site actif de la cible évitant de tester inutilement des molécules. Il y a deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné. Le premier consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (*pdb*, *mol*, *mol2*...etc) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl [58]. Le deuxième moyen consiste à consulter des banques de données de ligands (chimiothèques) fournissant un nombre très important de structures 3D de ligands prêtes pour le docking. Parmi les chimiothèques les plus utilisés, nous pouvons citer la PubChem, Zinc....etc [62].

### 3.3 Programme de docking moléculaire

Dans le domaine de docking moléculaire, plusieurs logiciels ont été utilisés pour étudier les différentes interactions existantes entre deux entités moléculaires [62]. A l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités sont respectivement : AutoDock, GOLD, Flex, DOCK et ICM [58].



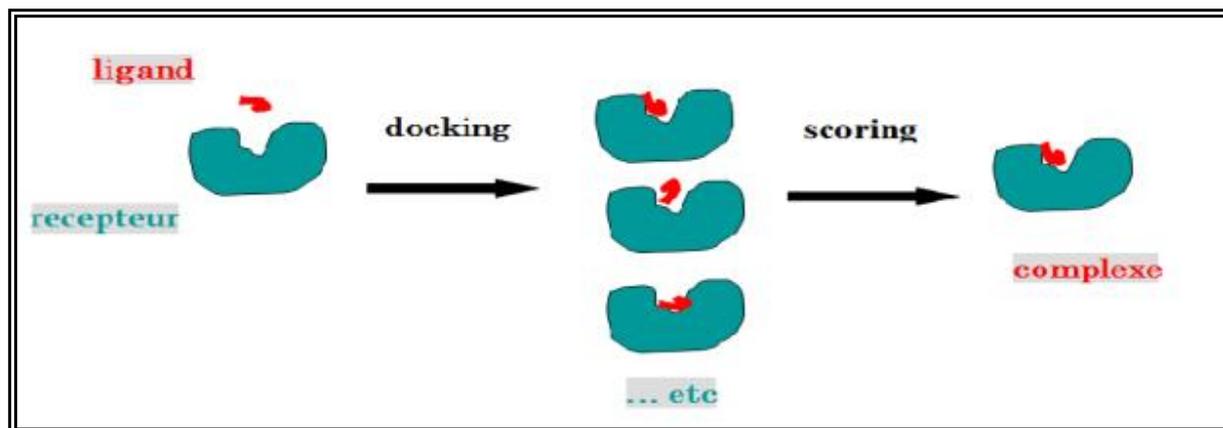
**Figure 21:** Comparaison des programmes de docking les plus cités

Comme le montre la figure 21, le programme AutoDock est le plus cité et le plus utilisé parmi les autres programmes de docking. Ce programme a été utilisé dans le présent travail afin de développer de nouveaux inhibiteurs de l'AR.

#### 4 Principe théorique

Un programme de docking moléculaire a pour but de prédire correctement le mode d'interaction entre deux entités chimiques, et de reconnaître parmi ceux-ci lequel est le meilleur. De ce fait, une simulation de docking s'accomplit en deux étapes essentielles :

- ✚ La première (Docking) est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles.
- ✚ La deuxième (Scoring) est l'étape de classement, permet d'évaluer les poses obtenues lors de la première étape pour ne retenir que les meilleures. Cette étape donne lieu à un score qui, dans le cas d'AutoDock, en Kcal/mol [65].



**Figure 22:** Principe général d'un programme de docking [62]

## 5 Le docking : du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité

Le premier modèle d'amarrage moléculaire mise au point par le chimiste allemand Heinz Emil Fischer à la fin du XIXe siècle considérait le récepteur et le ligand comme corps rigide en se basant sur le modèle « clé-serrure » [64]. C'est sans aucun doute la catégorie la plus simple et rapide de docking. Mis en marche plus tard, le docking semi-flexible "asymétrique" est généralement utilisé pour l'amarrage protéine-ligand, le ligand étant considéré comme flexible, la protéine reste rigide. Le docking flexible, quant à lui, traite la flexibilité des deux molécules, mais la flexibilité de la protéine est limitée pour simplifier les modèles [61].

La quasi-totalité des programmes de docking utilisés actuellement proposent une approche qui prend en compte la flexibilité du ligand, et un récepteur rigide. L'utilisation de tels programmes mènent à de bons résultats, principalement quand la protéine a une flexibilité limitée. En effet, dans de tels cas, la structure cristallographique peut être considérée comme plus représentative de l'état de la protéine dans son environnement naturel, ce qui augmente les chances de simuler correctement le mode d'interaction protéine-ligand [58].

## 6 Algorithmes de docking

Les algorithmes de docking ont été conçus pour rechercher de façon objective, rapide et efficace les modes d'association protéine-ligand les plus favorables [62]. Ces algorithmes peuvent être divisés en deux catégories principales selon la méthode utilisée :

- ✚ L'ajustement de fragments.
- ✚ Simulation par trajectoire [58].

## 6.1 L'ajustement de fragments (Reconstruction)

Dans un premier temps le ligand est découpé en parties rigides et flexibles. Entre les points ou des rotations sont possibles, une ou plusieurs ancres rigides sont définies. Ensuite, une première partie rigides est mise en interaction avec le récepteur, puis les parties flexibles sont ajoutées de manière successive avec une exploration des angles de torsion [66]. Des logiciels tels que DOCK ou SURFLEX utilisent cette approche qui permet notamment un criblage rapide [67].

## 6.2 Simulation par trajectoire (Aléatoire)

Cette approche, est plus précise : à partir d'une position initiale aléatoire, à l'extérieur du site actif, le ligand considéré dans son entier explore le site étudié par la répétition successive de mouvements et d'évaluations de l'interaction ligand-récepteur [58] AutoDock fait partie de la seconde catégorie [67].

## 7 Programme utilisé : AutoDock

AutoDock est le programme d'amarrage le plus populaire grâce à sa grande précision et sa polyvalence ayant élargi son utilisation [68]. Ce programme permet de prédire l'interaction des ligands avec des cibles bio-macromoléculaires [69]. Développé par Morris, où la version actuelle utilisant *l'algorithme génétique Lamarckian* et la fonction de notation empirique d'énergie libre fournira généralement des résultats d'amarrage reproductibles pour des ligands avec environ 10 liaisons flexibles [69][70].

Un format *PDB* étendu, appelé *PDBQT*, est utilisé pour les fichiers de coordonnées, qui incluent les charges partielles atomiques et les types d'atomes [69].

Les calculs AutoDock sont effectués en plusieurs étapes par les trois sous programmes :

- ✚ Préparation des fichiers de coordonnées avec AutoDockTools
- ✚ Pré-calcul des affinités atomiques avec AutoGrid,
- ✚ Ancrage des ligands avec AutoDock
- ✚ Analyse des résultats avec AutoDockTools [69].



# *Chapitre 4*



Notre travail de master avait pour objectif essentiel de s'initier aux approches de modélisation par docking moléculaire afin de proposer de nouvelles molécules inhibitrices de l'AR ; cible thérapeutique pour le traitement symptomatique du diabète. Pour concrétiser la partie pratique de notre travail, nous avons utilisé le matériel suivant :

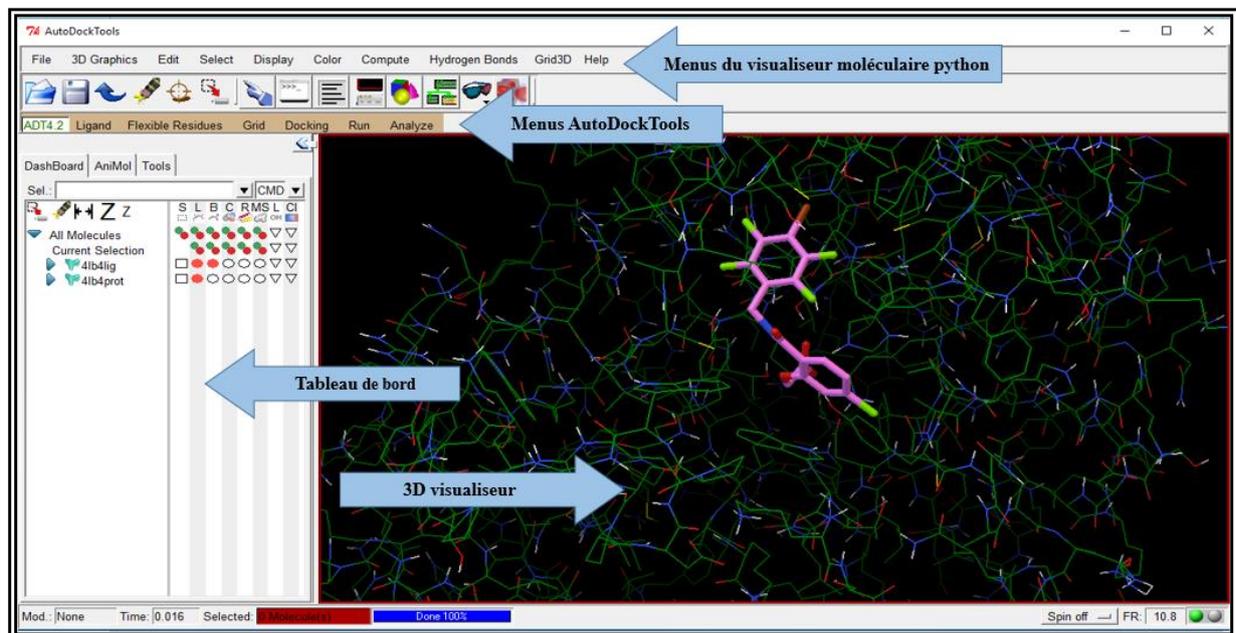
## 1 Matériel

### 1.1 Microordinateur

Les calculs de docking moléculaire ont été réalisés à l'aide d'un microordinateur ayant une mémoire vive de 4 Go et un processeur Intel (R) Core (TM) i5 8th Gen0. Tous les programmes ont été installés sous le système d'exploitation Windows 10. 64 bits version 2018.

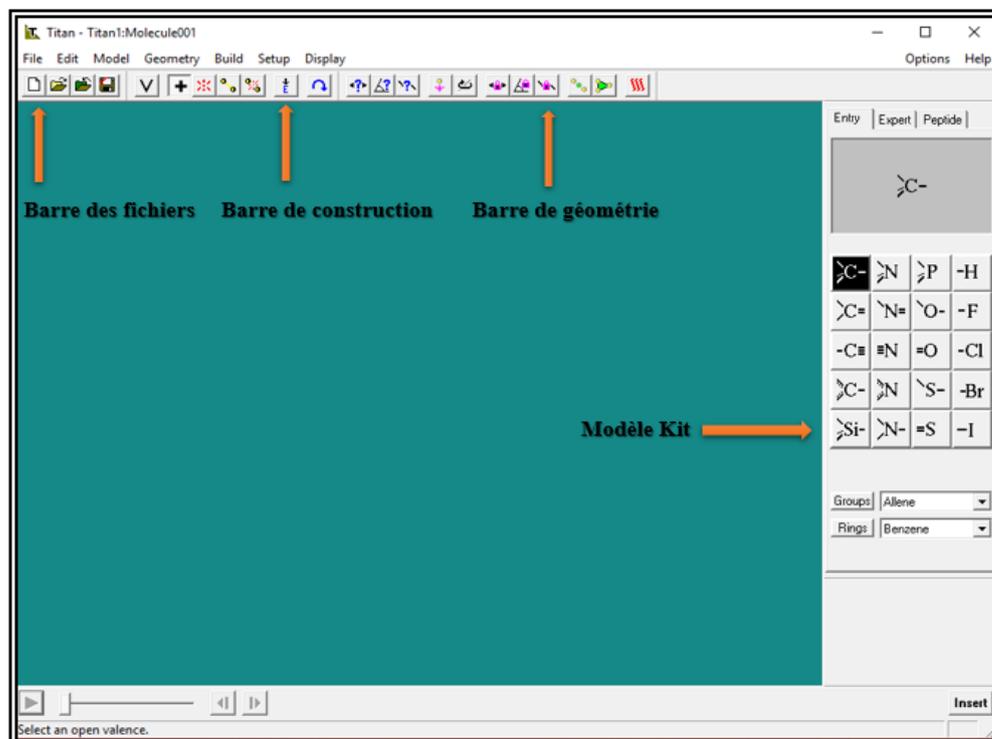
### 1.2 Logiciels :

Le docking moléculaire a été réalisé à l'aide du programme **AutoDock version 4.2.6 [69]**. Il s'agit du programme le plus utilisé en docking moléculaire dans le monde. Ce programme est composé d'un ensemble de trois sous-programmes qui sont : AutoTors, AutoGrid et AutoDock. Il utilise l'approche de simulation par trajectoire en s'appuyant sur *l'algorithme génétique Lamarckian (AGL)*. Cet algorithme permet l'exploration d'un espace conformationnel très important tout en générant des résultats plus fiables.



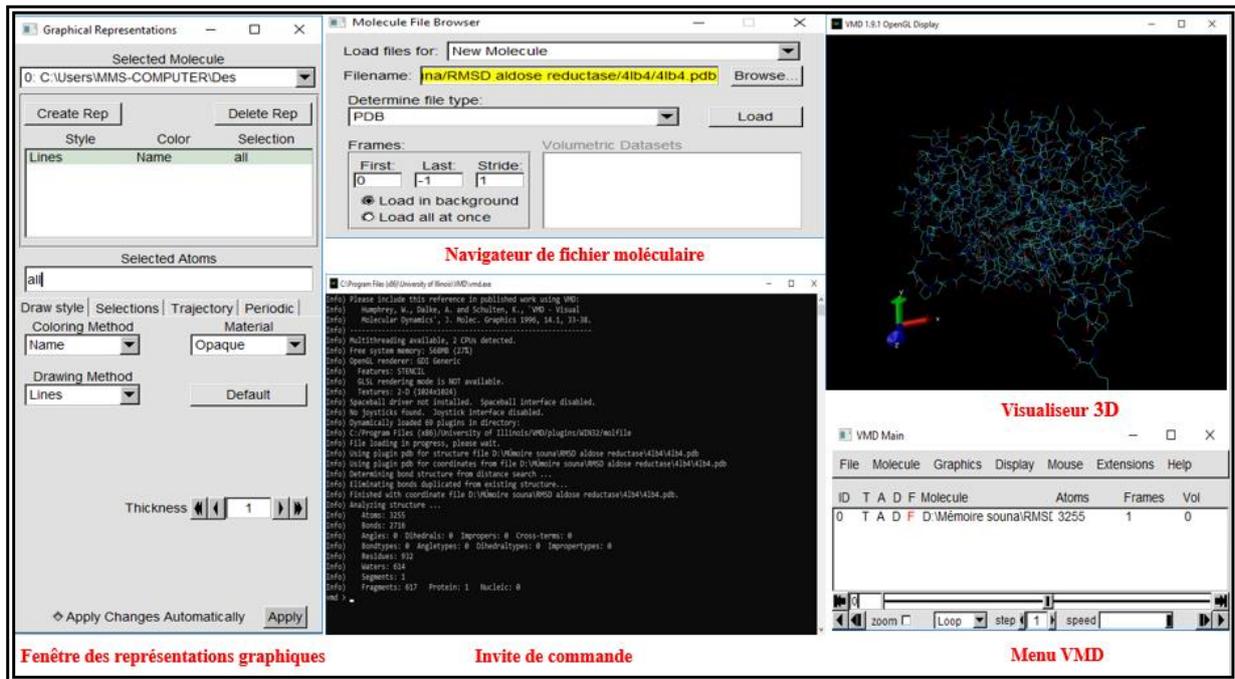
**Figure 23:** L'interface graphique de logiciel AutoDock

La construction moléculaire a été menée à l'aide du programme **Titan version 1.0.1**. Ce programme nous a permis de construire des modèles 3D des ligands à partir de leur structure 2D provenant de la littérature. Ces modèles ont été optimisés géométriquement grâce à l'algorithme de minimisation de l'énergie incluse dans Titan.



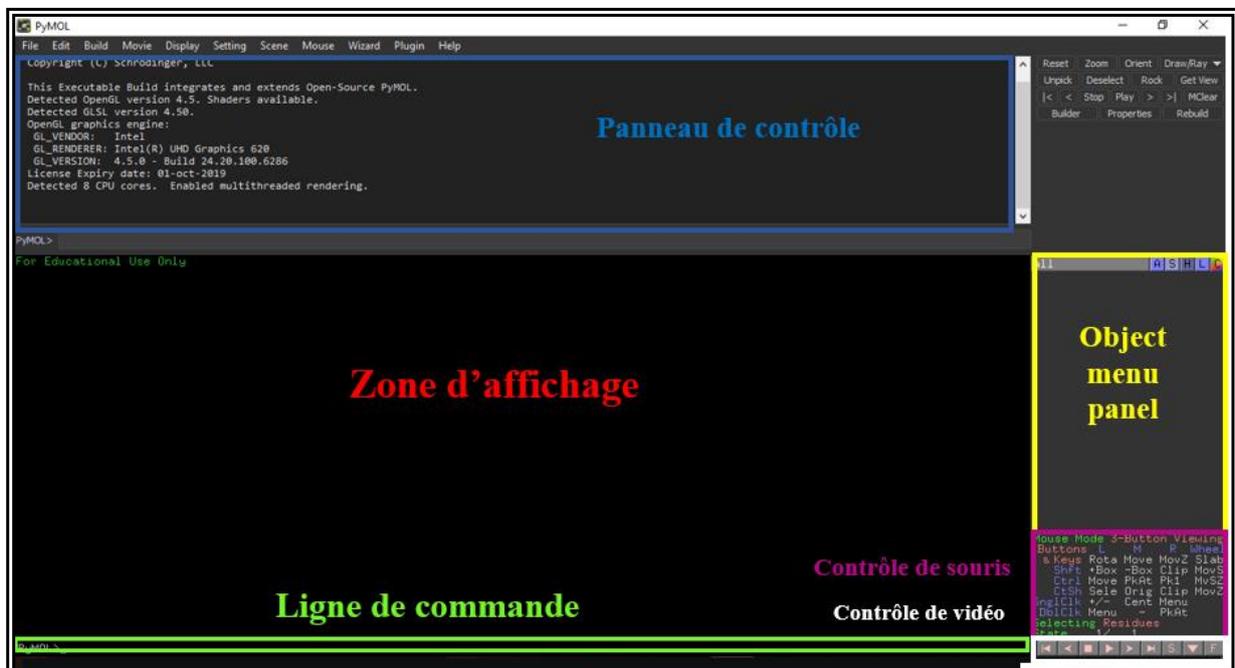
**Figure 24:** L'interface graphique du logiciel Titan

Le programme **VMD 1.9.1** (Visual Molecular Dynamics) est un programme de visualisation moléculaire conçu pour l'affichage et l'analyse d'assemblages moléculaires. Ce programme peut afficher simultanément un nombre illimité de structures à l'aide d'une grande variété de styles de rendu et de méthodes de coloration. VMD est un logiciel libre téléchargeable sur le site (<https://www.ks.uiuc.edu/Development/Download/download.cgi?PackageName=VMD>). Dans notre travail, ce programme nous a aidé aussi bien à préparer les complexes protéiques que dans la visualisation du positionnement des différents ligands au sein du site actif cible [71].



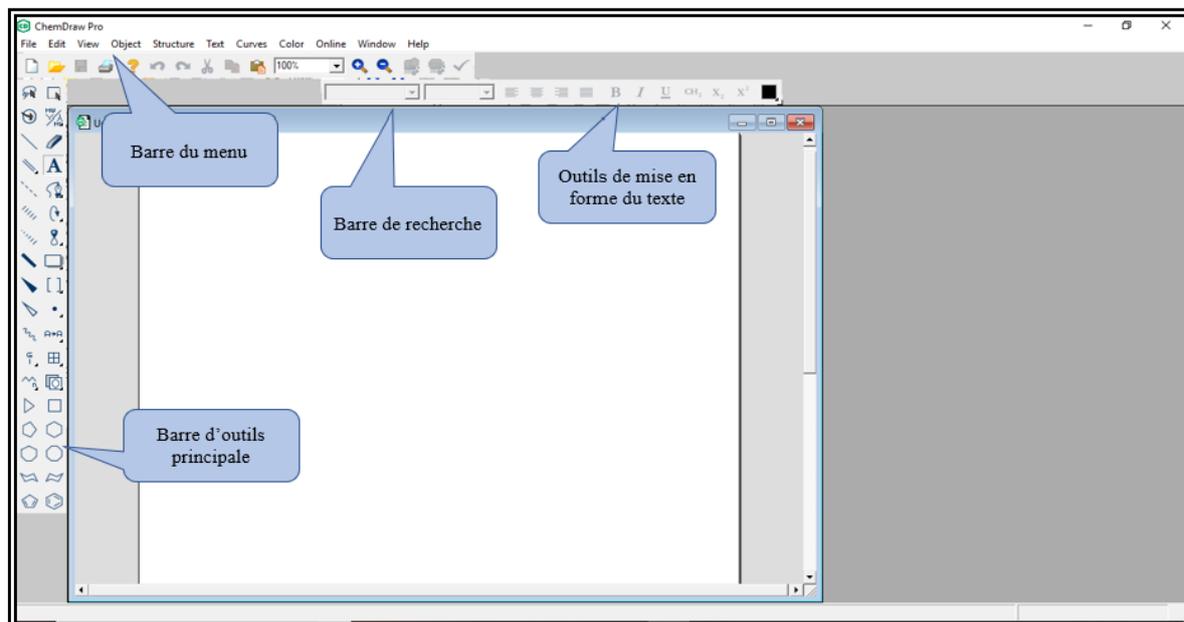
**Figure 25:** L'interface graphique du logiciel VMD

Nous avons également utilisé le programme **PyMol 2.3** permettant l'affichage et l'analyse des données moléculaires et la création des images d'une qualité de visualisation sans égale. Ce logiciel, géré et distribué par Schrödinger, est téléchargeable sur le site (<https://pymol.org/2/>).



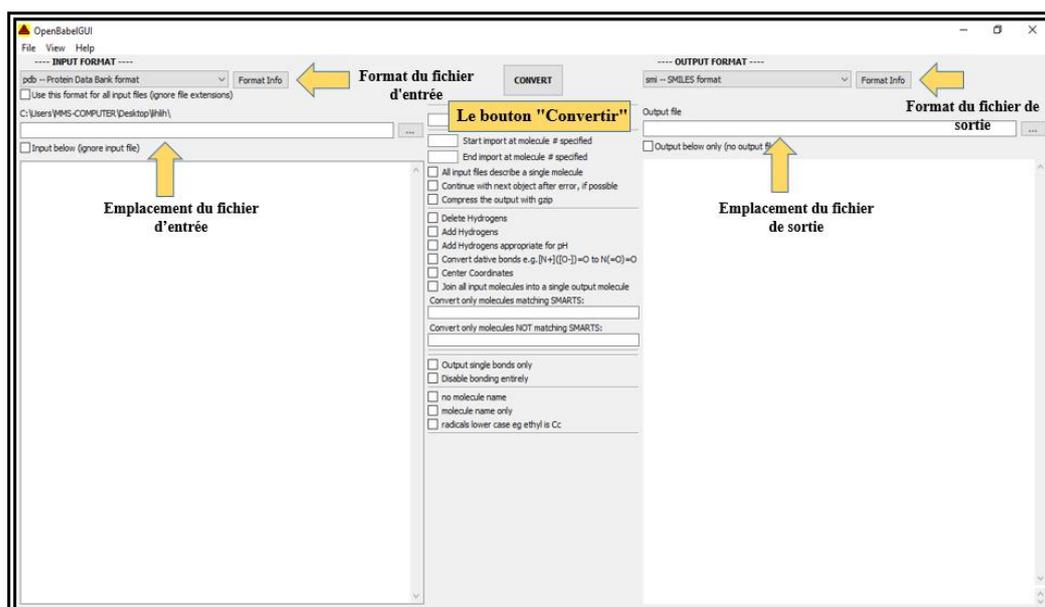
**Figure 26:** L'interface graphique du logiciel Pymol

Le logiciel **ChemDraw** est un éditeur de molécules faisant partie de la suite de programmes ChemOffice. Ce logiciel a une interface de dessin chimique basique mais puissante (voir figure 27). Dans notre travail, il a été utilisé afin de dessiner les différentes structures pour pouvoir les représentées dans notre manuscrit.



**Figure 27:** L'interface graphique du logiciel ChemDraw

**OpenBabel 2.0.2** est un logiciel libre, qui facilite l'inter conversion des données chimiques des fichiers d'un format à un autre. Il est disponible sur (<https://sourceforge.net/projects/openbabel/files/openbabel/2.0.2/>). Dans notre travail, nous l'avons utilisé pour la conversion des fichiers de structures chimiques.



**Figure 28:** L'interface de logiciel OpenBabel

Excel est un logiciel de la suite bureautique Office de Microsoft. Il permet de créer facilement des tableaux, des graphes...etc. Ce logiciel a été utilisé pour générer la courbe de corrélation linéaire.

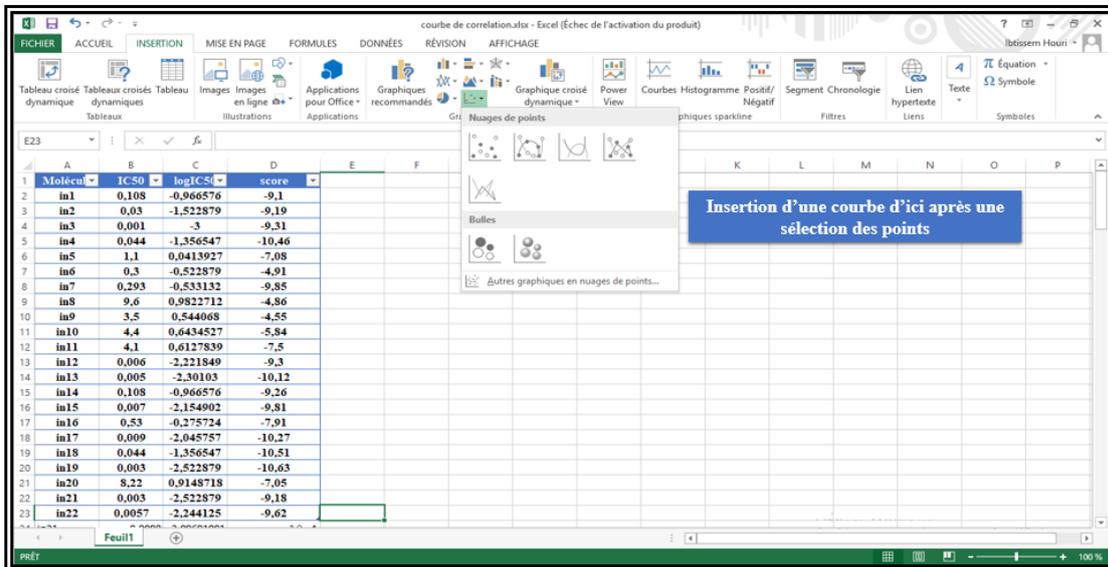


Figure 29: Le logiciel Excel

### 1.3 Banques de données

La Protein Data Bank (*PDB*) est la principale banque de données de structures tridimensionnelles de macromolécules biologiques. Cette banque nous a fourni des structures 3D des complexes cristallographiques AR/ inhibiteur.

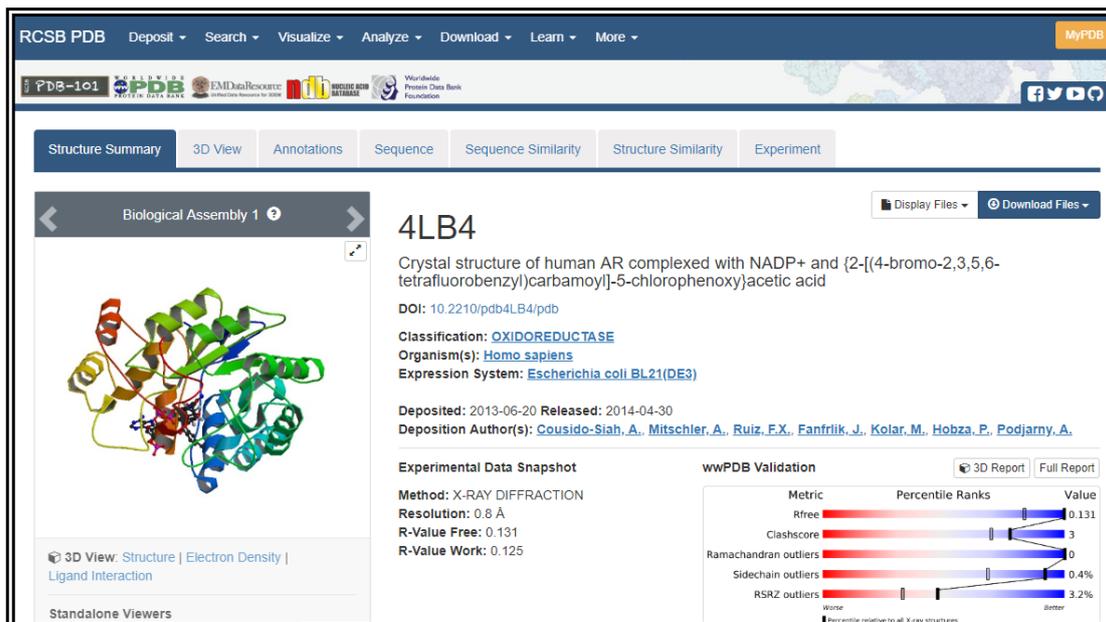
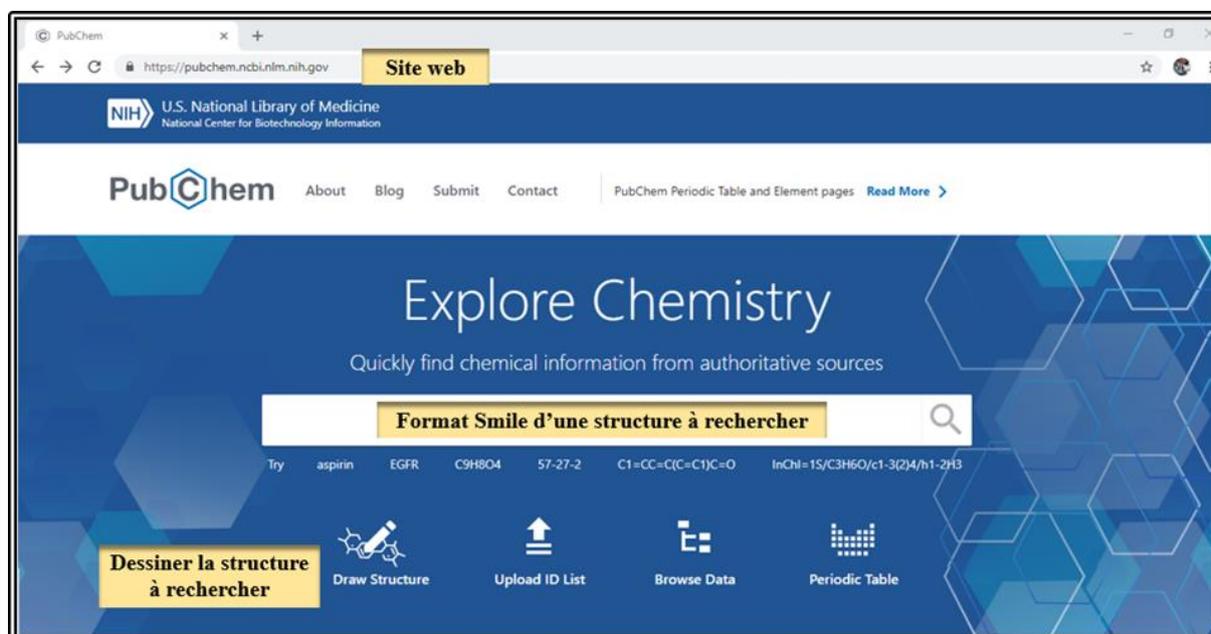


Figure 30: L'interface de la Protein Data Bank

La **Pubchem** est une banque de données de molécules chimiques gérée par NCBI (le National Center for Bio technology Information). Elle répertorie plus de 94 millions de composés en mettant en ligne, gratuitement une grande quantité de données de divers ordres. Cette banque a été utilisée afin de promouvoir les similaires structuraux de notre ligand.



**Figure 31:** L'interface de la Pubchem

## 2 Méthodes

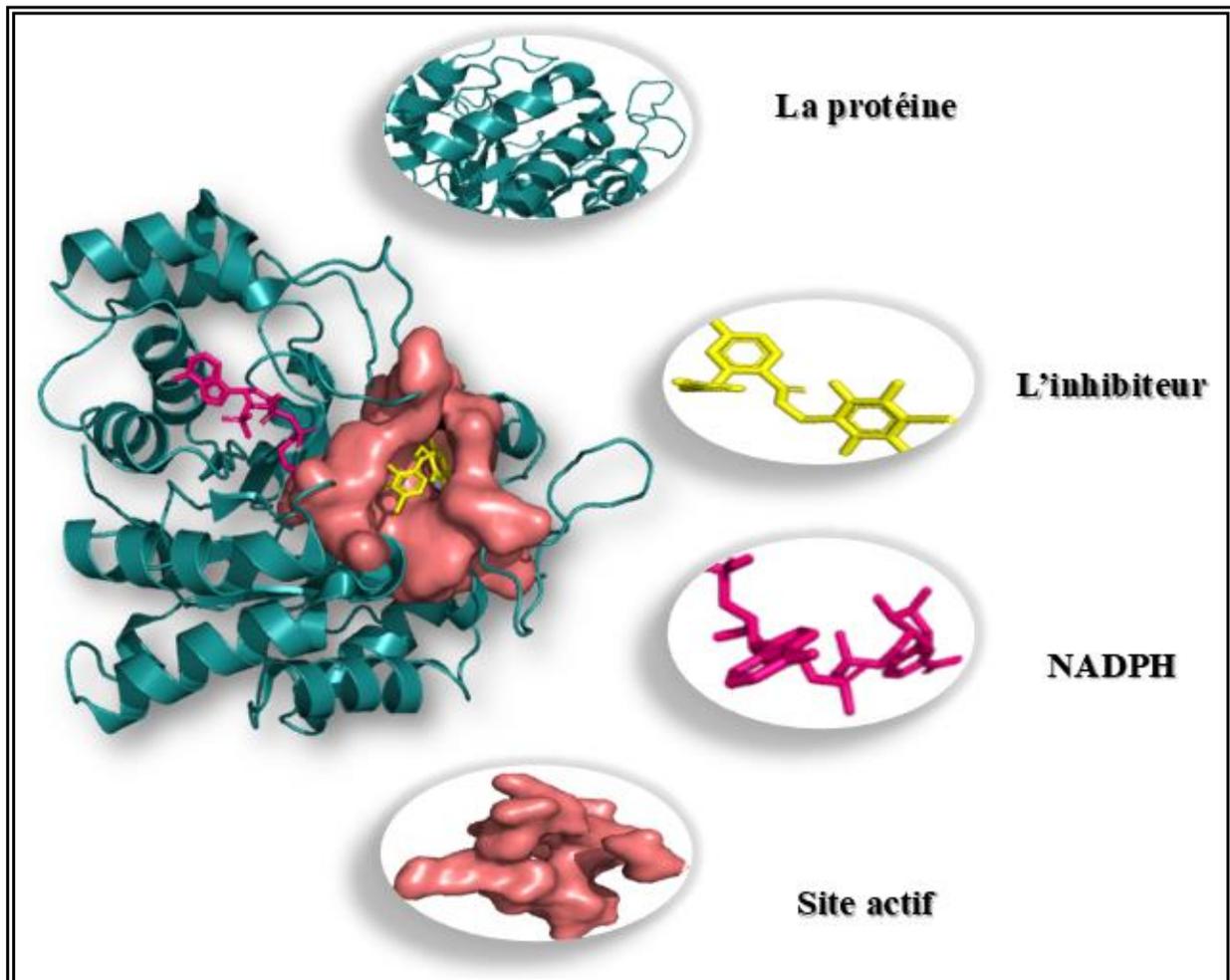
### 2.1 Le choix de la protéine

La cible thérapeutique l'AR, faisant l'objet de notre étude, est disponible sous format *pdb* via la banque de donnée PDB. Cette dernière nous a proposé 14 complexes AR humaine / inhibiteur avec une résolution inférieure à 2 Å. Les codes *pdb* de ces complexes ainsi que leur résolution sont représentés dans le tableau 1.

**Tableau 1:** Les complexes AR humaine/Inhibiteur avec leur résolution.

Code du complexe PDB	Code de l'inhibiteur	Résolution (Å)
<b>4LAU</b>	W8X	<b>0.843</b>
<b>4IGS</b>	64I	<b>0.85</b>
<b>4LB3</b>	M15	<b>0.8</b>
<b>4LB4</b>	1WX	<b>0.8</b>
<b>4LBR</b>	4O9	<b>0.8</b>
<b>4GCA</b>	2X9	<b>0.9</b>
<b>3U2C</b>	SUZ	<b>1</b>
<b>1Z3N</b>	3NA	<b>1.04</b>
<b>2FZD</b>	TOL	<b>1.08</b>
<b>2PDG</b>	47D	<b>1.42</b>
<b>1Z89</b>	62P	<b>1.43</b>
<b>3G5E</b>	Q74	<b>1.8</b>
<b>3V35</b>	NTI	<b>1.9</b>
<b>3S3G</b>	TLT	<b>1.8</b>

Parmi ces structures cristallographiques, nous avons choisi celle portant le code **4LB4** ayant la plus faible valeur de résolution (0.8 Å). Ce complexe obtenu via la *PDB* ne peut pas être utilisé directement en docking moléculaire sans une préparation préalable. En effet, la protéine de ce complexe a été séparée de son ligand co-cristallisé afin d'obtenir un récepteur avec un site actif libre. Par la suite, les molécules d'eau ainsi que les ligands étrangers, ayant servi à la cristallographie, ont été aussi éliminés. La cible ainsi préparée a été exportée sous le format *pdb*.



**Figure 32:** Complexe 4LB4 avec l'inhibiteur 1WX

## 2.2 Les ligands

Les ligands faisant objet de notre étude ont été dessinés à l'aide du programme Titan. Lors de leur construction 3D, nous avons pris en compte l'état d'hybridation de chaque atome. Par la suite, l'énergie d'interaction intramoléculaire a été minimisée en employant la méthode semi-empirique *Austin Model 1*. Enfin les ligands construits sont enregistrés sous format *pdb*.

## 2.3 Le protocole d'utilisation d'AutoDock

La procédure de simulation avec le programme AutoDock se produit en 5 étapes :

### 2.3.1 Préparation du récepteur

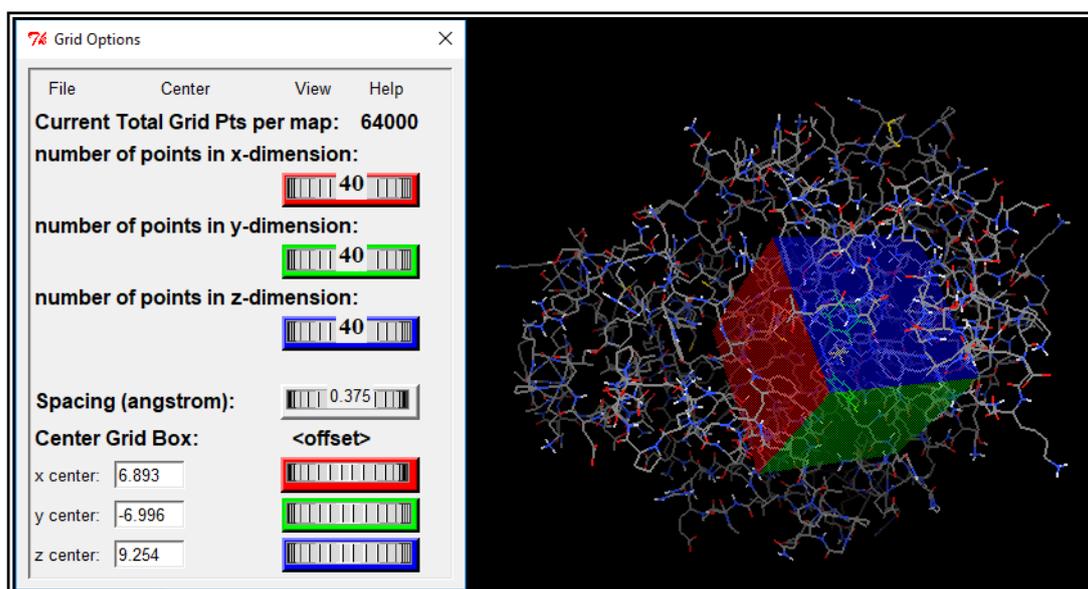
Le sous-programme AutoTors nous a permis de préparer la cible en y ajoutant les hydrogènes manquants. Par la suite, les charges partielles de type "Kollman" ont été assignées avant d'exporter le fichier de la protéine sous le format *pdbqt* (format propre à AutoDock).

### 2.3.2 Préparation des ligands

Les ligands précédemment dessinés et enregistrés sous le format *pdb* ont été traités par AutoTors en contrôlant leurs mouvements tout en définissant automatiquement leurs atomes aromatiques, leurs liaisons flexibles ainsi que leurs angles de torsion. Ces données ont été exportées sous le format *pdbqt*.

### 2.3.3 Calcul des grilles de potentiel

Les grilles de potentiels sont calculées par le programme AutoGrid 4 selon les instructions du fichier de paramétrage qu'on lui fournit. Ce fichier de paramétrage est un fichier texte dont l'extension *gpf* (*Grid Parameters File*). Lors du docking moléculaire, le programme AutoDock utilise une boîte 3D englobant largement le site actif de la cible. Dans notre cas, le centre de cette boîte ( $X = 6.893$ ,  $Y = -6.996$ ,  $Z = 9.254$ ) ainsi que ses dimensions ( $40 \times 40 \times 40 \text{Å}$ ) sont proportionnels à la taille des ligands étudiés. Par la suite, le sous-programme AutoGrid calcule l'affinité entre les différents types d'atomes de la protéine (C, H, O, N et S) et le ligand. Les résultats sont générés dans un fichier texte avec l'extension *glg*, nécessaire pour les calculs de docking moléculaire.



**Figure 33:** Position de la boîte d'amarrage dans le site actif de la **4LB4**.

### 2.3.4 La recherche des solutions d'amarrage

Le programme AutoDock exige un fichier texte d'extension *dpf* (*Dock Parameters File*) afin de pouvoir lancer les calculs de docking moléculaire. Ce fichier de paramétrage comporte les informations suivantes :

- 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).
- L'algorithme de recherche à utiliser avec les paramètres associés.

Dans notre étude, nous avons utilisé l'AGL avec ses paramètres par défaut :

- La taille de la population (150).
- Le nombre maximum d'évaluations d'énergie (2500000).
- Le nombre maximum de générations (27000).
- Le niveau de sélection élitiste : le nombre des meilleurs individus qui survivent automatiquement à la génération suivante. La valeur standard est 1.
- Le taux de croisement (0.8).
- Le taux de mutation (0.02).
- Le nombre de cycles à exécuter, c'est-à-dire le nombre de solutions souhaitées (10).

### 2.3.5 Analyse des résultats

Suite aux calculs de docking moléculaire, AutoDock génère un fichier *output* de format *dlg* (*Digital Line Graph*). Ce fichier fournit les 10 meilleures positions de chaque ligand simulé dans le site actif de la cible, les valeurs relatives de l'énergie d'interaction, RMSD ainsi que les  $K_i$ .

## 2.4 Les tests de fiabilité du programme de docking

Afin d'évaluer la performance du protocole de docking moléculaire décrit précédemment, nous avons effectué trois tests de fiabilité :

- ✚ Le coefficient de corrélation ( $r$ ).
- ✚ L'écart quadratique moyen ou le RMSD (*Root Mean Square Deviation*).
- ✚ L'analyse visuelle.

### 2.4.1 Le coefficient de corrélation

Le coefficient de corrélation évalue le degré de similitude entre deux séries de variables attribués à une même série d'objets [72]. Ce test a été utilisé afin d'évaluer le degré de corrélation qui existe entre les énergies d'interaction de 67 inhibiteurs simulés par AutoDock et les valeurs de leurs IC<sub>50</sub> déterminées expérimentalement. Plus le coefficient de corrélation est proche des valeurs extrêmes -1 et 1, plus les deux variables sont corrélées, plus le programme est efficace.

The screenshot shows an Excel spreadsheet with the following data table:

Molécule	IC50	logIC50	Score
in1	0,108	-0,966576	-9,1
in2	0,03	-1,522879	-9,19
in3	0,001	-3	-9,31
in4	0,044	-1,356547	-10,46
in5	1,1	0,0413927	-7,08
in6	0,3	-0,522879	-4,91
in7	0,293	-0,533132	-9,85
in8	9,6	0,9822712	-4,86
in9	3,5	0,544068	-4,55
in10	4,4	0,6434527	-5,84
in11	4,1	0,6127839	-7,5
in12	0,006	-2,221849	-9,3
in13	0,005	-2,30103	-10,12
in14	0,108	-0,966576	-9,26
in15	0,007	-2,154902	-9,81
in16	0,53	-0,275724	-7,91
in17	0,009	-2,045757	-10,27
in18	0,044	-1,356547	-10,51
in19	0,003	-2,522879	-10,63

The formula for the correlation coefficient is shown as:

$$\text{Coefficient corrélation}(X, Y) = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2}}$$

**Figure 34:** Les étapes de calcul du coefficient de corrélation

### 2.4.2 Le test RMSD

L'aptitude d'un algorithme à trouver l'emplacement correct du ligand par rapport à son récepteur est habituellement déterminée au moyen de la Déviation Quadratique Moyenne ou RMSD (*Root Mean Square Deviation*) entre le modèle du ligand simulé par docking moléculaire vis-à-vis de celui de référence (déterminé expérimentalement). La valeur seuil admise est une différence maximale de 2 Å [73] [74].

Dans notre cas, le test de fiabilité du programme AutoDock par RMSD a été réalisé sur 100 complexes protéine-ligand pris de manière arbitraire via la PDB.

### 2.4.3 L'analyse visuelle

L'analyse visuelle faisant suite au test par RMSD est une étape complémentaire pour vérifier la fiabilité des simulations. Cette étape nous permet de vérifier la superposition du modèle de chaque ligand simulé vis-à-vis de sa pose de référence.

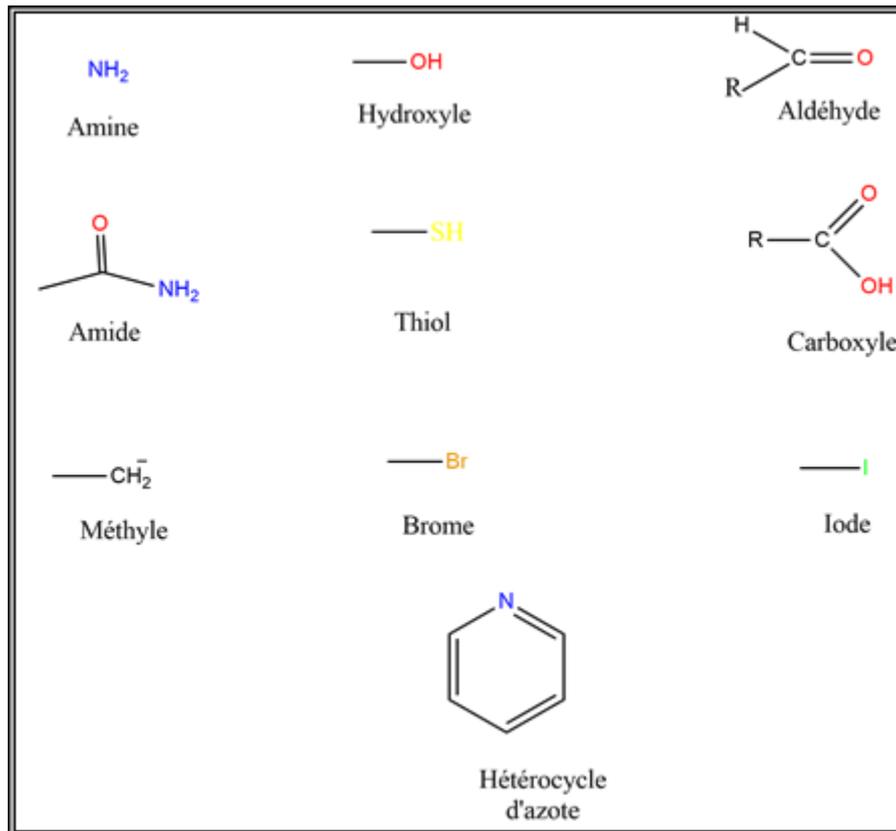
## 3 Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'AR

### 3.1 Criblage virtuel d'une collection de similaires

À l'issue de l'étude de corrélation linéaire, nous avons choisi, parmi les 67 inhibiteurs de l'AR, un composé ayant présenté un faible score ainsi qu'un mauvais profil ADMET. Afin d'améliorer davantage aussi bien son affinité envers l'AR que son profil ADMET, ce composé a été pris comme structure de départ afin d'obtenir une collection de composés similaires via la banque de données PubChem. Avec un taux de similarité allant jusqu'au 91%, cette banque de données nous a fourni 358 composés similaires. Cette collection de similaires a fait l'objet d'une campagne de criblage virtuel avec AutoDock.

### 3.2 Substitution

Par la suite, le composé similaire le plus prometteur a été sélectionné pour mener une étude de substitution. Cette étude consiste à faire varier sa structure de départ en vue d'améliorer son affinité envers la cible d'une part et son profil ADMET, particulièrement son absorption gastro-intestinale de l'autre part. Pour ce faire, plusieurs groupements fonctionnels présentant la capacité d'engager des liaisons hydrogène avec la cible ont été introduits sur la structure de départ et ce sur différentes positions.



**Figure 35:** Les différentes fonctions ajoutées

#### 4 Les propriétés ADMET

Outre une affinité qui lui confère une activité biologique, une molécule puissante doit atteindre sa cible dans le corps avec une concentration suffisante et y rester sous une forme bioactive suffisamment longtemps pour que les événements biologiques attendus se produisent. Un médicament une fois entré dans l'organisme, rencontre une série d'obstacles divers sur son chemin vers la cible. Dans l'ensemble, les propriétés d'un médicament concernant son absorption, sa distribution, son métabolisme, son excrétion et sa toxicité sont souvent désignés sous le terme de propriétés ADMET.

Dans notre travail, nous avons utilisé le serveur SwissADME accessible sur (<http://www.swissadme.ch>) afin de prédire les propriétés physicochimiques et la pharmacocinétique régissant les critères ADME des composés d'intérêt. Parmi ces critères, nous décrivons ici la règle de Lipinski [75], la règle de Veber [76], l'inhibition des cytochromes P450, l'absorption gastro-intestinale, le passage à la barrière hémato-encéphalique, l'accessibilité à la synthèse chimique ...etc.

## 4.1 Propriétés physico-chimiques

### 4.1.1 La règle de Lipinski

L'analyse chimio-informatique de la biodisponibilité d'un médicament est généralement évaluée par l'application de la règle de cinq, énoncé en 1997 par Christopher Lipinski [75]. Il a défini un ensemble de critères permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle (2D) [77].

- Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da).
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 5.
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 10.
- Le nombre de liaisons rotatives inférieur à 15.
- Le logarithme décimal du coefficient de partage eau / 1-octanol, noté LogP, doit être compris entre -2 et 5. Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule. S'il est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement [58].

### 4.1.2 La règle de Veber

En plus des propriétés moléculaires discutées par Lipinski, d'autres propriétés ont été étudiées en ce qui concerne la biodisponibilité orale. En 2002, Veber et *al* ont découvert que les molécules possédant moins de 10 liaisons flexibles et ayant une surface spécifique polaire inférieure à  $140 \text{ \AA}^2$  (ou un nombre de liaisons H inférieur à 12) présentaient généralement une biodisponibilité orale supérieure à 20 % [76].

### 4.1.3 L'inhibition des Cytochromes P450

La connaissance de l'interaction des molécules avec les cytochromes P450 (CYP) est également essentielle car cette superfamille d'isoenzymes est l'un des éléments clé dans l'élimination des médicaments par biotransformation métabolique. Il est à souligner qu'entre 50 à 90% des molécules thérapeutiques sont le substrat de cinq isoformes majeures (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4) [78][79]. L'inhibition de ces isoenzymes est certainement l'une des causes majeures des interactions pharmacocinétiques liées aux médicaments conduisant à des effets toxiques ou à d'autres effets indésirables [80] [81].

#### 4.1.4 La solubilité dans l'eau

La solubilité dans l'eau est l'un des paramètres les plus importants que doit posséder un composé pour atteindre sa cible avec la concentration souhaitée [82]. Elle représente un moyen de référence pour prédire la biodisponibilité et l'absorption des médicaments administrés par voie orale ou à l'usage parentéral [83].

### 4.2 Propriétés pharmacocinétiques

#### 4.2.1 L'absorption gastro-intestinal

L'administration de médicaments doit surmonter de nombreux obstacles, notamment l'environnement gastrique acide et la sécrétion continue de mucus qui protège le tractus gastro-intestinal. Un bon candidat médicament doit pouvoir traverser le tractus gastro-intestinal (GI) pour atteindre sa cible [84].

#### 4.2.2 LA BBB perméabilité

Le système nerveux central est bien protégé par la barrière hémato-encéphalique (Blood-Brain Barrier) (BBB) qui maintient son homéostasie. En raison de cette barrière, de nombreux médicaments potentiels pour le traitement de maladies du système nerveux central ne peuvent atteindre le cerveau à des concentrations suffisantes [85].

#### 4.2.3 Accessibilité à la synthèse

Des modifications structurales doivent être menées sur les composés actifs lors de leur optimisation. De ce fait, les composés dont la synthèse chimique est difficile à réaliser sont généralement éliminés. Dans notre travail, l'accessibilité à la synthèse chimique a été évaluée en valeurs allant de 1 (très facile à synthétiser) jusqu'à 10 (très difficile à synthétiser).

### 4.3 Les tests de toxicité

Les effets secondaires et la toxicité des composés sont des causes fréquentes d'échecs tardifs dans le développement des médicaments. Les modèles de prédiction informatique *in silico* offrent un moyen rapide dans le criblage de ces composés, car ils présentent non seulement un potentiel économique, mais engendrent également une série d'avantages écologiques : réduction des modèles animaux et essais cliniques risqués. Dans notre étude nous

avons fait recours au serveur web PreADMET afin de prédire la toxicité potentielle de nos meilleurs inhibiteurs.

#### 4.3.1 Le test d'AMES

Le test d'Ames est un test de mutation génique [86]. Il a été développé dans les années 1970 par Ames et ses collègues [87]. Ce test consiste à examiner, si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques (délétion, substitution et addition) chez différentes souches de *Salmonella typhimurium* qui sont auxotrophe pour l'histidine (His<sup>-</sup>) [88]. Les cellules mutantes retrouvent leur capacité à pousser sur un milieu sans histidine, induisant ainsi une réversion de la mutation au niveau de la souche testée et elle devient (His<sup>+</sup>) [89]. C'est habituellement un écran préliminaire avant l'expérimentation animale.

#### 4.3.2 Le test de hERG \_inhibition

Le gène hERG (human Ether-à-go-go-Related Gene) code pour un canal potassique générateur de tension qui est un composant clé dans la formation du potentiel d'action cardiaque. Le blocage pharmacologique du canal hERG provoque une mort subite [90]. La simulation des effets des composés sur le canal hERG offre des informations précieuses pour vérifier les effets secondaires proarythmiques potentiels [91].

#### 4.3.3 Le test de la toxicité aigüe de Daphnia

*Daphnia magna* est un micro crustacé d'eau douce. L'une des raisons pour laquelle ce modèle biologique est couramment utilisé en toxicologie c'est qu'il est facilement cultivé en laboratoire grâce à son cycle de vie court et sa fécondité élevée [92] [93].

#### 4.3.4 Le test de la toxicité aigüe sur les algues

Ce test permet d'évaluer la toxicité aigüe liée à l'utilisation du composé d'intérêt. Il consiste à déterminer le taux d'inhibition de la croissance des différentes espèces d'algues à savoir : (*Chlorella vulgaris*, *Selenastrum caprinortum* et *Scenedesmus subspicatus*) [94].

#### 4.3.5 Le test de la toxicité aigüe sur le Medaka

Le médaka japonais, (*Oryziaslatipes*), est largement utilisé dans les tests de toxicité aigüe [95]. C'est un petit poisson d'aquarium approprié pour évaluer l'oestrogénicité des composés perturbateurs du système endocrinien [96].

#### **4.3.6 Le test de la toxicité aigüe sur Minnow**

*Pimephales promelas* est une espèce de poisson largement utilisée pour une grande variété d'applications de recherche portant sur des sujets tels que l'évaluation de toxicité aigüe. Les poissons sont petits et faciles à élever en laboratoire. Ils ont un cycle de vie relativement court, engendrant des centaines d'œufs avec des taux de fertilisation et d'éclosion élevés [97].

#### **4.3.7 Le test de la cancérogénicité pour les souris et les rats**

Les études de cancérogénicité chez les souris et les rats ont joué un rôle essentiel dans l'identification de produits chimiques potentiellement dangereux pour l'homme. En fait, presque tous les agents cancérogènes connus chez l'homme sont également cancérogènes chez ces deux espèces [98].



# *Chapitre 5*



## 1 Les tests de fiabilité du programme de docking

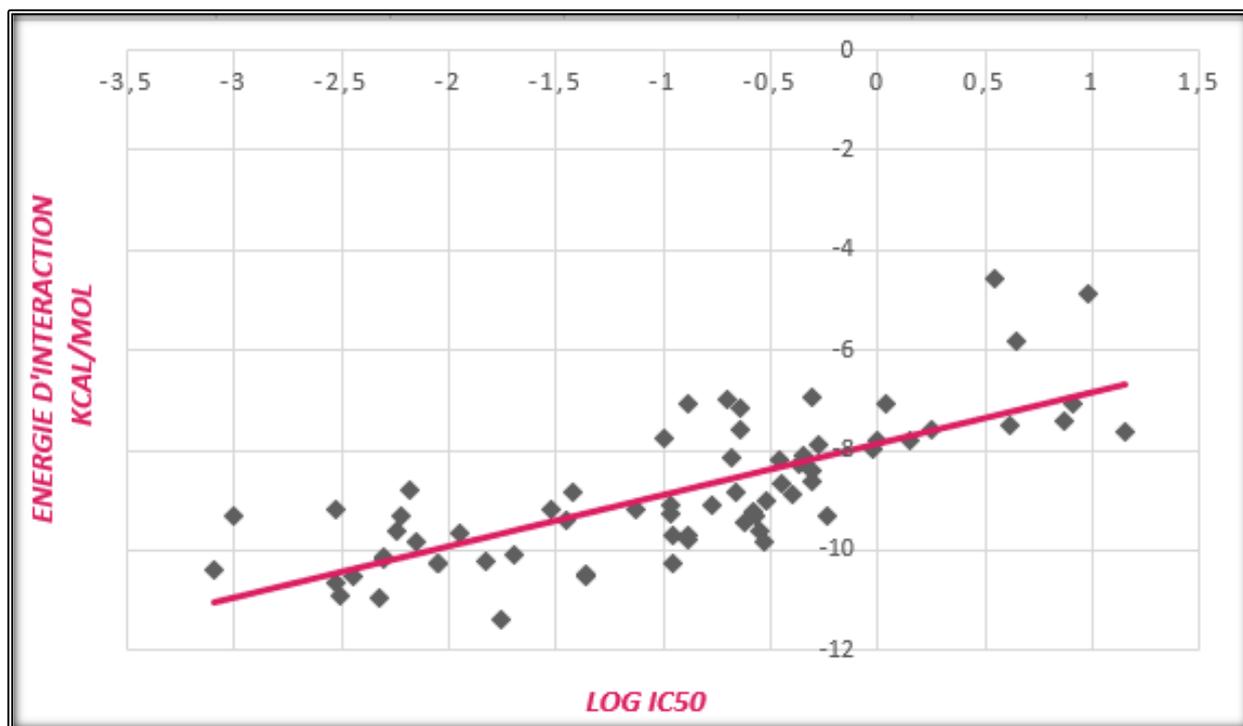
Afin de vérifier la fiabilité des simulations générées par AutoDock, nous nous sommes servis de trois tests de fiabilité qui sont :

- ✚ Le coefficient de corrélation ( $r$ ).
- ✚ L'écart quadratique moyen ou le RMSD.
- ✚ L'analyse visuelle.

### 1.1 Le coefficient de corrélation

Ce test consiste à évaluer le degré de corrélation existant entre les énergies d'interactions des inhibiteurs de l'AR données par AutoDock et les valeurs expérimentales de leur IC<sub>50</sub>. Parmi les 67 inhibiteurs de l'AR retenus dans cette étude, 22 proviennent de la PDB (de 1 à 22) et 45 sont fournis par la littérature (de 22 à 67). La disponibilité des valeurs de leur IC<sub>50</sub> est parmi les critères de choix de ces molécules. Les résultats des énergies d'interactions des inhibiteurs étudiés, leurs structures, ainsi que leur IC<sub>50</sub> sont représentées dans l'annexe 1.

L'analyse par régression linéaire entre les énergies d'interactions et les IC<sub>50</sub> (LogIC<sub>50</sub>) nous a permis d'obtenir un nuage de points (voir figure 36) avec un coefficient de corrélation égale à 0,75. Une telle valeur indique que les deux paramètres analysés sont fortement corrélés et ce conformément au travail de Mokrani [58].

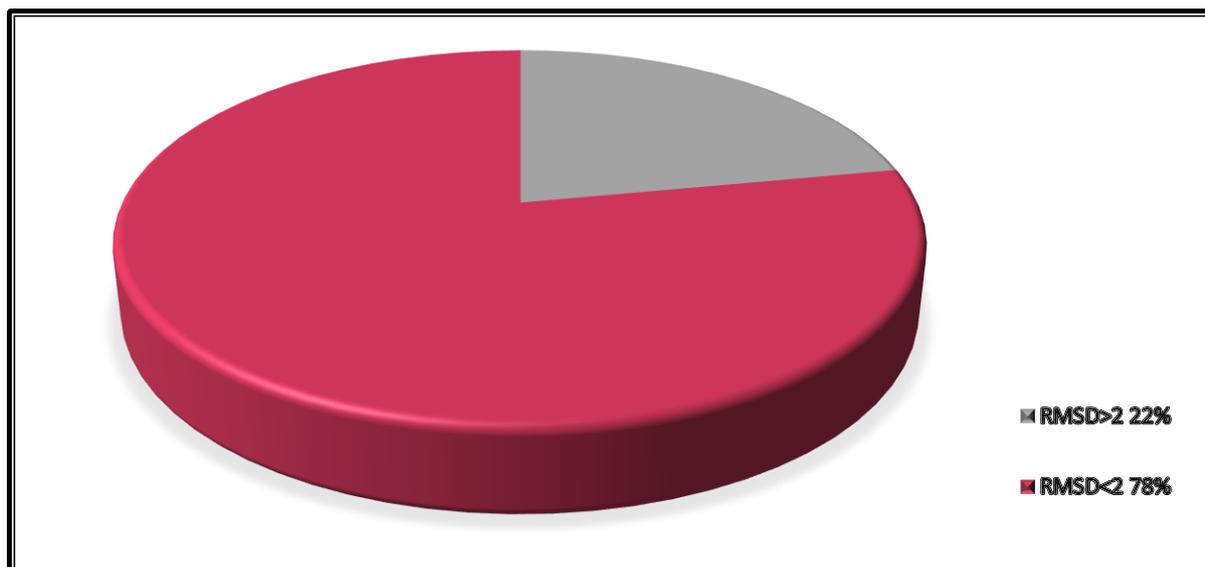


**Figure 36:** Régression linéaire entre les valeurs de LogIC<sub>50</sub> et les énergies d'interaction des inhibiteurs étudiés.

## 1.2 Le test RMSD (*Root Mean Square Deviation*)

Le deuxième test de fiabilité d'AutoDock utilisé dans cette étude consiste à calculer le RMSD entre la position d'un ligand simulée et celle de référence existante dans la PDB. Dans le présent travail, ce test a été réalisé sur 100 complexes protéine-ligand pris de manière arbitraire via la PDB. Les résultats du test RMSD des 100 complexes protéine-ligand sont représentés dans l'annexe N°2.

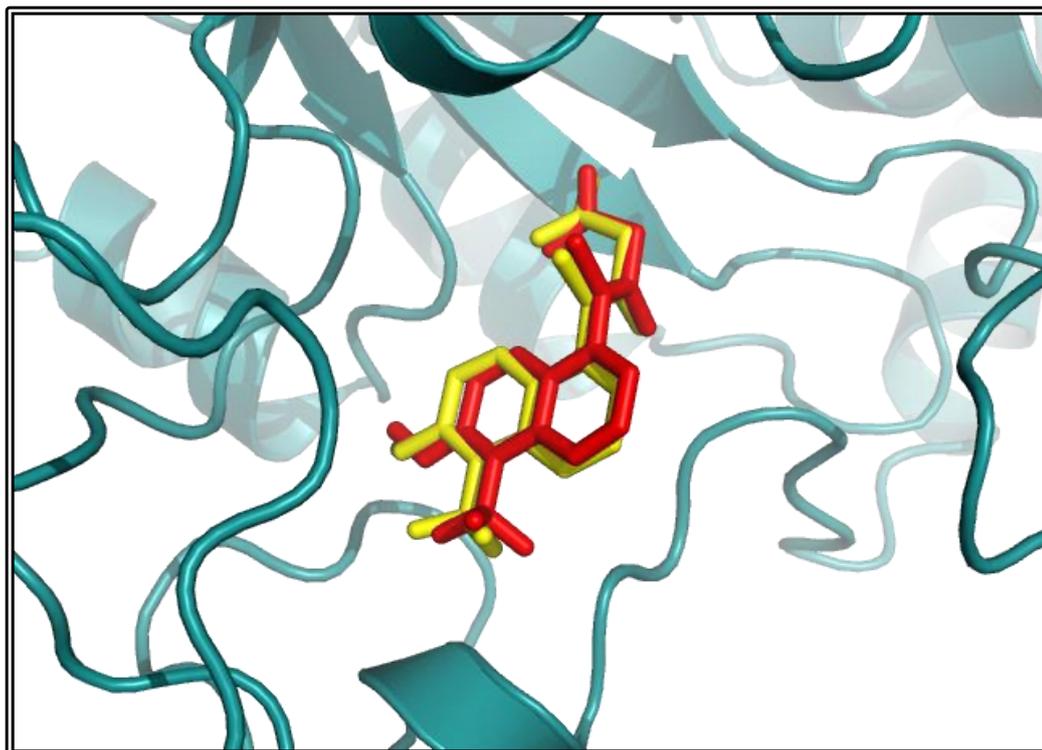
Il ressort de la figure 37 que 78% des valeurs de RMSD sont inférieures à 2 Å et que seulement 22% dépassent cette valeur norme. Conformément au travail de Krid. Y [99] révélant un taux de RMSD de 73% inférieur à 2Å. Donc le programme AutoDock simule correctement les interactions Protéine-Ligand.



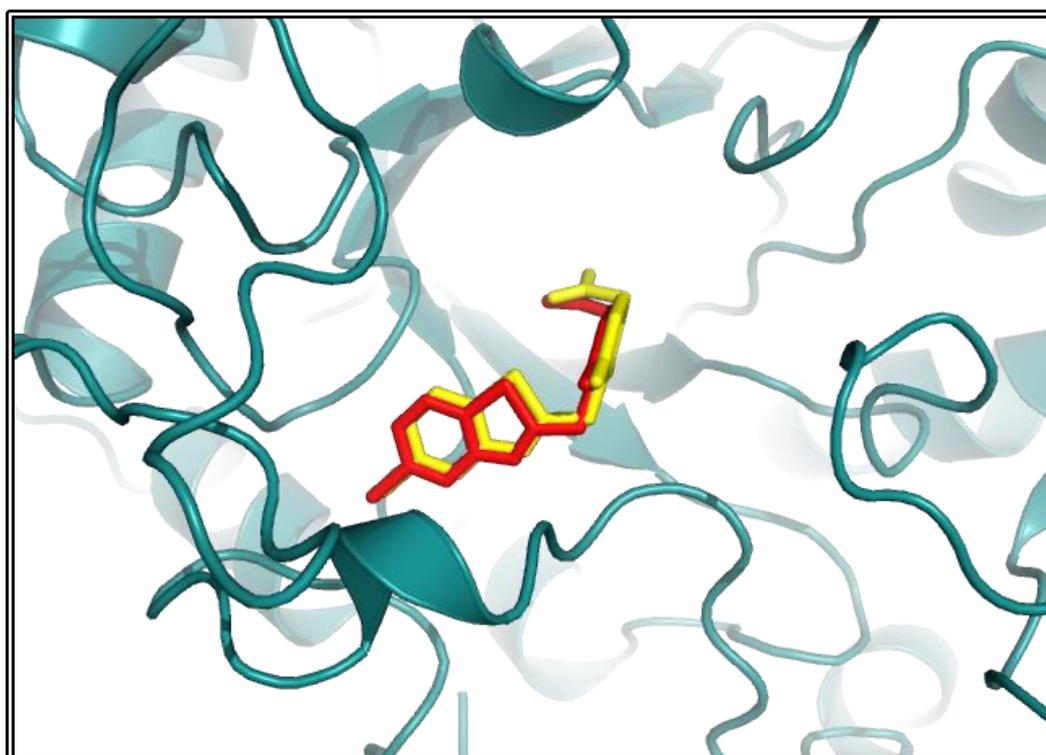
**Figure 37:** Résultat en pourcentage du test RMSD

### 1.3 Analyse visuelle

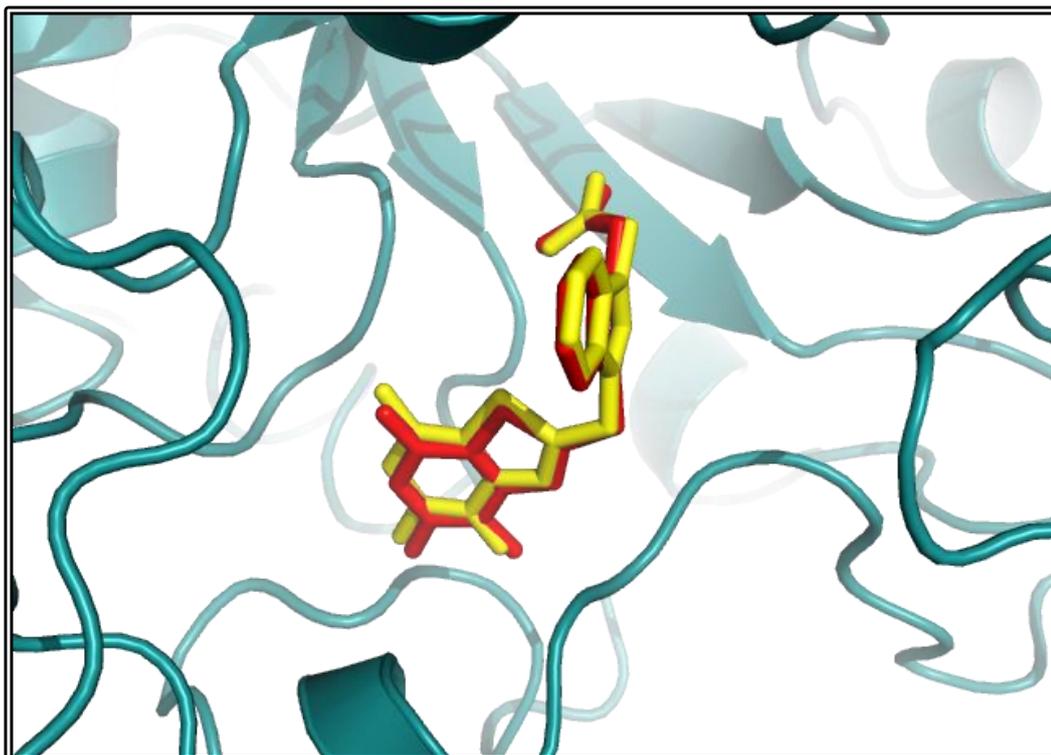
L'analyse visuelle est une étape essentielle pour confirmer les résultats du RMSD. Dans ce contexte, nous avons visualisé spécifiquement quatre complexes AR/inhibiteur afin de nous assurer de la performance d'AutoDock quant à notre enzyme cible. Il s'agit bien des complexes **2FZD**, **2PDG**, **3G5E** et **4LBR**. Comme le montre les figures 38, 39, 40 et 41, les valeurs faibles des RMSD obtenus se traduisent par une superposition entre les modèles des ligands simulés par AutoDock (en rouge) vis-à-vis des poses de références issues de la PDB (en jaune).



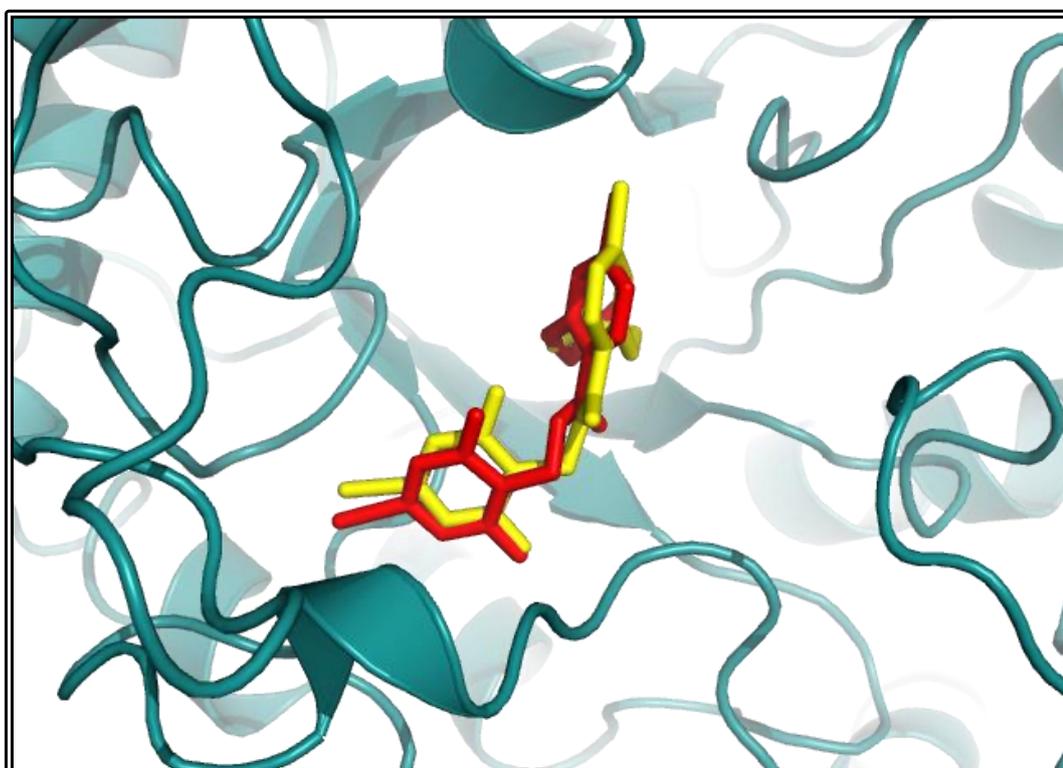
**Figure 38:** Superposition de la pose de référence du ligand **TOL** (jaune) et celle calculé par AutoDock (rouge) du complexe **2FZD**



**Figure 39:** Superposition de la pose de référence du ligand **47D** (jaune) et celle calculée par AutoDock (rouge) du complexe **2PDG**



**Figure 40:** Superposition de la pose de référence du ligand **Q74** (jaune) et celle calculée par AutoDock (rouge) du complexe **3G5E**



**Figure 41:** Superposition de la pose de référence du ligand **4O9** (jaune) et celle calculée par AutoDock (rouge) du complexe **4LBR**

## 1.4 Conclusion

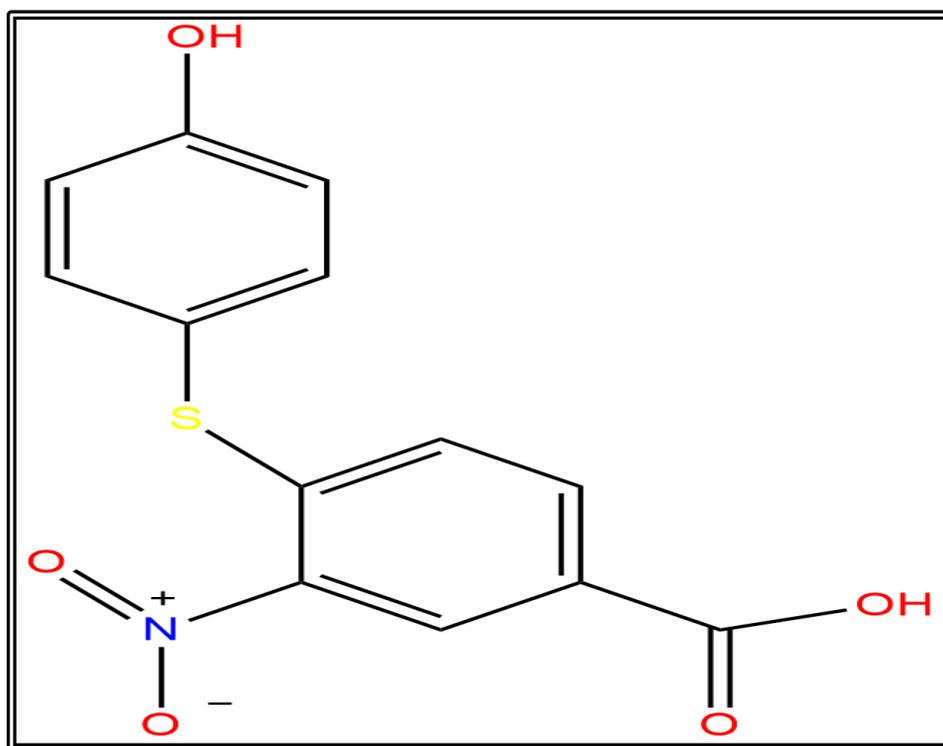
Les tests par régression linéaire, RMSD et l'analyse visuelle apportent la preuve de la performance d'AutoDock. Ce programme peut être utilisé sans trop risque d'erreurs pour étudier les interactions AR-inhibiteur.

## 2 Etude des interactions de l'Aldose réductase – inhibiteur

En regard des références bibliographiques énoncées ci-dessous, un inhibiteur de l'AR à attirer notre attention. Il s'agit du **composé 36** appartenant à la classe des dérivés d'acide carboxylique comme le montre la figure 42. Il contient un groupe anionique carboxylate, qui peut bien s'insérer dans la poche de liaison anionique de l'AR, ce qui lui confère une forte activité inhibitrice *in vitro* [37], avec une IC<sub>50</sub> égal à 0.99 µM [35]. L'énergie d'interaction obtenue après docking moléculaire de ce composé au sein du site actif de l'AR était de l'ordre de -7.79 Kcal/mol.

L'analyse visuelle montre que le **composé 36** inhibe l'AR en formant 3 liaisons hydrogène. La première est observée entre le groupement hydroxyle de l'inhibiteur et le groupement carboxyle du résidu Tyr48 avec une distance de 2.9 Å. La deuxième est formée entre le groupement hydroxyle du **composé 36** et la fonction amine NH du cycle imidazole du résidu His110 avec une distance de 3 Å. La dernière liaison fait intervenir la fonction carboxylique de l'inhibiteur et celle du résidu Trp111 avec une distance de 3 Å. Le **composé 36** est également stabilisé au sein du site actif par des interactions hydrophobiques qu'ils forment avec les résidus Pro218, Trp219, Val297, Cys298, Ala299, Leu300, Pro310, Tyr309, Cys303, Phe115 et Trp110 du site actif de l'enzyme (voir figures 43).

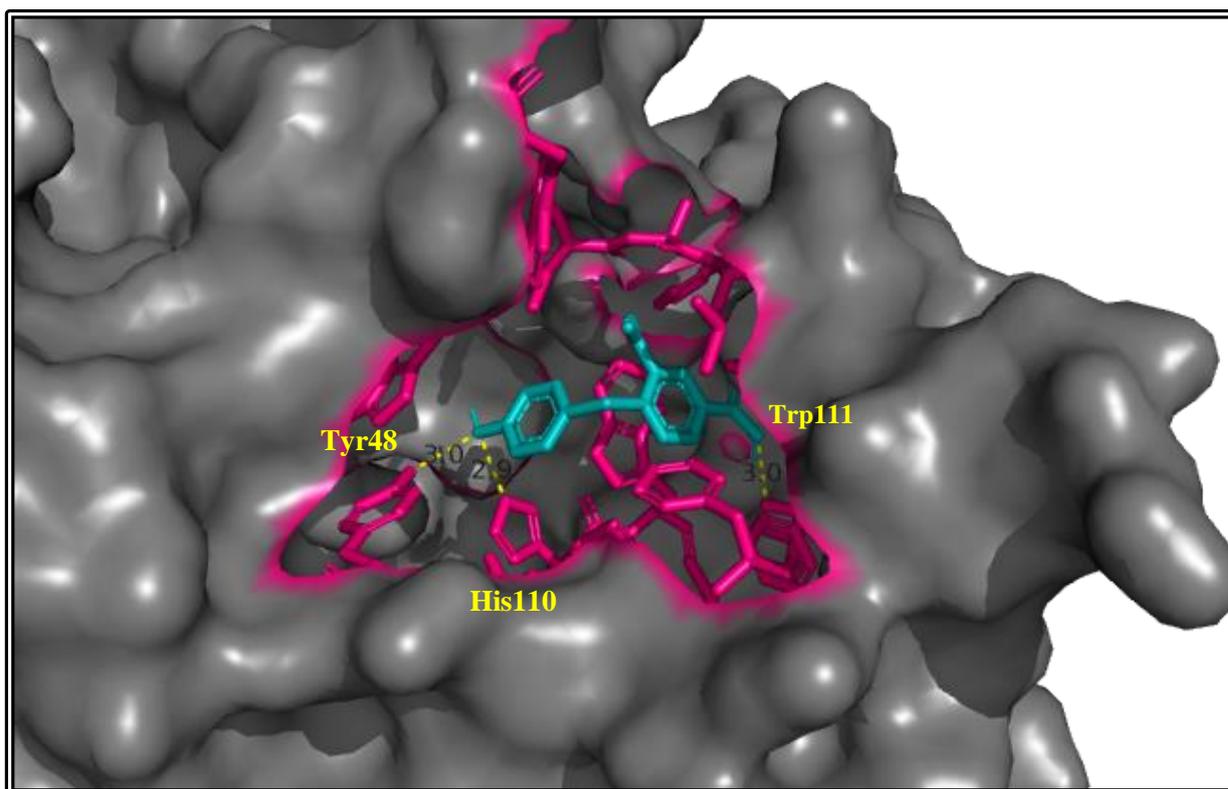
Il est à souligner que le **composé 36** ne peut pas pénétrer facilement dans les biomembranes en raison de son degré d'ionisation plus élevé dans les conditions physiologiques, ce qui entraîne une faible biodisponibilité et une faible activité *in vivo* [37]. Dans ce contexte, nous avons simulé au préalable les propriétés pharmacocinétiques de ce composé à l'aide du serveur SwissADME. Les résultats obtenus (voir tableau N°2), montrent que le **composé 36** possède une faible absorption gastro-intestinale, ce qui est en accord avec la littérature [37]. L'objectif essentiel de notre travail est de proposer de nouveaux inhibiteurs de l'AR appartenant à la famille du **composé 36** toute en améliorant le score et le profil ADME.



**Figure 42:** Structure du composé 36

**Tableau 2:** Propriétés physicochimiques du composé 36

PROPRIETES	COMPOSE 36
GI ABSORPTION	FAIBLE
BBB PERMEABILITE	NON
CYP1A2 INHIBITION	NEGATIVE
CYP2C19 INHIBITION	NEGATIVE
CYP2C9 INHIBITION	NEGATIVE
CYP2D6 INHIBITION	NEGATIVE
CYP3A4 INHIBITION	NEGATIVE



**Figure 43:** Mode d'interaction du **composé 36** envers le site actif de l'AR.

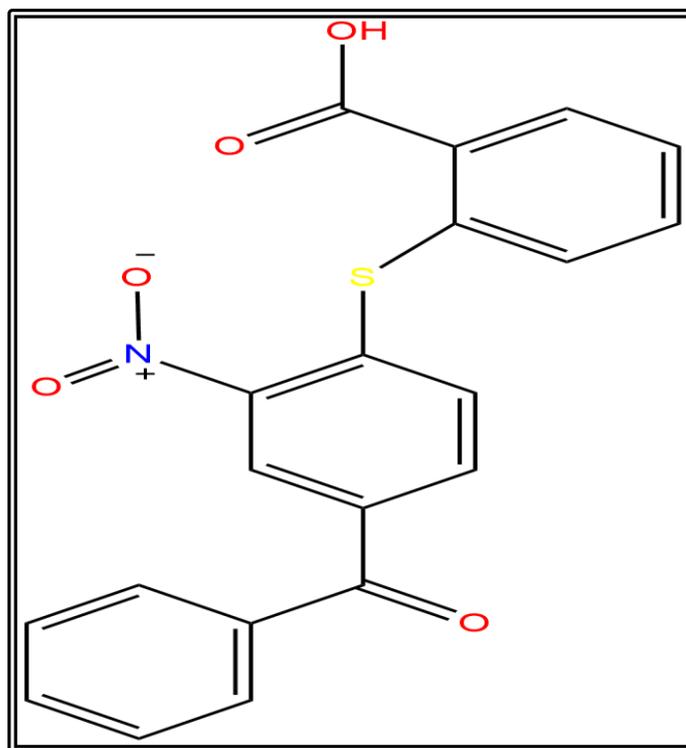
### 3 Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'aldose réductase

#### 3.1 Criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques

Le **composé 36** a été pris comme structure de départ afin de rechercher dans la PubChem des composés similaires. En effet, cette banque de données nous a proposé une collection de 358 composés similaires avec un taux de similarité allant jusqu'à 91%. Dans l'espoir d'améliorer le score de l'inhibiteur de départ (-7.79 Kcal/mol), une série de calculs de docking moléculaire a été menée sur la collection de similaires chimiques. Les 10 meilleurs similaires classés selon leur score ont fait l'objet d'une étude de leurs propriétés pharmacocinétiques, particulièrement leur absorption gastro-intestinale. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau N°3 et dans l'annexe 3.

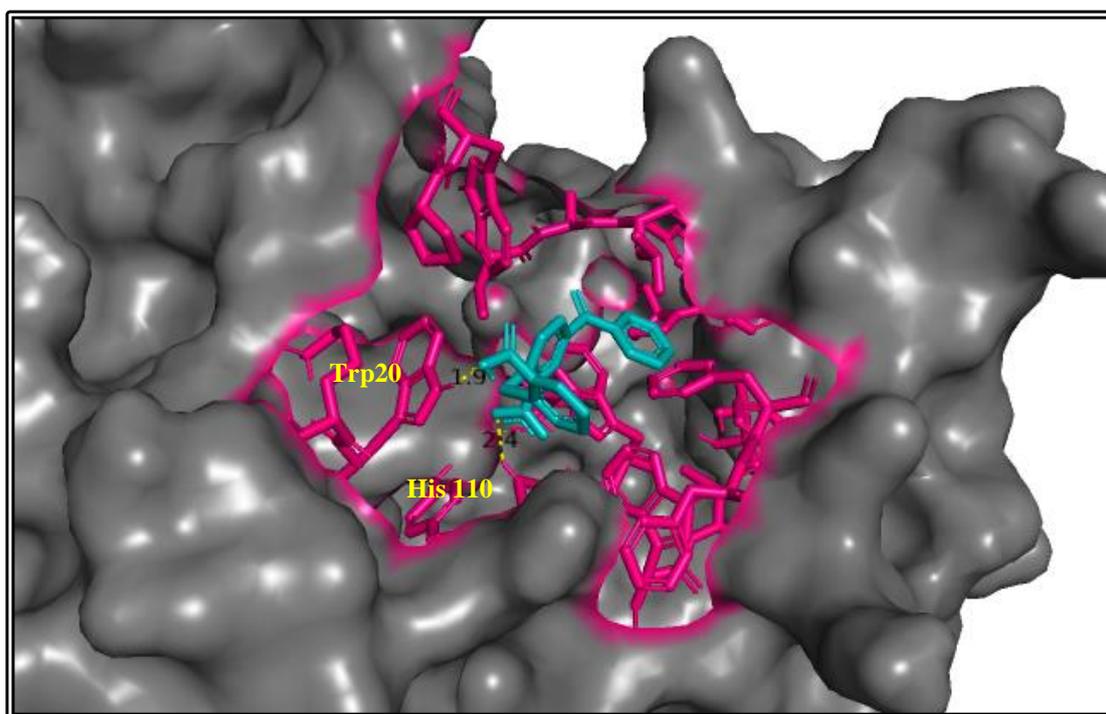
**Tableau 3:** Score de docking ainsi que l'absorption gastro-intestinale des 10 meilleurs similaires.

SIMILAIRE	SCORE KCAL/MOL	NUMERO D'ACCESSION	GI ABSORPTION
S71	-9.93	5239280	FAIBLE
S257	-9.75	91879430	ELEVEE
S238	-9.65	91878029	ELEVEE
S355	-9.58	122359966	FAIBLE
S256	-9.57	91879418	ELEVEE
S4	-9.54	366594	FAIBLE
S104	-9.48	2729071	ELEVEE
S204	-9.39	66066635	ELEVEE
S117	-9.38	22145434	FAIBLE
S230	-9.36	58872107	FAIBLE

**Figure 44:** Structure du composé S71

Le criblage virtuel de la collection de similaires chimiques du composé **36** fait ressortir le composé **S71** comme meilleur inhibiteur potentiel de l'AR avec une énergie d'interaction égale à -9.93 kcal/mol. La visualisation du mode d'interaction de ce composé au sein du site actif de l'AR révèle la présence de deux liaisons hydrogène. La première est formée entre le groupement NO<sub>2</sub> du composé **S71** et la fonction amine du cycle imidazole de l'His110, séparés par une distance de 2.4 Å. La deuxième est constatée entre le groupement carboxyle de l'inhibiteur et la fonction amine de l'hétérocycle indole du Trp20, avec une distance de 1.9 Å. Le complexe AR-Composé **S71** est stabilisé également grâce aux interactions hydrophobiques faisant intervenir les résidus : Val47, Tyr48, Cys298, Ala299, Leu300, Cys303, Phe115 et Trp111 du site actif de l'AR (voir figure 45).

Par ailleurs, il s'est avéré que l'absorption gastro-intestinale du composé **S71** est faible bien que son énergie d'interaction a pu être améliorée. En tenant compte de la marge d'erreurs de 2 kcal/mol tolérée par AutoDock, l'amélioration de l'énergie d'interaction dans le cas du composé **S71** n'était pas significative. C'est la raison pour laquelle nous avons procédé à une deuxième approche consistant à modifier la structure de base du composé **S71** en y introduisant des groupements fonctionnels dans différentes positions et ce dans l'espoir de proposer de nouveaux inhibiteurs plus puissants en présentant un meilleur profil ADME.

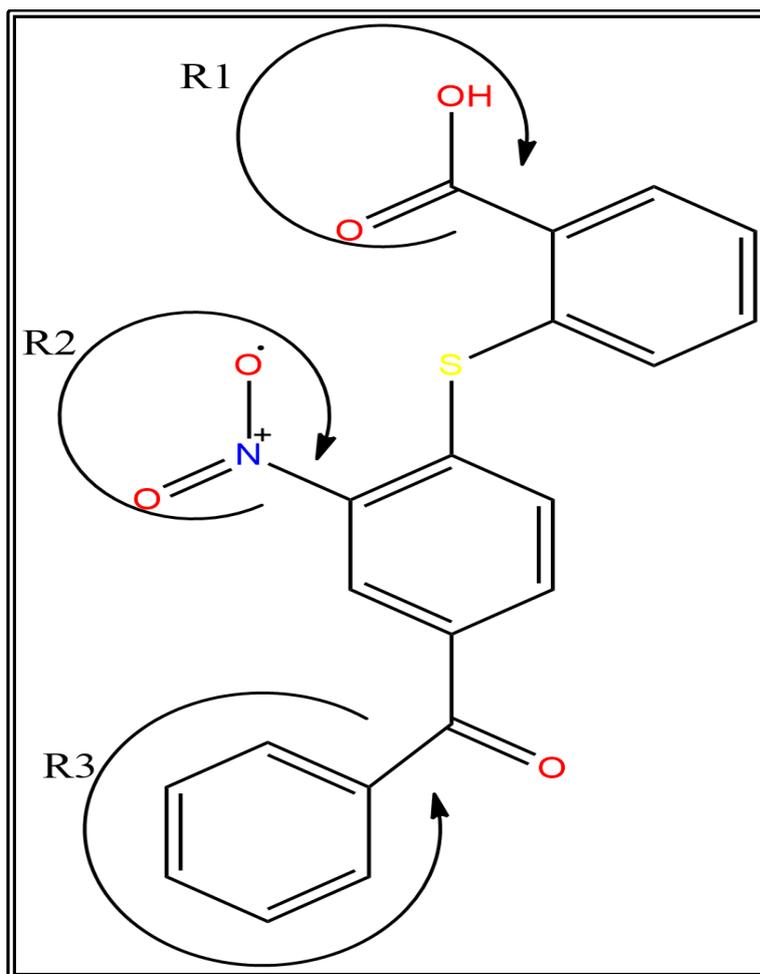


**Figure 45:** Mode d'interaction du composé **S71** envers le site actif de l'AR.

## 3.2 Substitution du composé S71

### 3.2.1 Mono-substitution

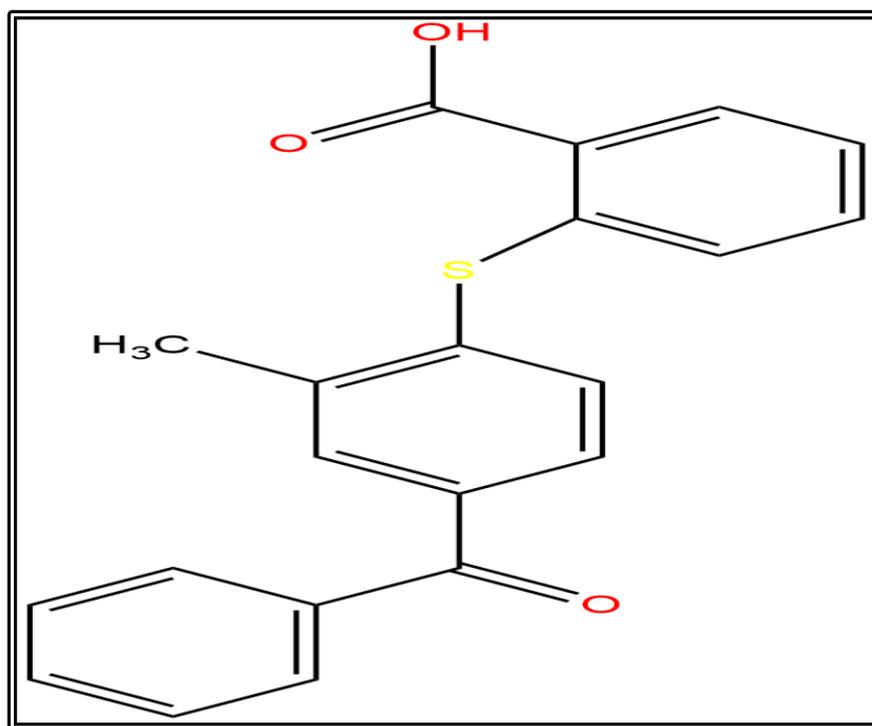
Dans un premier temps, le composé **S71** a subi plusieurs mono-substitutions sur des différents radicaux (voir figure 46) afin d'améliorer aussi bien son score que son absorption gastro-intestinale. Les fonctions ajoutées, le score et l'absorption gastro-intestinale de chaque composé issu de la mono-substitution sont représentés dans le tableau N°4



**Figure 46:** Représentation des positions des radicaux R1, R2 et R3 dans la structure de base du composé **S71**

**Tableau 4:** Structure énergie d'interaction et absorption gastro-intestinale des composés issus de la substitution de S71 sur les radicaux R1, R2 et R3.

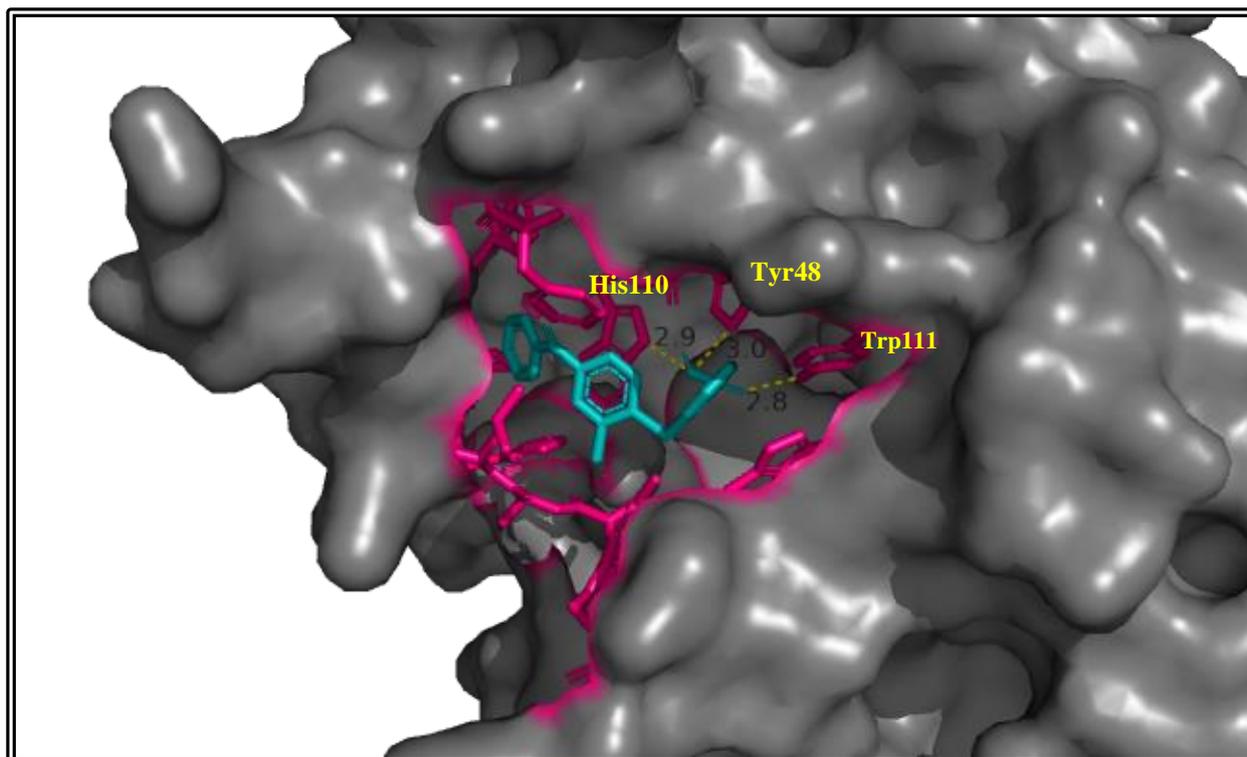
Composé	R1	R2	R3	Absorption GI	$\Delta G$ Score AutoDock (Kcal/mol)
Sub1	NH <sub>2</sub>			Faible	-10.02
Sub2		NH <sub>2</sub>		Elevée	-10.63
Sub3			NH <sub>2</sub>	Faible	-8.34
Sub4	OH			Faible	-10.13
Sub5		OH		Elevée	-8.95
Sub6			OH	Faible	-7.46
Sub7	CONH <sub>2</sub>			Faible	-10.84
Sub8		CONH <sub>2</sub>		Elevée	-9.82
Sub9			CONH <sub>2</sub>	Faible	-9.16
Sub10	SH			Faible	-10.15
Sub11		SH		Faible	-9.23
Sub12			SH	Faible	-8.26
Sub13	COH			Faible	-10.97
Sub14		COH		Elevée	-9.92
Sub15			COH	Faible	-8.78
Sub16	Br			Faible	-10.87
Sub17		Br		Elevée	-11.14
Sub18			Br	Faible	-9.02
Sub19		COOH		Elevée	-10.77
Sub20			COOH	Faible	-7.68
Sub21		CH <sub>3</sub>		Elevée	-11.24



**Figure 47:** Structure du composé **Sub21**

Il ressort du tableau N° 4 que l'introduction du groupement méthyle sur la position R2 à la place du dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>) dans la structure de départ (composé **S71**) améliore nettement l'énergie d'interaction qui passe de -9.93 kcal/mol à -11.24 kcal/mol dans le cas du composé **Sub21**. L'analyse visuelle montre que ce composé est bien placé dans la cavité hydrophobique de l'AR, où il est entouré par les résidus Cys298, Ala299, Leu300, Cys303, Phe115, Trp111, Trp20. De plus, le groupement carboxyle du composé **Sub21** s'engage par trois liaisons hydrogène avec le site actif de l'enzyme ; précisément avec les résidus Trp111, His110 et Tyr48, séparés par les distances respectives de 2.8Å, 2.9Å et 3Å. (voir figure 48).

Par ailleurs, nous avons constaté une nette amélioration de l'absorption gastro-intestinale du composé **Sub21**.

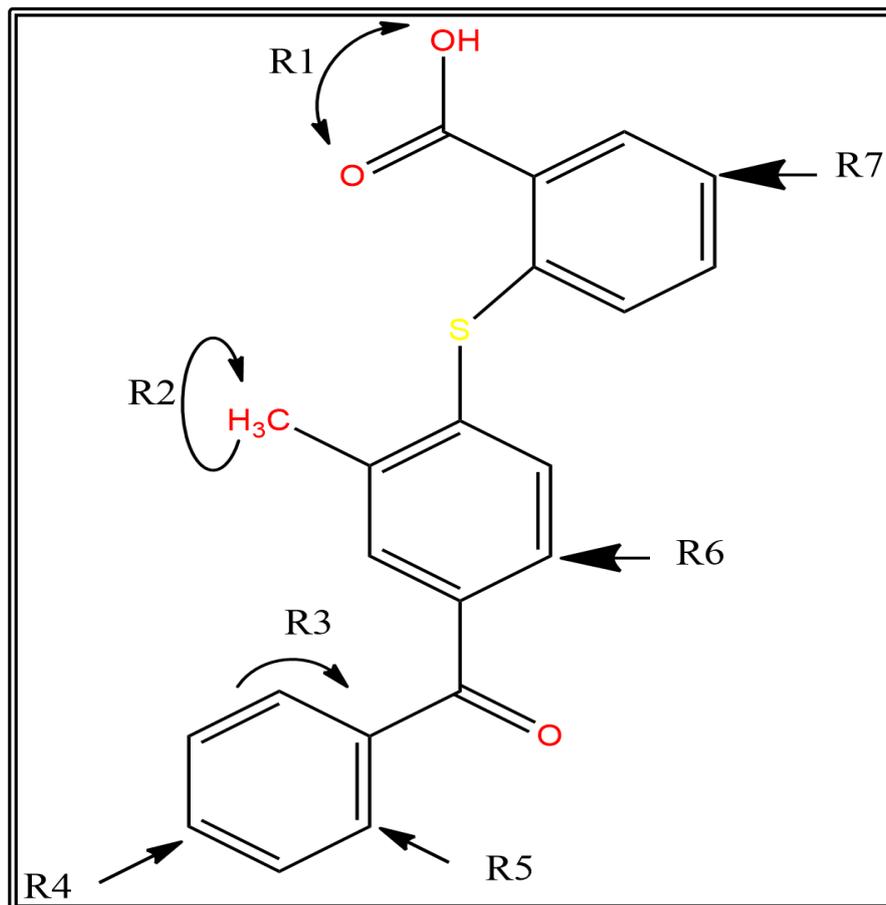


**Figure 48:** Mode d'interaction du composé **Sub21** envers le site actif de l'AR.

### 3.2.2 Poly-substitution

Dans un deuxième temps, nous avons procédé à une poly-substitution en prenant comme structure de départ le composé **Sub21** issu de la mono-substitution au quel nous avons introduit les mêmes groupements fonctionnels que précédents mais cette fois-ci dans plusieurs positions qui sont R1, R3, R4, R5, R6 et R7 (voir figure 49).

Le docking moléculaire des composés qui en résultent fait ressortir le composé **Sub42** comme meilleur inhibiteur de l'AR obtenu dans cette étude avec une énergie d'interaction égale à -11.93 kcal/mol (voir tableau N°5).



**Figure 49:** Représentation des positions des radicaux

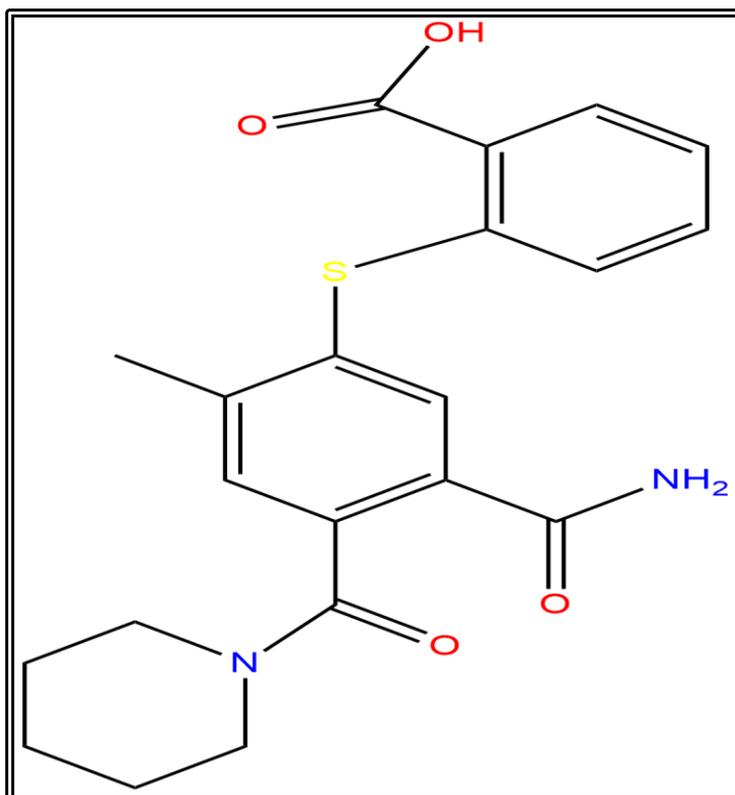
R1, R2, R3, R4, R5, R6 et R7 dans la structure de base du composé **Sub21**

En effet, le remplacement du cycle benzène dans la position R3 par un hétérocycle d'azote ainsi que l'introduction d'un groupement CONH<sub>2</sub> dans la position R6 du composé **Sub21** améliore son énergie d'interaction qui passe de -11.24 kcal/mol jusqu'à -11.93 kcal/mol (voir figure 50).

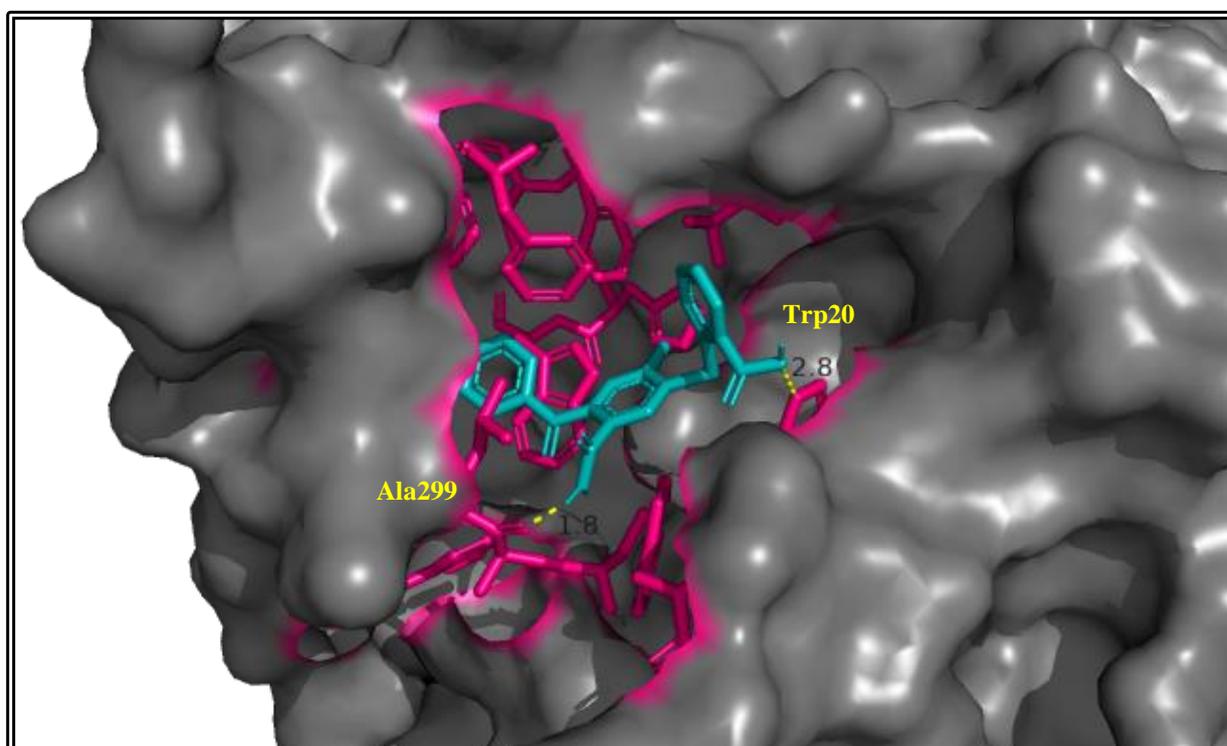
Ce score se traduit par la mise en place de deux liaisons hydrogène. La première est formée entre le groupement NH<sub>2</sub> du composé **Sub42** et la fonction carboxyle du résidu Ala299, avec une distance de 1.8Å. La deuxième liaison est formée, quant à elle, entre le groupement carboxyle de l'inhibiteur et l'azote du résidu Trp20 séparés par une distance de 2.8Å. De nombreuses interactions de type hydrophobe assurent également la stabilité du complexe AR-**Sub42**. Ces interactions font intervenir les résidus Pro218, Trp219, Val297, Cys298, Leu300, Leu301, Cys303, Tyr309 et Pro310 du site actif de l'enzyme (voir figure 51).

**Tableau 5:** Structure, énergie d'interaction et absorption gastro-intestinale des composés issus de la substitution de **S71** sur les radicaux R1, R3, R4, R5, R6 et R7.

Composé	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Absorption GI	$\Delta G$ Score AutoDock (Kcal/mol)
Sub22	Br	CH <sub>3</sub>	COH					Elevée	-9.40
Sub23	Br	CH <sub>3</sub>		I				Elevée	-11.82
Sub24	Br	CH <sub>3</sub>			COH			Elevée	-11.22
Sub25		CH <sub>3</sub>	Br			CH <sub>3</sub>		Elevée	-9.40
Sub26	Br	CH <sub>3</sub>			CH <sub>3</sub>			Elevée	-11.41
Sub27		CH <sub>3</sub>	Br				Br	Elevée	-10.13
Sub28		CH <sub>3</sub>		Cl	Cl			Elevée	-10.78
Sub29		CH <sub>3</sub>			Br		NOH2	Faible	-10.94
Sub30	NOH2	CH <sub>3</sub>		COOH				Elevée	-9.79
Sub31		CH <sub>3</sub>	SH			Br		Elevée	-8.73
Sub32	COH	CH <sub>3</sub>		SH				Elevée	-11.15
Sub33		CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>				CH <sub>3</sub>	Elevée	-9.57
Sub34	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>				Br		Elevée	-11.49
Sub35		CH <sub>3</sub>			COH		SH	Faible	-10.74
Sub36	Br	CH <sub>3</sub>		Br				Faible	-11.42
Sub37	Br	CH <sub>3</sub>		OH				Elevée	-11.05
Sub38		CH <sub>3</sub>		OH	OH			Elevée	-9.77
Sub39		CH <sub>3</sub>		I	OH			Elevée	-10.86
Sub40	Br	CH <sub>3</sub>				OH		Elevée	-11.16
Sub41	OH	CH <sub>3</sub>		I				Elevée	-11.38
Sub42		CH <sub>3</sub>	Hétérocycle d'azote			CONH <sub>2</sub>		Elevée	-11.93



**Figure 50:** Structure du composé Sub4



**Figure 51:** Mode d'interaction du composé Sub42 envers le site actif de l'AR.

## 4 Prédiction des propriétés ADMET

### 4.1 Propriétés physico-chimiques

Le composé **Sub42** ayant présenté le meilleur effet inhibiteur potentiel envers l'AR a fait l'objet d'une étude computationnelle concernant ses propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques à l'aide du serveur SwissADME. Epalrestat, médicament mis sur le marché pour le traitement symptomatique du diabète, a été utilisée comme molécule de référence. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N°6.

**Tableau 6:** Propriétés physicochimiques du composé **Sub42** et l'Epalrestat

PROPRIETES	EPALRESTAT	SUB42
FORMULE	C15H13NO3S2	C21H22N2O4S
PM (G/MOL)	319.40	398.48
NLF	4	6
NON	3	4
NOHNH	1	2
LOG P	2.75	2.97
TPSA Å <sup>2</sup>	115.00	79,67
REGLE DE LIPINSKI	PARFAITEMENT CONFORME	PARFAITEMENT CONFORME
REGLE DE VEBER	PARFAITEMENT CONFORME	PARFAITEMENT CONFORME
SOLUBILITE DANS L'EAU	MOYENNE	MOYENNE
ACCESSIBILITE A LA SYNTHESE	3.39	2.88

**PM** : poids moléculaire, **Log P** : algorithme du coefficient de partage du composé entre n-octanol et l'eau, **n-ON** accepteur : nombre de liaison d'accepteur d'hydrogène, **n-OHNH** donneur : nombre de liaison de donneur d'hydrogène, **TPSA** : surface totale polaire

Le composé **Sub42**, à l'instar de l'Epalrestat, répond parfaitement à la règle de Lipinski ainsi que celle de Veber. Ces résultats indiquent que le composé **Sub42** peut être utilisé sans poser des problèmes de biodisponibilité par voie orale. Avec une solubilité moyenne dans l'eau comparable à celle de la molécule de référence, le composé **Sub42** peut se dissoudre dans les milieux aqueux comme le sang pour parvenir jusqu'à son lieu d'action dans l'organisme avec la concentration souhaitée. Le dernier critère étudié concerne l'accessibilité à la synthèse chimique. Rappelons que ce critère a été évalué en chiffre allant de 1 (facile à synthétiser) jusqu'à 10 (difficile à synthétiser). Dans notre cas, le score de 2.88 obtenu avec le composé **Sub42** suggère que la synthèse chimique de ce dernier semble être réalisable sur le plan expérimental.

#### 4.2 Propriétés pharmacocinétiques

Plusieurs propriétés pharmacocinétiques du composé **Sub42** ainsi que l'Epalrestat ont été prédites. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau N°7.

**Tableau 7:** Propriétés pharmacocinétiques du composé **Sub42** ainsi que l'Epalrestat

PROPRIETES	EPALRESTAT	SUB42
GI ABSORPTION	ÉLEVÉE	ÉLEVÉE
BBB PERMEABILITE	NON	NON
CYP1A2 INHIBITION	POSITIVE	POSITIVE
CYP2C19 INHIBITION	POSITIVE	POSITIVE
CYP2C9 INHIBITION	POSITIVE	POSITIVE
CYP2D6 INHIBITION	NEGATIVE	NEGATIVE
CYP3A4 INHIBITION	NEGATIVE	NEGATIVE

**GI** : Gastro Intestinal ; **BBB** : Blood Brain Barrier ; **CYP** : famille de Cytochrome P450

Le composé **Sub42**, contrairement au composé de départ, a présenté une perméabilité gastro-intestinale élevée. Ce composé peut donc traverser la barrière gastro-intestinale pour arriver au sang et ce avec une concentration thérapeutique efficace. Cependant, ce composé ainsi que l'Epalrestat 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 système nerveux central. Enfin, le composé **Sub42** a été prédit d'avoir un effet inhibiteur vis-à-vis de 3 parmi les 5 isoformes de Cytochrome P450. L'inhibition de ces enzymes induit des interactions médicamenteuses. Il est à noter que les problèmes d'interactions médicamenteuses peuvent être évités et pris en considération lors de la phase d'optimisation de ce composé.

### 4.3 Les tests de toxicité

Le serveur web PreADMET a été utilisé pour évaluer les effets toxiques potentiels du composé **Sub42**. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N°8.

**Tableau 8:** Toxicité potentielle du composé **Sub42** ainsi que l'Epalrestat

Paramètre	Epalrestat	Sub42
Test d'Ames	MUTAGENE	MUTAGENE
Cancérogénicité pour les souris	POSITIVE	NEGATIVE
Cancérogénicité pour les rats	NEGATIVE	NEGATIVE
hERG_inhibition	RISQUE MEDIUM	RISQUE MEDIUM
algae_at	0.0205477	0.0176087
daphnia_at	0.0202536	0.0278666
medaka_at	0.00104177	0.00184505
minnow_at	0.00106367	0.00394206

Les résultats du tableau N°8 montrent que le composé **Sub42** a été prédit comme étant un inducteur de mutation génétique. Nous avons également noté un risque moyen d'inhibition du gène hERG par ces molécules. Rappelons que l'inhibition de ce gène cause des troubles

associés au rythme cardiaque. En avéré que le composé **Sub42** n'a aucun effet cancérigène sur les souris ou les rats. De plus, les valeurs faibles obtenues quant à la toxicité aigüe de ce composé sur les 4 espèces aquatiques sont comparables à celles obtenus avec la molécule de référence. Ceci suggère que la toxicité aigüe de ce composé est relativement faible.

En bref, l'étude théorique que nous avons menée sur l'inhibition de l'AR fait ressortir le composé **Sub42** comme nouvel inhibiteur de cette enzyme. Ce composé a présenté la meilleure énergie d'interaction envers le site actif de l'AR (-11.93 kcal/mol), ainsi qu'un profil ADMET acceptable pour une application biologique. Cependant, le chemin restant pour cette molécule sera très long afin de devenir un candidat médicament. Dans cette optique, les résultats théoriques obtenus dans cette étude doivent être vérifiés expérimentalement.



# *Conclusion générale*



L'objectif primordial de notre travail était de développer par docking moléculaire avec AutoDock, de nouveaux inhibiteurs de l'aldose réductase : cible thérapeutique connue pour le traitement des complications diabétiques.

Au préalable, nous avons testé la fiabilité du programme AutoDock grâce aux trois tests différents. Le premier test consiste à calculer la déviation quadratique moyenne ou RMSD pour mieux juger la déviation de la géométrie du ligand simulée par AutoDock vis-à-vis de la structure cristallographique. Sur l'ensemble de 100 complexes tirés arbitrairement de la PDB, 78% ont présenté un RMSD parfaitement dans les normes (inférieur à 2 Å). Ces résultats ont été ensuite confortés par une analyse visuelle du positionnement des différents ligands au sein du site actif. Le dernier test sert à déterminer le coefficient de corrélation linéaire « r » existant entre les énergies d'interaction théoriques ( $\Delta G$ ) de 67 inhibiteurs de l'AR et les valeurs de leur IC<sub>50</sub> déterminées expérimentalement. Avec un coefficient de corrélation égal à 0.7, des valeurs de RMSD inférieures à 2Å et une superposition des modèles de ligands de références et théoriques, nous pouvons conclure que le programme AutoDock est hautement performant et pouvant être utilisé en toute fiabilité pour simuler les interactions AR-Inhibiteurs.

Dans la perspective de développer de nouveaux inhibiteurs plus affins et plus sélectifs de l'AR, nous avons étudié profondément l'interaction du composé 4-(4-hydroxyphenylthio) -3-acide nitrobenzoïque (**composé 36**) vis-à-vis du site actif de l'enzyme. Ce composé a présenté une faible valeur de son énergie d'interaction (-7.79 Kcal/mol) avec un mauvais profil ADMET, particulièrement une faible absorption gastro-intestinale.

Afin d'améliorer son profil ADMET ainsi que son affinité envers l'AR, nous avons pris le **composé 36** comme structure de départ en vue d'obtenir une collection de composés similaires via la banque de données PubChem. Avec un taux de similarité allant jusqu'au 91%, cette banque de données nous a fourni 358 composés similaires. Le docking moléculaire de cette collection envers le site actif de l'AR révèle le composé **S71** comme inhibiteur prometteur de cette cible avec une énergie d'interaction égale à -9.93Kcal/mol.

Par la suite, une série de substitutions structurales a été menée sur le composé **S71**. Nous avons effectué au total 42 substitutions en introduisant des groupements chimiques réactifs susceptibles d'établir de nouvelles liaisons hydrogène avec la cible. Le docking moléculaire de ces composés révèle le composé **Sub42** comme nouvel inhibiteur de l'AR avec une énergie d'interaction égale à -11.93 Kcal/mol.

Enfin, l'étude des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et de toxicité potentielle montre que le composé **Sub42** a présenté un meilleur profil ADMET, particulièrement une bonne absorption gastro-intestinale, contrairement au composé de départ.

En termes de perspectives, notre étude ici n'étant qu'initiale, une étude expérimentale complémentaire *in vitro* et/ou *in vivo* devra permettre de vérifier les résultats théoriques obtenus *in silico*.



*Références  
bibliographiques*



- [1] A. Arrault, "Strategies de docking-scoring assistees par analyse de donnees. Application au criblage virtuel des cibles therapeutiques COX-2 et PPAR gamma," Thèse de doctorat d'université : Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. Université d'Orléans., 2008.
- [2] Aurélien G, "Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives.," Thèse de doctorat d'université: Joseph Fourier, Grenoble,France., 2015.
- [3] S. Cosconati, S. Forli, A. L. Perryman, R. Harris, D. S. Goodsell, and A. J. Olson, "Virtual screening with AutoDock: theory and practice," *Expert Opin. Drug Discov.*, vol. 5, no. 6, pp. 597–607, 2010.
- [4] A. P. Laddha and Y. A. Kulkarni, "Tannins and vascular complications of Diabetes: An update," *Phytomedicine*, vol. 56, pp. 229–245, 2019.
- [5] A. Chawla, R. Chawla, and J. Shalini, "Complications microvasculaires et macrovasculaires dans le diabète sucré : Distinct ou continu ?," *Indian J. Endocrinology Metab.*, pp. 546–551, 2016.
- [6] A. Natarajan, S. Sugumar, S. Bitragunta, and N. Balasubramanyan, "Molecular docking studies of (4Z, 12Z)-cyclopentadeca-4, 12-dienone from *Grewia hirsuta* with some targets related to type 2 diabetes," *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 15, no. 1, pp. 1–8, 2015.
- [7] D. K. Patel, R. Kumar, D. Laloo, and S. Hemalatha, "Diabetes mellitus: An overview on its pharmacological aspects and reported medicinal plants having antidiabetic activity," *Asian Pacifec J. Trop. Biomed.*, vol. 2, no. 5, pp. 411–420, 2012.
- [8] A. K. Schreiber, "Diabetic neuropathic pain: Physiopathology and treatment," *World J. Diabetes*, vol. 6, no. 3, p. 432, 2015.
- [9] K. E. Schemmel, R. S. Padiyara, and J. J. D'Souza, "Aldose reductase inhibitors in the treatment of diabetic peripheral neuropathy: A review," *J. Diabetes Complications*, vol. 24, no. 5, pp. 354–360, 2010.
- [10] S. M. Setter, R. K. Campbell, and C. J. Cahoon, "Biochemical Pathways for Microvascular Complications of Diabetes Mellitus," *Ann. Pharmacother.*, vol. 37, no. 12, pp. 1858–1866, 2003.

- [11] D. N. Koye, D. J. Magliano, R. G. Nelson, and M. E. Pavkov, “The Global Epidemiology of Diabetes and Kidney Disease,” *Adv. Chronic Kidney Dis.*, vol. 25, no. 2, pp. 121–132, 2018.
- [12] Y. Zheng, S. H. Ley, and F. B. Hu, “Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications,” *Nat. Rev. Endocrinol.*, vol. 14, no. 2, pp. 88–98, 2018.
- [13] B. Karuranga, Suvi; da Rocha Fernandes, Joao; Huang, Yadi; Malanda, *Atlas Du Diabete*. 2017.
- [14] D. M. Maahs, N. A. West, J. M. Lawrence, and E. J. Mayer-Davis, “Epidemiology of type 1 diabetes,” *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, vol. 39, no. 3, pp. 481–497, 2010.
- [15] A. Temessek *et al.*, “Les complications dégénératives: diabète type 1 vs diabète de type 2,” *Ann. Endocrinol. (Paris)*, vol. 79, no. 4, p. 494, 2018.
- [16] A. W. Stitt *et al.*, “The progress in understanding and treatment of diabetic retinopathy,” *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 51, pp. 156–186, 2016.
- [17] T. Behl, I. Kaur, and A. Kotwani, “Implication of oxidative stress in progression of diabetic retinopathy,” *Surv. Ophthalmol.*, vol. 61, no. 2, pp. 187–196, 2016.
- [18] A. Pollreisz and U. Schmidt-Erfurth, “Diabetic Cataract—Pathogenesis, Epidemiology and Treatment,” *J. Ophthalmol.*, vol. 2010, pp. 1–8, 2010.
- [19] J. H. Kinoshita and C. Nishimura, “The involvement of aldose reductase in diabetic complications,” *Diabetes. Metab. Rev.*, vol. 4, no. 4, pp. 323–337, 1988.
- [20] P. Gupta *et al.*, “Association of diabetic autonomic neuropathy with red blood cell aldose reductase activity,” *Can. J. Diabetes*, vol. 38, no. 1, pp. 22–25, 2014.
- [21] P. Sarra, E. Younsi, and S. Jeanne, “Neuropathie diabétique douloureuse,” pp. 278–279, 2014.
- [22] S. Rubler, J. Dlugash, Y. Z. Yuceoglu, T. Kumral, A. W. Branwood, and A. Grishman, “New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis,” *Am. J. Cardiol.*, vol. 30, no. 6, pp. 595–602, 1972.
- [23] S. Boudina and E. D. Abel, “Diabetic cardiomyopathy, causes and effects,” *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, vol. 11, no. 1, pp. 31–39, 2010.

- [24] D. An and B. Rodrigues, "Role of changes in cardiac metabolism in development of diabetic cardiomyopathy," *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.*, vol. 291, no. 4, pp. 1489–1506, 2006.
- [25] J. M. Pappachan and G. I. Varughese, "Diabetic cardiomyopathy : physiopathology , evaluation diagnostic and gestion," *World J. Diabetes*, vol. 5, pp. 177–189, 2013.
- [26] M. Fonfrède, "Diabète et rein," *Rev. Francoph. des Lab.*, vol. 7, no. 455, pp. 45–50, 2013.
- [27] N. Lameire, "Pathogenesis and treatment of diabetic nephropathy," *EDTNA-ERCA J.*, vol. 26, no. 2, pp. 8–10, 2000.
- [28] S. Thomas and J. Karalliedde, "Diabetic nephropathy," *Med. (United Kingdom)*, vol. 47, no. 2, pp. 86–91, 2019.
- [29] P. Hovind, P. Rossing, L. Tarnow, U. M. Smidt, and H. H. Parving, "Progression of diabetic nephropathy," *Kidney Int.*, vol. 59, no. 2, pp. 702–709, 2001.
- [30] C. C. Khoury, S. Chen, and F. N. Ziyadeh, *Pathophysiology of Diabetic Nephropathy*. Elsevier Inc., 2014.
- [31] J. L. Schlienger, "Complications du diabète de type 2," *Press. Medicale*, vol. 42, no. 5, pp. 839–848, 2013.
- [32] C. De Beaufort, S. Besançon, and N. Balde, "Management of type 1 diabetes," *Med. Sante Trop.*, vol. 28, no. 4, pp. 359–362, 2019.
- [33] A. J. Scheen and L. F. Van Gaal, "Incrétinopotentiateur indiqué comme insulinosécrétagogue dans le traitement du diabète de type 2," *Rev Med Liege*, vol. 63, no. 2, pp. 105–109, 2008.
- [34] M. Eddouks, M. L. Ouahidi, O. Farid, A. Moufid, A. Khalidi, and A. Lemhadri, "L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc," *Phytothérapie*, vol. 5, no. 4, pp. 194–203, 2007.
- [35] A. Singh Grewal, S. Bhardwaj, D. Pandita, V. Lather, and B. Singh Sekhon, "Updates on Aldose Reductase Inhibitors for Management of Diabetic Complications and Non-diabetic Diseases," *Mini-Reviews Med. Chem.*, vol. 16, no. 2, pp. 120–162, 2015.
- [36] R. Maccari and R. Ottanà, "Targeting aldose reductase for the treatment of diabetes

- complications and inflammatory diseases: New insights and future directions,” *J. Med. Chem.*, vol. 58, no. 5, pp. 2047–2067, 2015.
- [37] Y. Ji *et al.*, “Designing of acyl sulphonamide based quinoxalinones as multifunctional aldose reductase inhibitors,” *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 19, pp. 1–20, 2019.
- [38] A. B. et all Arpita Devi, “Aldose Reductase Inhibitors in the Functional Foods: Regulation of Diabetic Complications,” *Springer Nat. Singapore Pte Ltd*, vol. 11, pp. 555–574, 2018.
- [39] Mindnich R D. and Penning T M., “Aldo-keto reductase (AKR) superfamily: Genomics and annotation,” *Hum. Genomics*, vol. 3, no. 4, pp. 362–370, 2009.
- [40] O. A. Barski, S. M. Tipparaju, and A. Bhatnagar, “The aldo-keto reductase superfamily and its role in drug metabolism and detoxification,” *Drug Metab. Rev.*, vol. 40, no. 4, pp. 553–624, 2008.
- [41] S. Endo *et al.*, “Kinetic studies of AKR1B10, human aldose reductase-like protein: Endogenous substrates and inhibition by steroids,” *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 487, no. 1, pp. 1–9, 2009.
- [42] S. Nencetti *et al.*, “N- ( aroyl ) -N- ( arylmethoxy ) -  $\alpha$  -alanines : selective inhibitors of aldose reductase,” *Bioorg. Med. Chem.*, vol. 25, no. 12, pp. 3068–3076, 2017.
- [43] Hers.H.G., “L’Aldose-Reductase,” *Biochim. Et, Biophys. Acta*, vol. 37, pp. 120–126, 1959.
- [44] Volat F, “Rôle des aldose réductases dans la physiologie du tissu adipeux blanc : modèles génétiques murins perte et gain de fonction,” Thèse de doctorat d’université : Ecole Doctorale des Sciences de la Vie, Santé, Agronomie, Environnement. Université Blaise Pascal, 2011.
- [45] P. F. Kador, J. H. Kinoshita, and N. E. Sharpless, “Aldose Reductase Inhibitors: A Potential New Class of Agents for the Pharmacological Control of Certain Diabetic Complications,” *J. Med. Chem.*, vol. 28, no. 7, pp. 841–849, 1985.
- [46] K. V Ramana and S. K. Srivastava, “Aldose reductase : A novel therapeutic target for inflammatory pathologies,” *Int. J. Biochem. cell Biol.*, vol. 42, no. 1, pp. 17–20, 2010.
- [47] Z. Ahmmed, D. Mohammed, and S. H. Sajjansab, “An overview on docking studies with

- Aldose Reductase inhibitors,” *Int. J. Drug Res. Technol.*, vol. 6, no. 5, pp. 250–258, 2016.
- [48] D. Arpita, A. B. M. Reddy, and U. C. . Yadav, “Aldose Reductase inhibitors in the Functional Foods: Regulation of Diabetic Complication,” *Funct. Food Hum. Heal.*, vol. 24, pp. 555–573, 2018.
- [49] M. Yu *et al.*, “Aldose reductase C-106T polymorphism is associated with the risk of essential hypertension,” *Gene*, vol. 591, no. 1, pp. 65–68, 2016.
- [50] K. V. Ramana and S. K. Srivastava, “Aldose reductase: A novel therapeutic target for inflammatory pathologies,” *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, vol. 42, no. 1, pp. 17–20, 2010.
- [51] G. Klebe, O. Krämer, and C. Sotriffer, “Strategies for the design of inhibitors of aldose reductase, an enzyme showing pronounced induced-fit adaptations,” *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 61, no. 7–8, pp. 783–793, 2004.
- [52] L. Quattrini and C. La Motta, “Aldose reductase inhibitors: 2013-present,” *Expert Opin. Ther. Pat.*, vol. 29, no. 3, pp. 199–213, 2019.
- [53] W. H. Tang, K. A. Martin, and J. Hwa, “Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus,” *Front. Pharmacol.*, vol. 3, pp. 1–8, 2012.
- [54] S. Anandan, M. Mahadevamurthy, C. Chandra C, and A. Urooj, “Ex vivo and in silico Molecular Docking Studies of Aldose Reductase Inhibitory Activity of Apigenin from *Morus indica* L.,” *J. Young Pharm.*, vol. 11, no. 1, pp. 101–104, 2019.
- [55] M. Chatzopoulou, K. Pegklidou, N. Papastavrou, and V. J. Demopoulos, “Development of aldose reductase inhibitors for the treatment of inflammatory disorders,” *Expert Opin. Drug Discov.*, vol. 8, no. 11, pp. 1365–1380, 2013.
- [56] I. Milackova *et al.*, “2-Chloro-1,4-naphthoquinone derivative of quercetin as an inhibitor of aldose reductase and anti-inflammatory agent,” *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, vol. 30, no. 1, pp. 107–113, 2015.
- [57] H. Steuber, M. Zentgraf, A. Podjarny, A. Heine, and G. Klebe, “High-resolution crystal structure of aldose reductase complexed with the novel sulfonyl-pyridazinone inhibitor exhibiting an alternative active site anchoring group,” *J. Mol. Biol.*, vol. 356, no. 1, pp. 45–56, 2006.

- [58] Mokrani E. 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 .,” Thèse de magister d’université: Technologie des explorations biochimiques. Université Mentouri Constantine, Algérie., 2012.
- [59] KRID A, “Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant.” Thèse de magister d’université : Chimie théorique. Université Mentouri Constantine, Algérie., 2008.
- [60] P. Bourdot *et al.*, “Docking de protéines en réalité virtuelle. Une approche hybride et multimodale,” *Tech. Sci. informatiques*, vol. 28, no. 8, pp. 983–1015, 2009.
- [61] Daoud I., “Modélisation de l’interaction des ions de métaux lourds avec des colorants,” Thèse de doctorat d’université : Chimie Théorique et Modélisation Moléculaire. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, Algérie., 2015.
- [62] Lalout W, “Contribution a la modélisation des interactions dans les biomolécules : Cas de la Maladie de Parkinson,” Thèse de doctorat d’université : Chimie Théorique et Modélisation Moléculaire. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, Algérie., 2016.
- [63] L. Hoffer, “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. Université de Strasbourg, France., 2013.
- [64] Renvez G, “Application des modes statiques à l’étude de la flexibilité des protéines : vers un processus de docking,” Thèse de doctorat d’université : Nanophysique. Université Toulouse III - Paul Sabatier, France., 2010.
- [65] De Oliveira E.B, “Simulation moléculaire appliquées à l’acétylation de flavonoides catalysées par des lipases,” Thèse de master d’université : Procédés Biotechnologiques et Alimentaires. Université de Lorraine, France., 2009.
- [66] Sabki A, “Etude in silico de l’effet d’un ensemble de flavonoides et de coumarines sur le chaperon moléculaire Hsp90,” Thèse de magister d’université : Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach, Algérie, 2013.
- [67] A. Fortun, “Techniques de Modélisation Moléculaire appliquées à l’Etude et à l’Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance.”

- Thèse de doctorat d'université : Sciences du Médicament. Université Joseph Fourier, France., 2008.
- [68] B. L. Dong, Q. H. Liao, and J. Wei, "Docking and molecular dynamics study on the inhibitory activity of N, N-disubstituted-trifluoro-3-amino-2-propanols-based inhibitors of cholesteryl ester transfer protein," *J. Mol. Model.*, vol. 17, no. 7, pp. 1727–1734, 2011.
- [69] R. B. and A. J. O. Garrett M. Morris, David S. Goodsell, Michael E. Pique, William "Lindy" Lindstrom, Ruth Huey, Stefano Forli, William E. Hart, Scott Halliday, "AutoDock Version 4.2.5," *Citeseer*, pp. 1–66, 2012.
- [70] J. Koca, Z. Jirouskova, R. Svobodova Varekova, and J. Vanek, "Electronegativity Equalization Method: Parameterization and Validation for Organic Molecules Using the Merz-Kollman-Singh Charge Distribution Scheme.," *J. Comput. Chem.*, vol. 30, no. 7, pp. 1174–1178, 2009.
- [71] H. Willian, D. Andrew, and S. Klaus, "Longer-term management of self-harm : assessment and treatment," *Natl. Inst. Heal. care Excel.*, vol. 7855, pp. 1–11, 1996.
- [72] H. Abdi, "The Kendall Rank Correlation Coefficient," *Encycl. Meas. Stat.*, pp. 1–7, 2006.
- [73] M. Vieth, J. D. Hirst, A. Kolinski, and C. L. Brooks, "Assessing energy functions for flexible docking," *J. Comput. Chem.*, vol. 19, no. 14, pp. 1612–1622, 1998.
- [74] H. A. Gabb, R. M. Jackson, and M. J. E. Sternberg, "Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information," *J. Mol. Biol.*, vol. 272, no. 1, pp. 106–120, 1997.
- [75] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, and P. J. Feeney, "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 64, pp. 4–17, 1997.
- [76] D. F. Veber, S. R. Johnson, H.-Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, and K. D. Kopple, "Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates.," *J. Med. Chem.*, vol. 45, no. 12, pp. 2615–23, 2002.
- [77] C. Hazan, "Recherche d'inhibiteurs de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN," Thèse de doctorat d'université: Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale. Université Toulouse III- Paul Sabatier, France., 2008.

- [78] J. Robert, "Conception d'une diète pour l'élevage agroalimentaires utilisant agents nutritifs.," thèse de doctorat d'université: science de l'eau. Université Québec, Canada, 2011.
- [79] L. Di, "The role of drug metabolizing enzymes in clearance," *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, vol. 10, no. 3, pp. 379–393, 2014.
- [80] P. F. Hollenberg, "Characteristics and common properties of inhibitors, inducers, and activators of CYP enzymes," *Drug Metab. Rev.*, vol. 34, no. 1–2, pp. 17–35, 2002.
- [81] S. M. Huang *et al.*, "Drug interactions/review: New era in drug interaction evaluation: US Food and Drug Administration update on CYP enzymes, transporters, and the guidance process," *J. Clin. Pharmacol.*, vol. 48, no. 6, pp. 662–670, 2008.
- [82] K. T. Savjani, A. K. Gajjar, and J. K. Savjani, "Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques," *ISRN Pharm.*, vol. 20, pp. 1–10, 2012.
- [83] G. Ottaviani, D. J. Gosling, C. Patissier, S. Rodde, L. Zhou, and B. Faller, "What is modulating solubility in simulated intestinal fluids?," *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 41, no. 3–4, pp. 452–457, 2010.
- [84] L. M. Ensign, R. Cone, and J. Hanes, "Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: The gastrointestinal mucus barriers," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 64, no. 6, pp. 557–570, 2012.
- [85] S. Wohlfart, S. Gelperina, and J. Kreuter, "Transport of drugs across the blood-brain barrier by nanoparticles," *J. Control. Release*, vol. 161, no. 2, pp. 264–273, 2012.
- [86] G. Fabrice, "Performances des tests d'Ames et micronoyaux triton, appliques a l'étude de la génotoxicité d'effluents complexes et des interctions entre polluants," Thèse de doctorat d'université: Toxicologie de l'environnement de l'université de Metz, Lorraine, France, 2002.
- [87] B. N. Ames, W. E. Durston, E. Yamasaki, and F. D. Lee, "Carcinogens are Mutagens: A Simple Test System Combining Liver Homogenates for Activation and Bacteria for Detection.," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 70, no. 8, pp. 2281–2285, 1973.
- [88] S. I. LAGHA and K. SMALI, "Evaluation de l'effet protecteur de l'extrait éthanolique des graines de Pistacia lentiscus sur le cancer secondaire induit par le cyclophosphamide sur un modèle animal," Mémoire de master d'université: Biochimie Appliquée.

- Université Abderrahmane Mira, Bejaïa., 2016.
- [89] B. Rainer *et al.*, “Suitability of the Ames test to characterise genotoxicity of food contact material migrates,” *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.*, vol. 10, pp. 1–14, 2018.
- [90] Y. Jing, A. Easter, D. Peters, N. Kim, and I. J. Enyedy, “In silico prediction of hERG inhibition,” *Future Med. Chem.*, vol. 7, no. 5, pp. 571–586, 2015.
- [91] G. E. Kirsch *et al.*, “Variability in the measurement of hERG potassium channel inhibition: Effects of temperature and stimulus pattern,” *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, vol. 50, no. 2, pp. 93–101, 2004.
- [92] F. Zeman, “Toxicité d’un mélange binaire sur la daphnie *Daphnia magna*,” thèse de doctorat d’université: Evolution, Ecologie, Ressources génétiques, Paléontologie. Université Montpellier II, France., 2008.
- [93] D. M. M. Adema, “*Daphnia magna* as a test animal in acute and chronic toxicity tests,” *Hydrobiologia*, vol. 59, no. 2, pp. 125–134, 1978.
- [94] Claudine Rast, “Etude de la toxicité d’effluents complexes à l’aide d’un test d’inhibition de luminescence bactérienne,” Thèse de doctorat d’université: Centre des sciences de l’environnement. Université de Metz, Lorraine, France, 1983.
- [95] A. Tabata *et al.*, “Estrogenic influences of estradiol-17 $\beta$ , p-nonylphenol and bis-phenol-A on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) at detected environmental concentrations,” *Water Sci. Technol.*, vol. 43, no. 2, pp. 109–116, 2001.
- [96] I. Joon Kang *et al.*, “Effect of 17 $\beta$ -estradiol on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*),” *Chemosphere*, vol. 47, no. 1, pp. 71–80, 2002.
- [97] J. Zha, Z. Wang, N. Wang, and C. Ingersoll, “Histological alternation and vitellogenin induction in adult rare minnow (*Gobiocypris rarus*) after exposure to ethynylestradiol and nonylphenol,” *Chemosphere*, vol. 66, no. 3, pp. 488–495, 2007.
- [98] M. A. R. O. N. Pot, “Rodent Carcinogenicity Bioassay : Past , Present , and Future,” *Toxicol. Pathol.*, vol. 22, no. 2, 1994.
- [99] Krid. Y, “Thème Conception in silico de nouveaux flavonols inhibant potentiellement l’ Enzyme de Conversion de l’ Angiotensine,” Memoire de master d’université: Biochimie

moléculaire et santé. Université Mentouri, Constantine, Algérie., 2013.

[100] <https://www.liberte-algerie.com/actualite/4-millions-de-diabetiques-en-algerie-57407/print/1>.

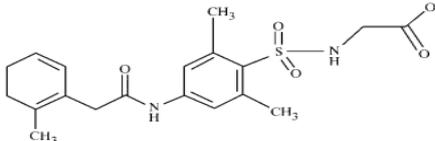
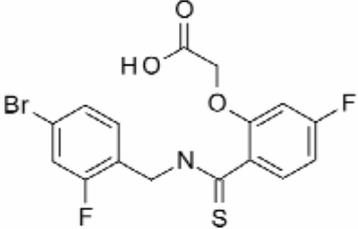
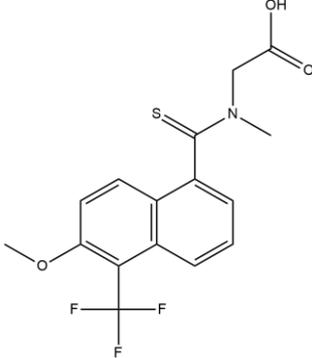
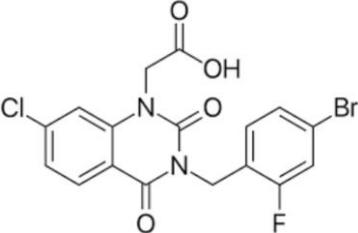
[101] <https://www.rcsb.org/>.

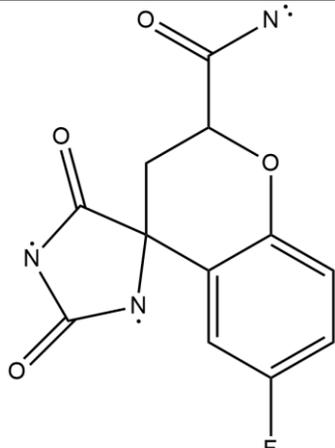
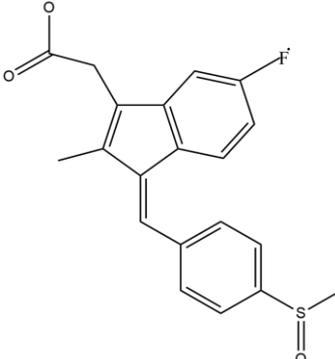
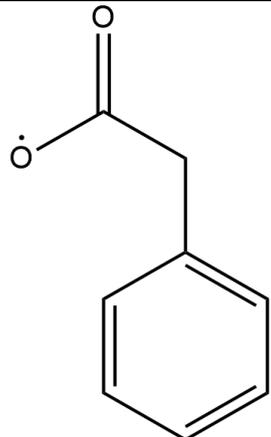
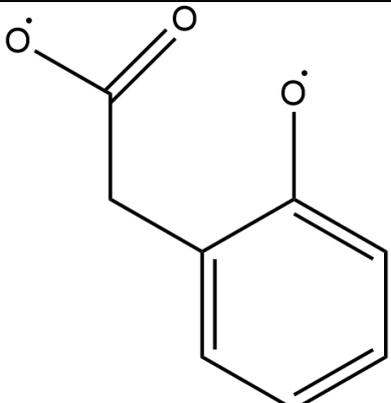


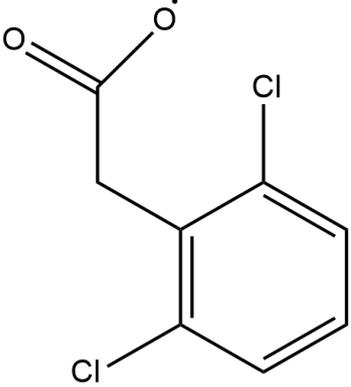
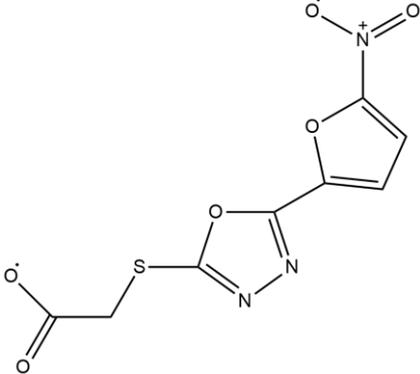
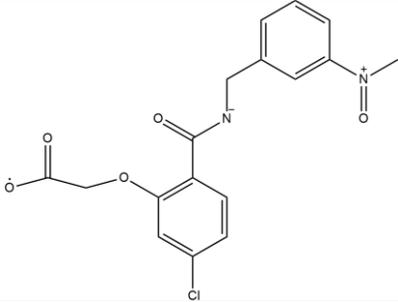
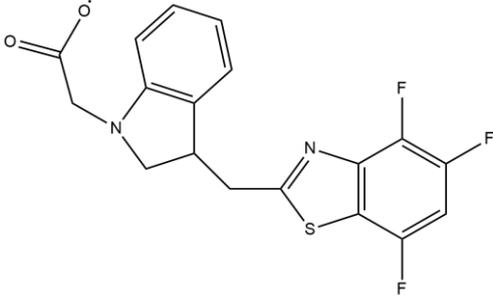
# *Annexes*

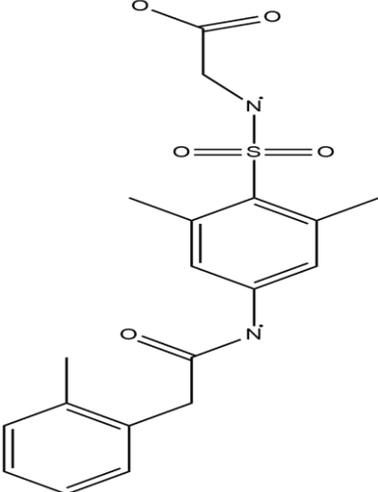
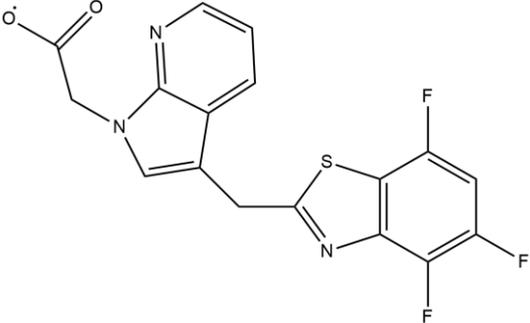
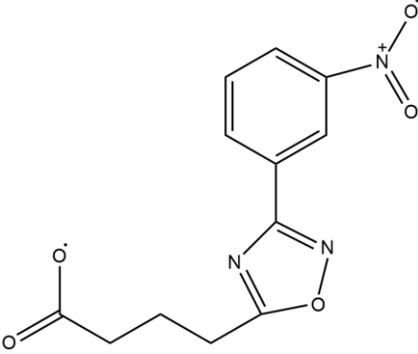
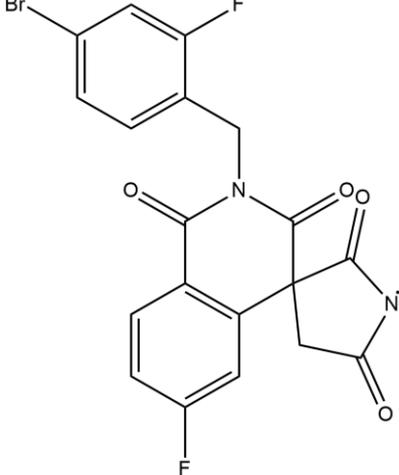


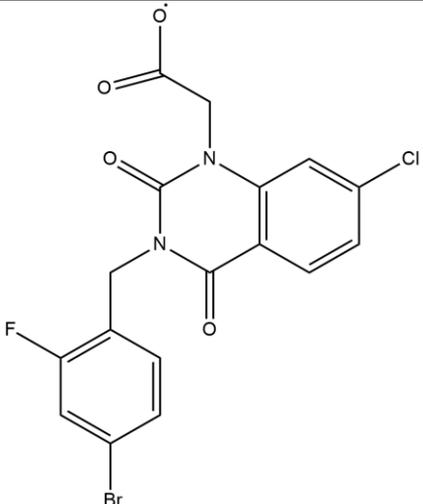
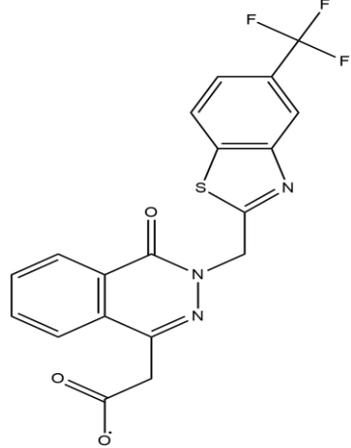
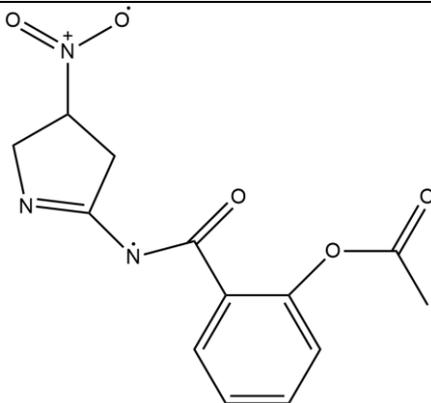
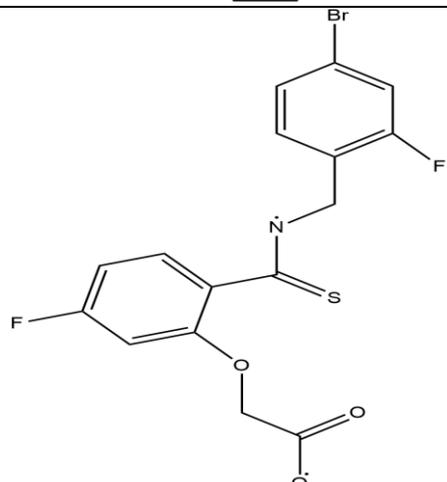
**Annexe 1 :** Energie d'interaction, structure, IC<sub>50</sub> ainsi que les valeurs de Log IC<sub>50</sub> des 67 inhibiteurs de l'AR étudiés.

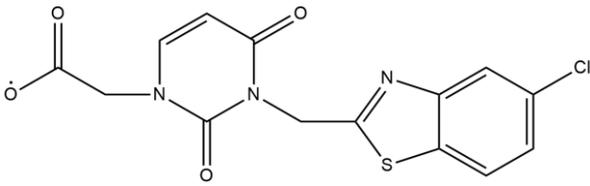
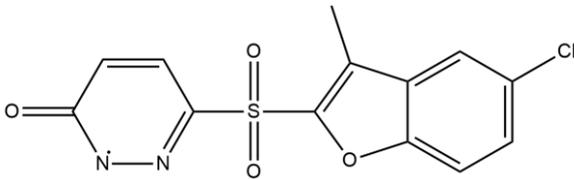
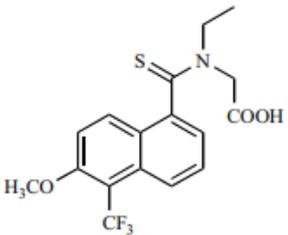
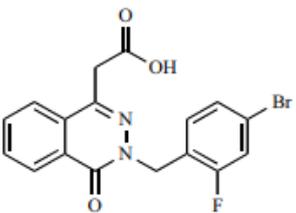
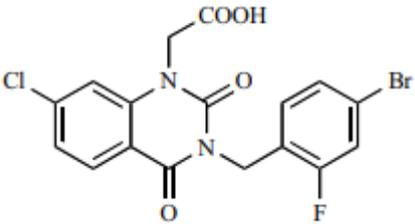
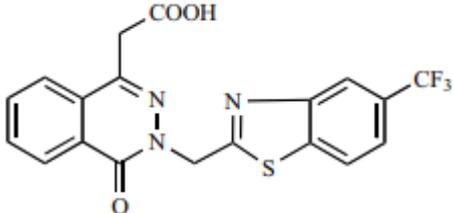
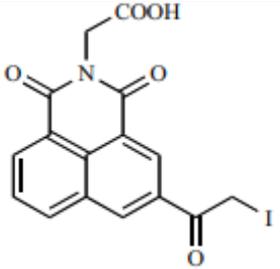
Composé	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Structure	Log IC <sub>50</sub>	Score AutoDock (Kcal/mol)
<b>1</b>	<b>0.108</b>		<b>-0,966</b>	<b>-9.10</b>
<b>2</b>	<b>0.03</b>		<b>-1,522</b>	<b>-9.19</b>
<b>3</b>	<b>0.001</b>		<b>-3</b>	<b>-9.31</b>
<b>4</b>	<b>0.044</b>		<b>-1,356</b>	<b>-10.46</b>

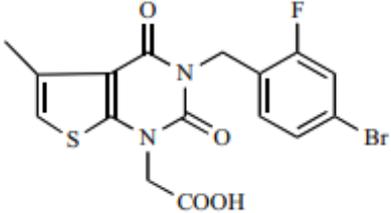
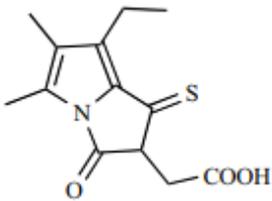
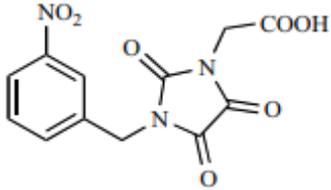
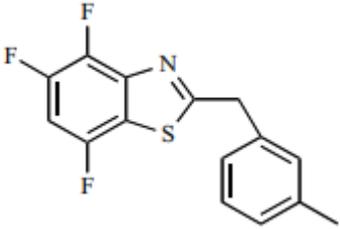
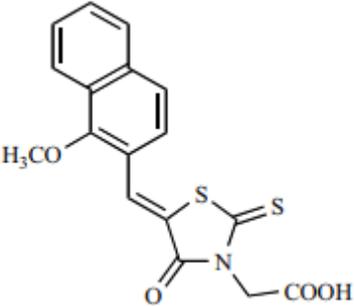
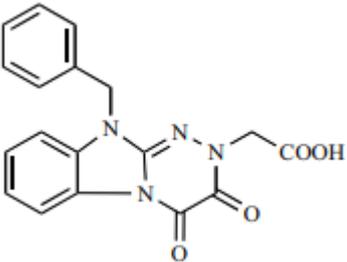
<b>5</b>	<b>1.1</b>		<b>0,041</b>	<b>-7.08</b>
<b>6</b>	<b>0.293</b>		<b>-0,533</b>	<b>-9.85</b>
<b>7</b>	<b>9.6</b>		<b>0,982</b>	<b>-4.86</b>
<b>8</b>	<b>3.5</b>		<b>0,544</b>	<b>-4.55</b>

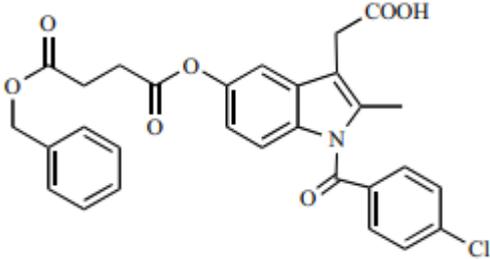
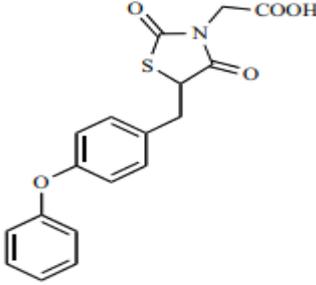
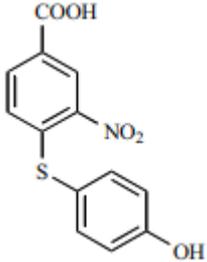
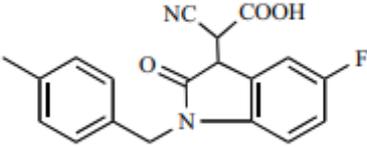
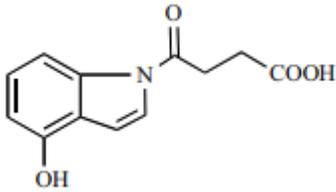
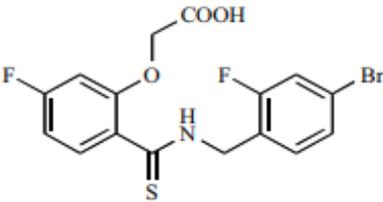
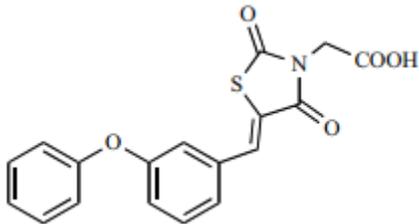
<b>9</b>	<b>4.4</b>		<b>0,643</b>	<b>-5.84</b>
<b>10</b>	<b>4.1</b>		<b>0,612</b>	<b>-7.50</b>
<b>11</b>	<b>0.006</b>		<b>-2,221</b>	<b>-9.30</b>
<b>12</b>	<b>0.005</b>		<b>-2,301</b>	<b>-10.12</b>

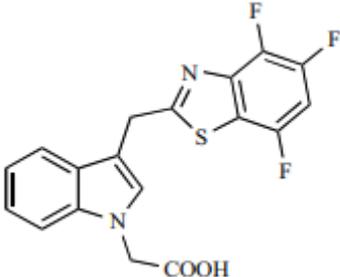
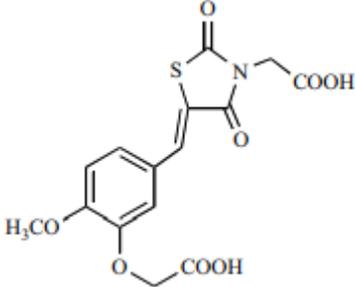
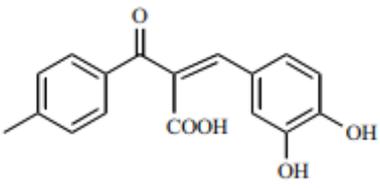
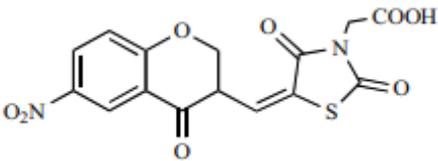
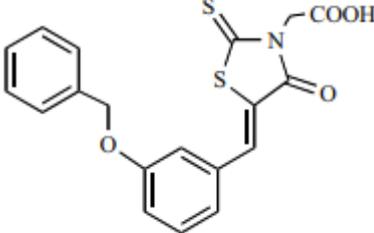
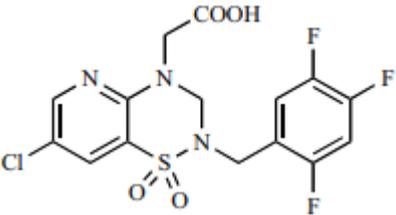
<b>13</b>	0.108		<b>-0,966</b>	<b>-9.26</b>
<b>14</b>	0.007		<b>-2,154</b>	<b>-9.81</b>
<b>15</b>	0.53		<b>-0,275</b>	<b>-7.91</b>
<b>16</b>	0.009		<b>-2,045</b>	<b>-10.27</b>

<b>17</b>	<b>0.044</b>		<b>-1,356</b>	<b>-10.51</b>
<b>18</b>	<b>0.003</b>		<b>-2,522</b>	<b>-10.63</b>
<b>19</b>	<b>8.22</b>		<b>0,914</b>	<b>-7.05</b>
<b>20</b>	<b>0.003</b>		<b>-2,522</b>	<b>-9.18</b>

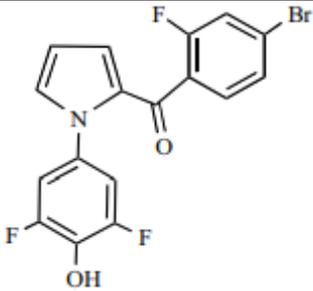
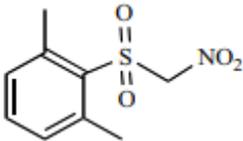
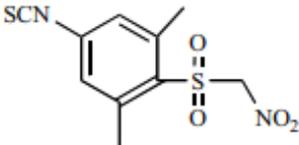
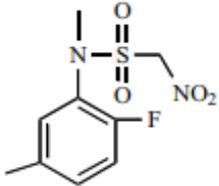
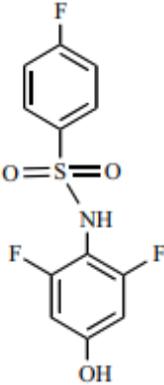
<b>21</b>	<b>0.0057</b>		<b>-2,244</b>	<b>-9.62</b>
<b>22</b>	<b>0.0008</b>		<b>-3,096</b>	<b>-10.40</b>
<b>23</b>	<b>0.035</b>		<b>-1,455</b>	<b>-9.38</b>
<b>24</b>	<b>0.02</b>		<b>-1,698</b>	<b>-10.10</b>
<b>25</b>	<b>0.0036</b>		<b>-2,443</b>	<b>-10.53</b>
<b>26</b>	<b>0.0031</b>		<b>-2,508</b>	<b>-10.90</b>
<b>27</b>	<b>0.40</b>		<b>-0,397</b>	<b>-8.87</b>

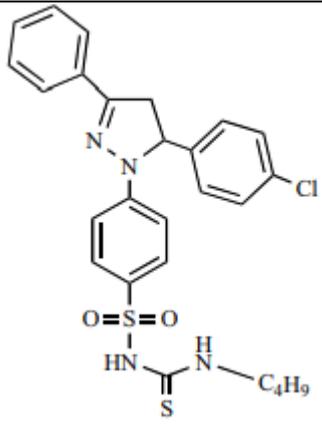
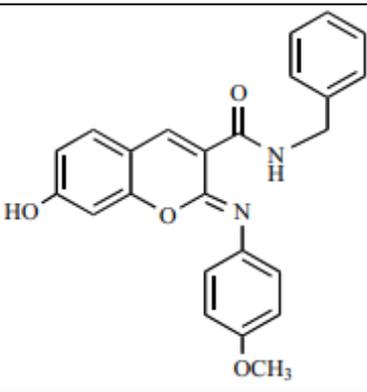
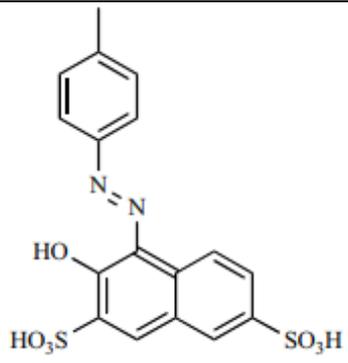
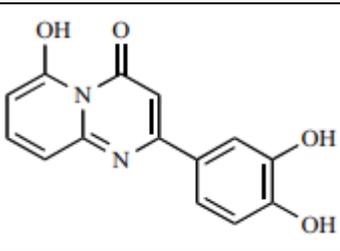
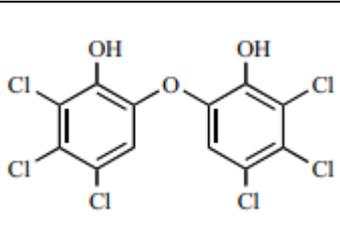
<b>28</b>	0.015		-1,823	-10.22
<b>29</b>	0.23		-0,638	-7.60
<b>30</b>	1.4		0,146	-7.80
<b>31</b>	0.0066		-2,180	-8.78
<b>32</b>	0.009		-2,045	-10.25
<b>33</b>	0.36		-0,443	-8.67

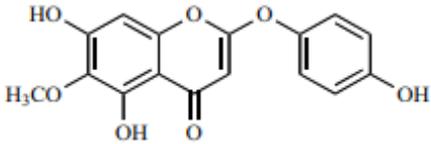
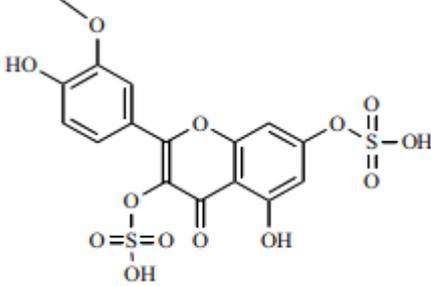
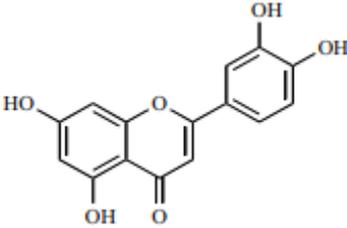
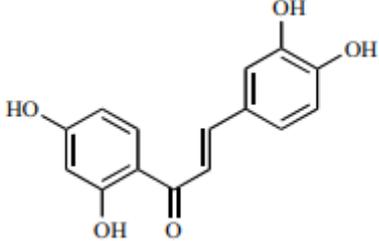
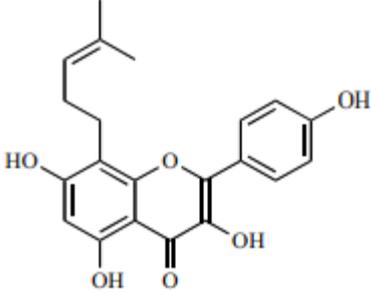
34	0.21		-0,677	-8.16
35	0.13		-0,886	-9.79
36	0.99		-0,004	-7.79
37	0.075		-1,124	-9.17
38	7.4		0,869	-7.40
39	0.3		-0,522	-8.99
40	0.13		-0,886	-9.70

41	0.005		-2,301	-10.18
42	0.20		-0,698	-7.00
43	0.49		-0,309	-8.61
44	0.261		-0,583	-9.24
45	0.11		-0,958	-9.68
46	0.038		-1,420	-8.85

47	0.27		-0,568	-9.31
48	0.17		-0,769	-9.11
49	0.431		-0,365	-8.26
50	0.0114		-1,943	-9.64
51	0.5		-0,301	-6.95
52	0.28		-0,552	-9.62

<b>53</b>	<b>0.11</b>		<b>-0,958</b>	<b>-10.25</b>
<b>54</b>	<b>0.23</b>		<b>-0,638</b>	<b>-7.15</b>
<b>55</b>	<b>0.13</b>		<b>-0,886</b>	<b>-7.05</b>
<b>56</b>	<b>0.35</b>		<b>-0,455</b>	<b>-8.20</b>
<b>57</b>	<b>14.1</b>		<b>1,149</b>	<b>-7.63</b>

58	0.0175		-1,756	-11.40
59	0.0047		-2,327	-10.95
60	0.58		-0,236	-9.32
61	0.10		-1	-7.77
62	0.24		-0,619	-9.44

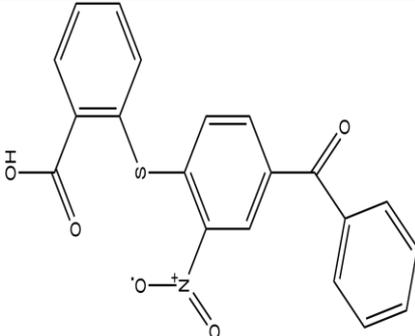
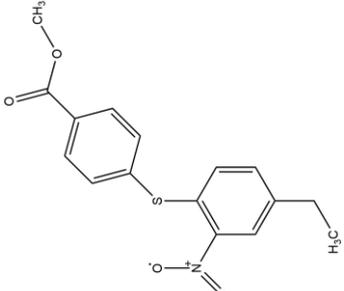
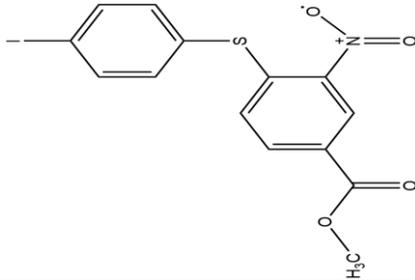
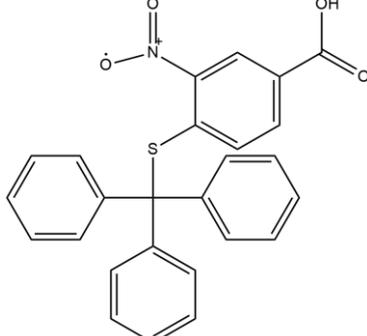
<b>63</b>	0.22		-0,657	-8.83
<b>64</b>	1.8		0,255	-7.58
<b>65</b>	0.45		-0,346	-8.09
<b>66</b>	0.5		-0,301	-8.42
<b>67</b>	0.95		-0,022	-7.97

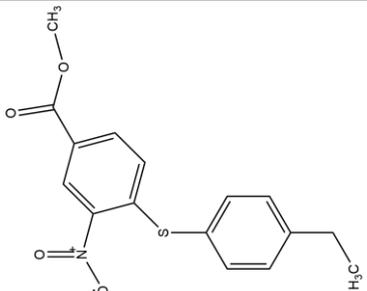
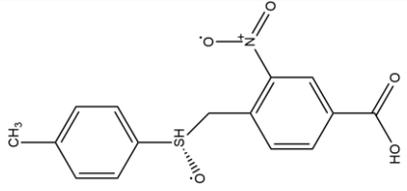
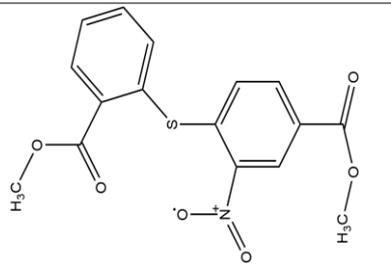
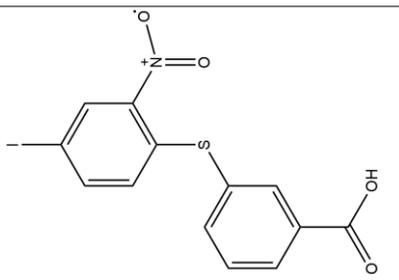
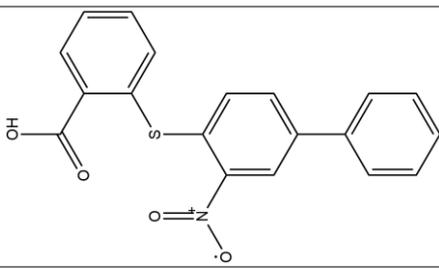
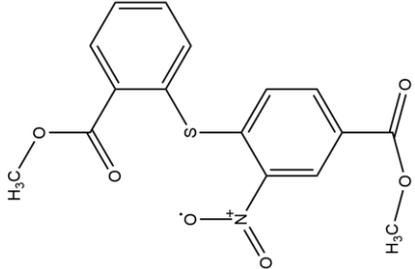
**Annexe2** : Les valeurs de RMSD de 100 complexes protéine/ligand étudiés.

N°	Code PDB du complexe	Code PDB du ligand	RMSD	N°	Code PDB du complexe	RMSD Å	Code PDB du ligand
1	1PMN	984	1.20	51	3V35	5.52	NTI
2	1UOU	CMU	0.82	52	3VEU	1.85	0GO
3	1Z3N	3NA	0.54	53	3WI2	1.10	P98
4	1Z89	62P	0.52	54	3WK4	1.67	S0A
5	1ZS0	EIN	1.34	55	3WK5	1.27	S0C
6	1ZVX	FIN	1.24	56	3WK6	1.16	S0B
7	1ZXC	IH6	1.20	57	3WK7	0.85	S0D
8	2BU5	TF1	0.76	58	3WS8	2.92	X4C
9	2F6T	1C2	0.69	59	4BDT	0.47	HUW
10	2F6V	SK2	0.96	60	4D08	2.79	Q2T
11	2FDU	D1G	0.86	61	4DPF	0.73	0LG
12	2FDV	D2G	1.29	62	4E73	1.35	0NR
13	2FDW	D3G	1.21	63	4EBV	0.61	007
14	2FZD	TOL	0.67	64	4EQC	1.39	XR1
15	2PDG	47D	0.52	65	4G9C	1.09	0WP
16	2Q8I	RDC	0.48	66	4GCA	0.35	2X9
17	2QU6	857	1.19	67	4GID	2.29	0GH
18	2R3H	SCE	1.59	68	4GQR	1.87	MYC
19	2R3J	SCJ	1.30	69	4I0D	0.72	1B7
20	2R3M	SCX	0.82	70	4I0I	1.22	957
21	2R3R	6SC	1.21	71	4I0J	4.08	842
22	2R7B	253	0.65	72	4IGS	1.88	64I
23	2V11	C80	1.70	73	4JNK	1.18	ZHK
24	2VEX	IZ4	2.90	74	4JP9	0.51	1M5
25	2VEY	IZ5	2.68	75	4KZ0	0.80	1UJ

26	<b>3BCJ</b>	<b>FIS</b>	3.71	76	<b>4LAU</b>	0.83	<b>W8X</b>
27	<b>3D3E</b>	<b>D3E</b>	1.49	77	<b>4LB3</b>	1.29	<b>M15</b>
28	<b>3D4N</b>	<b>D4N</b>	1.71	78	<b>4LB4</b>	0.36	<b>1WX</b>
29	<b>3FJ6</b>	<b>CIH</b>	1.14	79	<b>4LBR</b>	1.08	<b>4O9</b>
30	<b>3G5E</b>	<b>Q74</b>	0.33	80	<b>4M0F</b>	1.37	<b>1YK</b>
31	<b>3G42</b>	<b>792</b>	2.67	81	<b>4M2R</b>	1.46	<b>BZ1</b>
32	<b>3MPT</b>	<b>1GK</b>	1.04	82	<b>4NFJ</b>	2.45	<b>JD5</b>
33	<b>3MW1</b>	<b>MIH</b>	1.23	83	<b>4OGN</b>	2.97	<b>2U5</b>
34	<b>3OCS</b>	<b>746</b>	1.43	84	<b>4PVX</b>	2.50	<b>YS1</b>
35	<b>3OHF</b>	<b>3HF</b>	1.81	85	<b>4PVY</b>	1.96	<b>JD1</b>
36	<b>3OHH</b>	<b>3HH</b>	3.19	86	<b>4PZW</b>	3.63	<b>2X4</b>
37	<b>3OOZ</b>	<b>ZOO</b>	0.61	87	<b>4QXS</b>	1.04	<b>WC1</b>
38	<b>3PI5</b>	<b>3P5</b>	0.75	88	<b>4RFZ</b>	0.91	<b>3OV</b>
39	<b>3PIY</b>	<b>585</b>	1.01	89	<b>4XKX</b>	1.32	<b>43K</b>
40	<b>3PJ3</b>	<b>04L</b>	0.77	90	<b>4Y2H</b>	0.59	<b>49K</b>
41	<b>3QQK</b>	<b>X02</b>	2.95	91	<b>4Y30</b>	1.55	<b>49L</b>
42	<b>3QTR</b>	<b>X36</b>	1.02	92	<b>4ZLZ</b>	2.18	<b>4RV</b>
43	<b>3QTW</b>	<b>X3A</b>	0.73	93	<b>5A0C</b>	0.61	<b>JJV</b>
44	<b>3R9O</b>	<b>Z71</b>	0.74	94	<b>5AX3</b>	2.81	<b>5ID</b>
45	<b>3RAH</b>	<b>O1Z</b>	0.55	95	<b>5BOY</b>	2.02	<b>4UE</b>
46	<b>3RAL</b>	<b>04Z</b>	0.59	96	<b>5BVE</b>	0.46	<b>4VG</b>
47	<b>3S3G</b>	<b>TLT</b>	3.59	97	<b>5I3V</b>	3.04	<b>68M</b>
48	<b>3U2C</b>	<b>SUZ</b>	2.81	98	<b>5IKQ</b>	0.59	<b>JMS</b>
49	<b>3U9N</b>	<b>09H</b>	2.62	99	<b>5IKR</b>	0.57	<b>ID8</b>
50	<b>3ULI</b>	<b>1N3</b>	2.92	100	<b>5J3S</b>	1.66	<b>6FQ</b>

**Annexe 3 :** Numéro d'accèsion, structure et le score des 10 meilleures Similaires

Similaire	Structure	Numéro D'accèsion	Score Kcal/mol
S71		5239280	-9.93
S257		91879430	-9.75
S238		91878029	-9.65
S355		122359966	-9.58

<b>S256</b>		91879418	-9.57
<b>S4</b>		366594	-9.54
<b>S104</b>		2729071	-9.48
<b>S204</b>		66066635	-9.39
<b>S117</b>		22145434	-9.38
<b>S230</b>		58872107	-9.36



# *Résumés*



## Résumé

Le docking moléculaire est une méthode souvent utilisée dans les phases initiales du processus de développement de nouveaux médicaments. Dans notre travail de master, le programme AutoDock a été employé pour développer *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'Aldose réductase ; cible thérapeutique clé dans le traitement des complications dégénératives du diabète. Un criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques d'un composé référencé **36** a été effectué. À l'issue de ce criblage, le composé **S71** présentant un score de -9.93 Kcal/mol et un faible potentiel d'absorption gastro-intestinale a subi une série de modifications structurales. Le docking moléculaire des composés qui en résultent fait ressortir le composé **Sub42** comme nouvel inhibiteur de l'AR davantage plus puissant avec un score de -11.93 Kcal/mol. Encore mieux, ce composé a présenté un meilleur profil ADMET.

**Mots clés** : Aldose réductase, AutoDock, Docking moléculaire, Inhibiteur, Score.

## Abstract

Molecular docking is a method often used in the early stages of the development process of new drugs. In our master's work, the AutoDock program has been used to develop a new *in silico* inhibitors of Aldose reductase a key therapeutic target in the treatment of degenerative complications of diabetes. Thus, a virtual screening of a collection of chemical similarities of a compound referred **36** was performed. At the end of this screening, the **compound S71** with a score of -9.93 Kcal/mol and a low potential for gastrointestinal absorption underwent a series of structural modifications. The molecular docking of the resulting compounds highlights the **Sub42** compound as a new and more potent AR inhibitor with a score of -11.93 Kcal/mol. Even better, this compound presented a better ADMET profile.

**Keywords:** Aldose reductase, AutoDock, Molecular docking, Inhibitors, Score

## المخلص

الإرساء الجزيئي هو طريقة تستخدم عادة في المراحل الأولى من عملية تطوير الأدوية الجديدة. في عملنا هذا، استعملنا برنامج AutoDock لتطوير مثبطات جديدة *in silico* لـ Aldose réductase ؛ الهدف العلاجي للمضاعفات التنكسية لمرض السكري. تم تقييم التأثير المثبط لمجموعة من النظائر الكيميائية للمثبط 36. في نهاية هذا الفحص، خضع المماثل رقم 71 ذي النتيجة 9.93- كيلو كالوري/مول وقدرة منخفضة للجهاز الهضمي على امتصاصه لسلسلة من التعديلات الهيكلية. وأبرز الإرساء الجزيئي للمركبات الناتجة أن المركب Sub42 مثبط جديد أكثر فعالية لـ AR بنتيجة 11.93- كيلو كالوري / مول. حتى أنه قدم أفضل خصائص ADMET.

## الكلمات المفتاحية:

الإرساء الجزيئي، AutoDock ، أنزيم Aldose réductase ، طاقة الارتباط، مثبطات.

<b>Année Universitaire 2018/ 2019</b>	<b>Présenté par: Bahita Soraya Salssabila et Hourri Ibtesam</b>
<b>Thème: Conception <i>in silico</i> de nouveaux inhibiteurs de l'Aldose réductase par docking moléculaire</b>	
Mémoire de fin du cycle présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliquée.	
<p style="text-align: center;"><b><u>Résumé</u></b></p> <p>Le docking moléculaire est une méthode souvent utilisée dans les phases initiales du processus de développement de nouveaux médicaments. Dans notre travail de master, le programme AutoDock a été employé pour développer <i>in silico</i> de nouveaux inhibiteurs de l'Aldose réductase ; cible thérapeutique clé dans le traitement des complications dégénératives du diabète. Un criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques d'un composé référencé <b>36</b> a été effectué. À l'issue de ce criblage, le composé <b>S71</b> présentant un score de -9.93 Kcal/mol et un faible potentiel d'absorption gastro-intestinale a subi une série de modifications structurales. Le docking moléculaire des composés qui en résultent fait ressortir le composé <b>Sub42</b> comme nouvel inhibiteur de l'AR davantage plus puissant avec un score de -11.93 Kcal/mol. Encore mieux, ce composé a présenté un meilleur profil ADMET.</p>	
<b>Mots clés :</b> Aldose réductase, AutoDock, Docking moléculaire, Inhibiteur, Score.	
<b>Laboratoire de recherche :</b> Laboratoire de Biochimie Appliquée.	
<p style="text-align: center;">Jury d'évaluation :</p> <p><b>Président du jury :</b> BENSEGUENI A. (Professeur à UFM Constantine 1),  <b>Examinatrice :</b> TENIOU S. (Maitre assistante A à UFM Constantine 1),  <b>Rapporteur :</b> MOKRANI E.H. (Maitre-assistant A à UFM Constantine 1).</p>	
<b>Date de soutenance :</b> 07/07/2019	