

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne démocratique et populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des sciences de la nature et de la vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

**Département de Biochimie et de Biologie Cellulaire et Moléculaire**

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

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Biochimie Appliquée**

**Intitulé :**

**Conception et analyse *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la dihydroorotate déshydrogénase humaine pour le traitement de certaines maladies auto-immunes**

**Présenté et soutenu**

- ❖ Le : 10 / 09 / 2020
- ❖ Par : BOUDRA Amira  
LEMCHENAK Nourhane Malak

**Jury d'évaluation :**

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

Année universitaire : 2019/2020

# Remerciements

Avant tout, nous remercions **Dieu le Tout-Puissant et miséricordieux** de nous avoir guidés à chaque fois que nous nous sommes sentis perdus, et de nous avoir donné la patience et la force de terminer cet humble travail fait avec tant de sérieux, beaucoup de diligence, de persévérance et d'intérêt.

Nos vifs remerciements s'adressent à notre dévoué encadreur en l'occurrence **Mr BENSEGUENI A.** professeur à Université Frères Mentouri-Constantine 1 pour ses conseils, ses orientations, et sa confiance en nous, de nous avoir toujours encouragés à faire ce que nous voulions découvrir, et a toujours montré sa confiance en nous, que nous pouvons tout faire, monsieur nous avons toujours eu besoin d'être entendus et vous l'avez toujours fait merci nous l'apprécions beaucoup.

Nous tenons à remercier sincèrement et à exprimer notre profonde reconnaissance à **Mr MOKRANI E.H.** Maitre-assistant à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1 qui nous a aidés avec ses expériences, connaissances, consignes et conseils, tout en étant toujours présent et disponible, merci encore une fois monsieur pour votre assistance.

Nous remercions vivement **Mr CHIKHI A.** Professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1. C'est un énorme honneur de l'avoir parmi les membres du jury.

Merci à tous ceux qui nous ont soutenus au cours de ces deux années de master, de près ou de loin.

Espérons que ce travail donnera satisfaction au jury et fera honneur à notre département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire.

# Dédicaces

À **mes chers parents**, mes deux yeux à travers lesquels je peux voir l'univers, la vie, la joie, les deux éclaireurs de ma vie, mes deux idoles, ceux qui ont toujours été là à mes côtés, et qui m'ont soutenu dans toutes les situations, qui m'aiment inconditionnellement, ceux qui ont fait de moi qui je suis aujourd'hui et qui donnent un sens à ma vie. **Maman, Papa** aucun mot ne peut exprimer ce que je ressens en parlant de vous deux, tant de fierté et de gratitude, je vous aime énormément, vous êtes ceux qui méritent le plus grand merci, grâce à vous je suis cette fille déterminante et ambitieuse, grâce à vous j'atteins toujours mes objectifs, je suis tellement chanceuse, j'espère que vous êtes toujours fiers de moi, comme je suis toujours fière de vous en tant que personnes et en tant que parents.

À ma chère et adorable sœur **Lamiss Chiraz** et à mon cher petit frère **Abd El Mouaiz**, qui rendent ma vie plus joyeuse et plus jolie, je vous aime tellement tous les deux, et je ne peux pas imaginer ma vie sans vous.

À ma chère tante **Houda** que j'aime, celle qui s'inquiète pour moi, qui essaie toujours de m'aider et de me guider, celle qui m'aime et se comporte comme une seconde maman, merci énormément, je l'apprécie vraiment.

À tous mes précieux amis, surtout ma très chère douce meilleure amie **Izdihar** celle avec qui j'ai partagée tant de choses et de souvenirs que j'apprécie tellement, je suis chanceuse de l'avoir à mes côtés, et mes meilleures amies **Batoul, Yousra, Amira** que l'université m'a fait rencontrer il y a 3 ans, nous avons vécu tellement d'expériences, nous avons ri, pleuré, étudié, appris et découvert diverses choses ensemble, nous sommes tellement amusés ensemble, oui, nos années à l'université sont terminés, mais nous avons certainement gagné notre forte amitié.

À ma binôme **Amira**, la connaître en tant qu'amie était géniale, la découvrir en tant que collègue était encore plus géniale, cela m'a fait réaliser que j'ai une vraie partenaire, une personne avec qui j'ai beaucoup en commun, les mêmes idées et ambitions, l'esprit de compétition, la détermination, et surtout la sincérité, nous avons fait face à tant d'obstacles et de défis, mais nous avons réussi ensemble, c'était un véritable plaisir de travailler avec toi ma chérie, maintenant je suis certaine, qu'ensemble, main dans la main, on peut faire et réaliser littéralement n'importe quoi.

À tous les êtres chers qui m'ont soutenu de près ou de loin,  
je vous remercie tous de tout mon cœur.

*Nourhane Malak*

# Dédicaces

À **mes chers parents** ; j'ai essayé de rassembler des mots, mais je n'ai pas trouvé le terme qu'il faut pour récompenser tous les sacrifices que vous avez toujours consenti pour nous. Ma **mère**, mon **père** tout ce que j'ai réalisé, c'est grâce à vous, grâce à votre amour, vos efforts, vos sacrifices et vos encouragements. Vous étiez toujours mon meilleur soutien moral et matériel. Merci beaucoup ; que Dieu vous accorde une longue vie et une santé de fer et vous protège de tous les maux.

À mes chers frères **Lotfi** et **Amdjed** vous êtes la joie de ma vie. Tout le succès et le bonheur, que Dieu vous protège.

À mon **grand-père**, merci pour votre soutien, votre encouragement votre bénédiction et vos prières. Que Dieu vous prête longue vie et meilleure santé. À **mes grands-mères** et les membres de toute ma famille. Merci à vous tous pour vos vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous accorde une bonne santé.

À ma meilleure amie **Achwak**, tu as été présente de mon côté en toutes circonstances tu as été et tu demeures une sœur ; merci. À mes copines **Batoul**, **yousra** ; **Nourhane Malak** et **Sandra** ; merci à la journée qui nous a réuni, nous avons passé les plus beaux moments ensemble, nous avons partagé nos joies, nous avons vécu des nouvelles expériences ensemble merci pour tous les beaux souvenirs et pour votre amour, votre soutien et vos encouragements. Que Dieu préserve notre amitié.

À ma chère binôme **Nourhane Malak**, dieu nous réunit ensemble pour ce travail que nous espérons sera à la hauteur de nos aspirations. Malgré les obstacles nous avons pu réaliser ce modeste travail à notre entente et notre mutuelle compréhension. Ce travail a été l'une des plus belles œuvres de ma vie ; grâce à ce travail, on a renforcé de plus notre lien amical.

À tous et à toutes personnes ayant contribué à ma réussite de près ou de loin je tien à vous remercier du fond du cœur.

*Amira*

*« Le succès est créé par des gens ordinaires ayant une détermination extraordinaire »*

---

---

## Table des matières

---

---

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

### Partie bibliographique

#### Chapitre 1 : Enzyme dihydroorotate déshydrogénase

1. Introduction .....	3
2. Dihydroorotate déshydrogénase (DHODH).....	3
2.1. Classification .....	3
2.2. Dihydroorotate déshydrogénase <i>humaine</i> .....	4
2.2.1. Structure globale.....	5
2.2.2. Site actif.....	6
2.3. Mécanisme d'action .....	6
3. Inhibiteurs.....	7
3.1. Léflunomide .....	8
3.2. Brequinar .....	9

#### Chapitre 2 : Intérêt thérapeutique de la DHODH

1. Introduction .....	12
2. Synthèse de novo pyrimidine.....	12
3. DHODH humaine comme cible thérapeutique .....	13
3.1. Leucémie myéloïde aiguë .....	14
3.2. Polyarthrite rhumatoïde .....	16
3.3. La sclérose en plaques.....	17

#### Chapitre 3 : Docking moléculaire

1. Introduction .....	20
2. La conception des Médicaments.....	20
3. Interactions intermoléculaire .....	21
3.1. Interactions Van der Waals.....	22
3.2. Liaisons hydrogène .....	22
3.3. Interactions ioniques.....	23
3.4. Interactions aromatiques.....	23
3.5. Effet hydrophobe .....	24
4. Docking moléculaire .....	24

4.1. Docking.....	25
4.1.1. Les méthodes par ajustement de fragment :.....	25
4.1.2. Approche par trajectoire.....	25
4.2 Scoring .....	25
<b>5. Outils de docking .....</b>	<b>26</b>
5.1. Le récepteur .....	26
5.2. Le ligand.....	27
5.3. Logiciels de docking.....	27
5.3.1. AutoDock .....	28
5.3.1.1. AutoGrid .....	29
5.3.1.2. Algorithme génétique Lamarckien (LGA).....	29

## Partie Pratique

### Chapitre 1 : Matériel et méthodes

<b>1. Matériel .....</b>	<b>30</b>
1.1. Microordinateur .....	30
1.2. Banques de données .....	30
1.2.1. Protéine Data Bank.....	30
1.2.2. PubChem.....	30
1.3. Logiciels.....	31
1.3.1. Autodock.....	31
1.3.2. Discovery studio 2020 .....	32
1.3.3. VMD 1.8.7 .....	32
1.3.4. ChemDraw17 .....	33
1.3.5. OpenBabel 2.0.2 .....	34
1.3.6. Microsoft Excel .....	34
1.4 Les serveurs : .....	35
1.4.1. SwissADME .....	35
1.4.2. PreADMET .....	35
<b>2. Méthode.....</b>	<b>36</b>
2.1. Les tests de fiabilité du logiciel : .....	36
2.1.1. Le test RMSD.....	36
2.1.2. L'analyse visuelle .....	36
2.1.3. Test de corrélation linéaire .....	37
2.2. Le docking moléculaire.....	37
2.2.1. Préparation de la cible.....	37

2.2.2.	Préparation du ligand.....	38
2.2.3	Le protocole d'utilisation d'AutoDock.....	38
2.2.3.1.	Préparation du récepteur .....	38
2.2.3.2.	Préparation du ligand.....	38
2.2.3.3	Calcul des grilles .....	38
2.2.3.4.	Docking moléculaire .....	39
2.2.3.5.	Analyse des résultats.....	40
2.3.	Recherche de nouveaux inhibiteurs de la DHODH humaine.....	40
2.3.1.	Criblage virtuel.....	41
2.3.2.	Modification par substitutions .....	41
2.3.3.	Docking moléculaire Poly2- cytochrome 2C9.....	41
2.4.	Propriétés ADMET .....	41
2.4.1.	Propriétés physico-chimiques.....	42
2.4.1.1.	La règle de Lipinski « règle des 5 ».....	42
2.4.1.2.	Règle de Veber .....	43
2.4.1.3.	Inhibition des cytochromes P450.....	43
2.4.1.4.	Solubilité dans l'eau .....	44
2.4.2.	Propriétés pharmacocinétiques .....	44
2.4.2.1.	Absorption gastro-intestinale .....	44
2.4.2.2.	Barrière hématoencéphalique .....	45
2.4.3	Toxicité.....	45
2.4.3.1.	Test de toxicité aiguë.....	45
2.4.3.2.	Test d'AMES.....	46
2.4.3.3.	Inhibition hERG .....	46
2.4.3.4.	Test de cancérogénicité.....	47

## Chapitre 2 : Résultats et discussion

1.	Les tests de fiabilité :.....	48
1.1.	Test RMSD.....	48
1.2.	Analyse visuelle .....	48
1.3.	Test de corrélation linéaire.....	51
1.4.	Conclusion .....	52
2.	Etude des interactions de la DHODH – inhibiteur .....	52
3.	Proposition de nouveaux inhibiteurs de la DHODH .....	56
3.1.	Criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques .....	56
3.2.	Substitutions.....	58

3.2.1. Mono-substitution.....	58
3.2.2. Bi-substitution.....	51
3.2.3. Poly-substitution.....	64
3.2.3.1. Docking moléculaire Poly2- cytochrome 2C9.....	67
3.3. Etude comparative des modes de liaisons des inhibiteurs avec la DHODH	67
4. Résultat filtrage ADMET.....	70
4.1. Propriétés physico-chimiques.....	70
4.2. Propriétés pharmacocinétiques.....	52
4.3. Toxicité potentielle.....	73
4.4. Conclusion.....	74
5. Conclusion générale.....	75
Références bibliographiques	
Annexes	

## Liste des abréviations

---

**2D** : deux dimensions.

**3D** : trois dimensions.

**Å** : Angström.

**AD4** : AutoDock 4.2

**ADMET** : Absorption, distribution, métabolisme, élimination, toxicité

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ADT** : AutoDock Tools.

**ARMM** : Anti-rhumatismaux modificateurs de la maladie

**ARN** : Acide ribonucléique

**ATC-ase** : L-aspartate transcarboxylase

**BBB** : Blood-brain barrier

**Bre** : brequinar

**CMV** : Cytomégalovirus

**CPSII**: Carbamyl phosphate synthétase II

**D** : distance

**Da** : Dalton.

**DHO**: dihydroorotate

**DHOase** : L-dihydroorotase

**DHODH** : dihydroorotate déshydrogénase

**Dlg** : Docking Log file.

**DMARDs**: *disease-modifying antirheumatic drugs*

**Dpf** : Dock Parameters File.

**EMA** : European Medicines Agency

**EMA** : European Medicines Evaluation Agency

**FDA** : Food and Drug Administration

**FMN** : Flavine mononucléotide

**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

**LGA** : Lamarckian genetic algorithm

**LMA** : leucémie myéloïde aiguë

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

**NAD**: Nicotinamide adénine dinucléotide

**NCBI** : National Center for Biotechnology Information

**NCI** : National Institutes of Health

**OMPDC** : Andorotidine '-monophosphatedecarboxylase

**OPRTase** : Orotatephosphoribosyl transférase

**ORO**: Orotate

**PDB** : Protéine Data Bank.

**PR** : Polyarthrite rhumatoïde

**Q** : ubiquinone

**QH2** : dihydroubiquinone

**r** : Coefficient de corrélation linéaire

**RMSD** : Root Mean Square Deviation

**SA** : Simulated annealing

**SAR** : Relation Structure-activité

**SNC** : système nerveux central

**Téri** : Tériflunomide

**TNF** : facteur de nécrose tumeur

**UMP** : uridine monophosphate

**μM** : Micro molaire.

## Liste des figures

---

<b>Figure N°1:</b> Structure 3D de la DHODH humaine (code PDB : 3ZWT) en complexe avec le FMN (Bleu), l'orotate (Rose), l'inhibiteur KFZ (Jaune).....	6
<b>Figure N°2:</b> Schéma du mécanisme d'action de la DHODH.h .....	7
<b>Figure N°3:</b> Structure 2D de Léflunomide et Tériflunomide .....	9
<b>Figure N°4:</b> Structure 2D du Bréquinar .....	10
<b>Figure N°5:</b> La voie de biosynthèse de novo [45] .....	12
<b>Figure N°6:</b> Interaction du composé BAY2402234 (vert) et la DHODH [77] .....	15
<b>Figure N°7:</b> Illustration d'initialisation du développement de la polyarthrite rhumatoïde dans les articulations [35] .....	17
<b>Figure N°8:</b> Schéma de la sclérose en plaques [89] .....	19
<b>Figure N°9:</b> Processus de développement des médicaments .....	21
<b>Figure N°10:</b> Liaisons hydrogènes entre l'oxygène et l'hydrogène .....	23
<b>Figure N°11:</b> Interactions ioniques entre calcium et sodium .....	23
<b>Figure N°12:</b> Interaction $\pi$ - $\pi$ stacking [41] .....	24
<b>Figure N°13:</b> L'effet hydrophobe dans une protéine .....	24
<b>Figure N°14:</b> Utilisation des différents logiciels de docking en 2010-2011 [50] .....	28
<b>Figure N°15:</b> Interface d'accueil de la PDB .....	30
<b>Figure N°16:</b> L'interface de la PubChem .....	31
<b>Figure N°17:</b> L'interface graphique du programme AutoDock .....	32
<b>Figure N°18:</b> L'interface graphique programme Discovery studio 2020 .....	32
<b>Figure N°19:</b> L'interface graphique du programme VMD 1.8.7. ....	33
<b>Figure N°20:</b> L'interface du programme ChemDraw17 .....	33
<b>Figure N°21:</b> l'interface du logiciel OpenBabel 2.0.2 .....	34
<b>Figure N°22:</b> logiciel Excel Microsoft 2016 .....	34
<b>Figure N°23:</b> L'interface graphique de SwissADME .....	35
<b>Figure N°24:</b> L'interface du serveur PreADMET .....	36
<b>Figure N°25:</b> Code 3ZWT de la DHODH.h dans la PDB .....	37
<b>Figure N°26 :</b> Position de la boîte dans le site actif de la <b>3ZWT</b> avec ses dimensions et ses coordonnées X, Y, Z .....	39

<b><u>Figure N°27:</u></b> Les étapes de docking par AutoDock Tools .....	40
<b><u>Figure N°28:</u></b> Structure 3D du Cytochrome P450 .....	44
<b><u>Figure N°29:</u></b> Structure du canal potassique hERG1 [52] .....	46
<b><u>Figure N°30:</u></b> Graphique en secteurs qui présente le pourcentage des valeurs RMSD obtenues .....	48
<b><u>Figure N°31:</u></b> Superposition de la conformation de référence du ligand <b>AUG</b> (en rouge) et celle du docking moléculaire avec AutoDock (en vert) du complexe <b>5IH6</b> .....	49
<b><u>Figure N°32:</u></b> Superposition de la conformation de référence du ligand <b>X8Z</b> (en Rouge) et celle du docking moléculaire avec AutoDock (en vert) du complexe <b>2X8Z</b> .....	50
<b><u>Figure N°33:</u></b> Superposition de la conformation de référence du ligand <b>JD1</b> (en Rouge) et celle du docking moléculaire avec AutoDock (en vert) du complexe <b>4PVY</b> .....	50
<b><u>Figure N°34:</u></b> Superposition de la conformation de référence du ligand <b>X99</b> (en Rouge) et celle du docking moléculaire avec AutoDock (en vert) du complexe <b>3EQ7</b> .....	50
<b><u>Figure N°35:</u></b> Superposition de la conformation de référence du ligand <b>42V</b> (en Rouge) et celle du docking moléculaire avec AutoDock (en vert) du complexe <b>4XRX</b> .....	51
<b><u>Figure N°36:</u></b> Courbe de corrélation linéaire entre Log IC50 des 119 inhibiteurs et leurs ( $\Delta G$ ) .....	51
<b><u>Figure N°37:</u></b> Superposition de la conformation de référence du ligand <b>KFZ</b> (en Rouge) et celle du docking moléculaire avec Autodock (en Vert) du complexe <b>3ZWT</b> .....	53
<b><u>Figure N°38:</u></b> les liaisons hydrogènes du composé C2 au sien du site actif de la DHODH. Le ligand C2 (Rouge) établie trois types de liaisons hydrogènes : une liaison classique (jaune) et deux autre non classique (vert) .....	54
<b><u>Figure N°39:</u></b> Diagrammes des interactions DHODH – composé C2 : en vert les liaisons hydrogène, en rose les liaisons hydrophobiques et orange avec le soufre .....	55
<b><u>Figure N°40:</u></b> les liaisons hydrogènes du composé S21 au sien du site actif de la DHODH : Le ligand S21 (Rouge) établie trois liaisons hydrogènes classique (vert) .....	56
<b><u>Figure N°41 :</u></b> Diagrammes 2D des interactions DHODH – composé S21: en vert les liaisons hydrogène, en rose les liaisons hydrophobiques et orange avec le soufre .....	57
<b><u>Figure N°42:</u></b> Groupements ajoutés lors de la mono-substitutions .....	58
<b><u>Figure N°43:</u></b> la structure de départ pour les mono-substitutions .....	59
<b><u>Figure N°44:</u></b> les liaisons hydrogènes du composé M14 au sien du site actif de la DHODH : Le ligand M14 (Rouge) établie trois liaisons hydrogènes classique (vert).....	60
<b><u>Figure N°45:</u></b> Les liaisons sulfures du composé M14 au sein du site actif de la DHODH. Le ligand M14 (Rouge) établit deux liaisons de type pi-sulfure (jaune) .....	61
<b><u>Figure N°46:</u></b> Diagrammes 2D des interactions DHODH – composé M14 : en vert les liaisons hydrogène, en rose les liaisons hydrophobiques et orange avec le soufre .....	61
<b><u>Figure N°47:</u></b> Les groupements utilisés lors de la bi-substitution .....	62

**Figure N°48:** les liaisons hydrogènes du composé B24 (rouge) au sien du site actif de la DHODH. Le ligand B24 établit quatre liaisons hydrogènes classiques (vert) ..... 63

**Figure N°49 :** Diagrammes 2D des interactions DHODH – composé B24: en vert les liaisons hydrogène, en rose les liaison hydrophobiques et orange avec le soufre ..... 64

**Figure N°50:** structure de l'inhibiteur B24 et son radical carboné encerclé en rouge dans la position R6, avec la démonstration des différents positions choisis pour l'ajout des différents groupements..... 65

**Figure N°51** les liaisons hydrogènes du composé Poly33 (rouge) au sien du site actif de la DHODH. Le ligand Poly33 établit quatre liaisons hydrogènes classique (vert) ..... 65

**Figure N°52 :** Diagrammes 2D des interactions DHODH – composé Poly33: en vert les liaisons hydrogène, en rose les liaisons hydrophobiques et orange avec le soufre ..... 66

**Figure N°53:** Diagrammes 2D des interactions DHODH – analogue Bréquinar: en vert les liaisons hydrogène, en rose les liaisons hydrophobiques et orange avec le soufre ..... 69

**Figure N°54:** Diagrammes 2D des interactions DHODH – Tériflunomide: en vert les liaisons hydrogène, en le rose les liaisons hydrophobiques et orange avec le soufre .... 69

## Liste des tableaux

---

<b><u>Tableau N°1</u></b> : Valeurs de RMSD des Cinq complexes étudiés .....	49
<b><u>Tableau N°2</u></b> : Code <b>3ZWT</b> sa résolution, son ligand ainsi que son RMSD .....	52
<b><u>Tableau N°3</u></b> : Propriétés ADMET des standards Tériflunomide, Brequinar, et le composé C2 .....	55
<b><u>Tableau N°4</u></b> : Propriétés ADMET des standards Teriflunomide, brequinar, et le composé S21 .....	57
<b><u>Tableau N°5</u></b> : Propriétés ADMET des standards Teriflunomide, brequinar, et des composés M92 et M14 .....	59
<b><u>Tableau N°6</u></b> : Propriétés ADMET des standards Teriflunomide, brequinar, et du composé B24 .....	64
<b><u>Tableau N°7</u></b> : Propriétés ADMET des standards Teriflunomide, brequinar, et du composé Poly33 .....	67
<b><u>Tableau N°8</u></b> : Propriétés physico-chimiques des deux standards Tériflunomide et Brequinar, et des composés S21, M14, B24, et Poly33 .....	71
<b><u>Tableau N°9</u></b> : Propriétés pharmacocinétiques des 2 standards : Tériflunomide, Brequinar, et des composés S21, M14, B24, et Poly33 .....	73
<b><u>Tableau N°10</u></b> : Toxicité potentielle des 2 standards : Teriflunomide, Brequinar, et des composés S21, M14, B24, et Poly33 .....	74

---

 **Introduction générale**

---

## Introduction générale

L'importance de l'industrie pharmaceutique en tant que secteur global est indiscutable, il est responsable du développement, de la production et de la commercialisation des médicaments et d'autres produits pharmaceutiques. Au total, le développement d'un médicament est un processus long et coûteux s'étend sur 6 à 15 ans et atteint des coûts de l'ordre des millions de dollars [1]. Les études les plus citées du coût de développement d'un nouveau médicament ont fait état d'une forte augmentation du coût moyen de développement d'un seul nouvel agent thérapeutique de 1,1 milliards de dollars en 2003 à 2,8 milliards de dollars en 2013 [2].

Récemment des études publiées par Olivier et al., 2020 ont estimé que la médiane de l'investissement en recherche et développement nécessaire pour amener un nouveau médicament sur le marché est 985 millions de dollars, ces estimations différaient selon les domaines thérapeutiques, les coûts de développement des médicaments anticancéreux étant les plus élevés [2]. A l'inverse des techniques *in vitro*, l'utilisation des méthodes *in silico* comme le criblage virtuel, présentent le triple avantage d'être plus aisées à mettre en œuvre, peu coûteuses et relativement rapides selon les capacités de calcul disponibles en intervenant lors de la phase de découverte de molécules actives [3]. C'est grâce au criblage virtuel que des millions de composés peuvent être facilement criblés sans avoir à dépenser beaucoup de temps, d'efforts ou d'argent. Dans ce manuscrit, nous nous intéresserons particulièrement aux méthodes de criblage virtuel plus précisément au docking moléculaire.

Le criblage virtuel est le criblage de nombreux composés qui peuvent s'accrocher à une cible particulière (macromolécule) et conduire à la formulation d'un médicament potentiel, il s'agit d'un criblage à haut débit des millions de bases de données des composés dans l'espoir de trouver un composé unique ou un médicament qui peut remplacer un médicament existant ou qui met l'accent sur des maladies sans médicament [4].

Dans le présent travail un amarrage moléculaire protéine-ligand a été réalisé à l'aide du logiciel AutoDock, l'un des programmes de docking moléculaire les plus performants et les plus utilisés afin d'avoir un nouveau inhibiteur de la dihydroorotate déshydrogénase humaine (DHODH. *h*) une enzyme clé de la voie de biosynthèse de novo et une cible qui joue un rôle important dans la thérapie de diverses maladies auto-immunes, tel que la

Polyarthrite rhumatoïde, la Sclérose en plaque ainsi que divers types de cancer spécialement la Leucémie myéloïde aiguë.

Dans ce contexte ; nous avons jugé utile de tester dans un premier temps la fiabilité du programme Autodock au moyen de trois tests. Le premier test consiste à calculer le RMSD « *Root Mean Square Deviation* » c'est-à-dire la déviation en angströms entre la pose réelle du ligand déterminée expérimentalement et la pose calculée par le programme Autodock. Le deuxième test consiste en une analyse visuelle des résultats de RMSD. Enfin le troisième test consiste à calculer le degré de corrélation entre les valeurs expérimentales des IC50 de quelques inhibiteurs provenant de la littérature et leurs scores d'interaction avec la DHODH simulés par Autodock.

Dans un deuxième temps ; une étude bibliographique des inhibiteurs de la DHODH nous a permis de retenir le composé ayant le meilleur IC50 comme structure de départ pour rechercher dans la banque PubChem des structures similaires. Après docking moléculaire par Autodock et calcul de leurs propriétés ADMET grâce aux deux serveurs SwissADME et PreADMET le meilleur similaire servira de structure de base pour la découverte de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la DHODH. *h* grâce à des modifications structurales par mono et poly substitutions. Le docking moléculaire nous révélera les meilleurs inhibiteurs dont les propriétés ADMET seront également déterminées grâce aux deux serveurs déjà cités plus haut.

Notre mémoire est divisé en deux grandes parties. La première est une présentation bibliographique avec un historique de la DHODH, son intérêt en tant que cible thérapeutique, ainsi qu'une description de sa structurelle et une présentation de ses inhibiteurs les plus connus. Cette partie est également pourvue d'un rappel bibliographique sur le docking moléculaire ainsi que ses principes.

La partie pratique constitue le deuxième volet de notre travail et regroupe deux chapitres : le premier chapitre décrit les différents matériel et méthodes utilisés cette étude, le deuxième chapitre expose l'essentiel de nos Résultats et leur discussion.

Le travail sera clôturé par une conclusion et quelques perspectives.

# **Partie Bibliographique**

---

## **> Chapitre 1**

---

## 1. Introduction

La dihydroorotate déshydrogénase a été isolé pour la première fois en 1953 à partir d'extraits de *Clostridium oroticum*, quelques années plus tard, Friedmann et Vennessland ont rapporté la purification et la cristallisation complètes de *C. oroticum* DHODH [5]. En 1999, Batt, D.G. a compilé la littérature sur les inhibiteurs de la DHODH et décrit les tentatives antérieures de trouver des inhibiteurs de DHODH basés sur Basés sur orotate (ORO) et coenzyme CoQ dans son site de liaison [6]. Dernièrement il existe un intérêt croissant pour la découverte des inhibiteurs puissants pour la DHODH comme cible thérapeutique, la recherche en littérature des brevets des inhibiteurs de la DHODH couvrant les dix années de 2007 à 2017 a démontré la présence de 92 brevets, en excluant les résultats dans d'autres domaines (paludisme, agriculture) [7].

## 2. Dihydroorotate déshydrogénase (DHODH)

### 2.1. Classification

Plus de 3400 séquences de la dihydroorotate déshydrogénase sont présentes dans les bases de données [8]. Les DHODH isolées et caractérisées de divers organismes, y compris les procaryotes et les eucaryotes, ont fourni un excellent modèle pour étudier la divergence évolutive des caractéristiques catalytiques et structurales des protéines [5]; il a été démontré que les DHODH varient dans la teneur en cofacteur, l'état oligomère, la localisation subcellulaire ; l'association membranaire [8] et sa préférence pour le substrat [5], ce qui a permis la distinction claire entre deux classes : classe 1 et de classe 2 ; elles même peuvent encore être divisées en sous-classes selon les cofacteurs impliqués [8].

Les DHODH solubles de classe 1 qui existent principalement chez les procaryotes, sont situés dans le cytosol, et sont divisés en sous-classes 1A et 1B, qui sont structurellement et mécaniquement distinctes. Celles de sous-classe 1A sont des protéines homéomères [5], utilisant du fumarate comme accepteur d'électrons [8] et codées par le gène pyrD. Alors que celles de la sous-classe 1B sont des protéines hétérotétramériques [5], utilise le NAD<sup>+</sup> comme accepteur d'électrons [8] et codé par les gènes pyrD et pyrK [5].

Les DHODH des parasites trypanosomatidés appartiennent à la famille 1A et ont été suggérés comme étant des cibles médicamenteuses pour lutter contre la maladie de Chagas, la trypanosomiase africaine, et leishmaniose [9]. Il est intéressant de noter que, dans certains

cas, les deux types d'enzymes se trouvent dans les mêmes organismes (par exemple : *Lactococcus lactis*) [5].

Les enzymes de classe 2 sont des protéines monomères qui se trouvent liées à la membrane interne des mitochondries des eucaryotes supérieurs ; et dans la membrane cytosolique de certains procaryotes [5]. Les DHODH de classe 2 présentent une sérine en tant que base catalytique et utilisent le coenzyme Q / ubiquinones comme oxydant [8].

Elles sont conservées dans plusieurs agents pathogènes tels que, ceux provoquant des infections fongiques, *Helicobacter pylori*, *Toxoplasma gondii* et *Plasmodium falciparum*. Le site de liaison de l'ubiquinone dans *P. falciparum* DHODH (DHODH.*pf*) est connu pour être significativement différent de son homologue humain et plusieurs groupes ont signalé la découverte d'inhibiteurs de DHODH spécifiques aux parasites [9].

La différence cruciale entre les familles 1 et 2 de DHODH est le canal hydrophobe qui est absent dans la famille 1. Les autres caractéristiques dominantes qui distinguent les familles 1 et 2 sont notamment l'Arginine 136 et la Tyrosine 356. Dans la famille 1 l'équivalent de l'Arginine 136 est généralement l'Aspartate ou le Glutamate, et l'équivalent de la Tyrosine est toujours la Glycine. Les deux familles pourraient à peine avoir des charges et des déterminants de forme plus différents dans la région critique près de FMN [10].

## 2.2. Dihydroorotate déshydrogénase humaine

La dihydroorotate déshydrogénase humaine (DHODH, EC 1.3.5.2) [11] appartient à la famille des DHODH de classe 2 qui a le mononucléotide flavine (FMN) comme cofacteur redox et qui peut être trouvé ancré au niveau du feuillet mitochondrial interne [7]. C'est une enzyme qui catalyse la conversion du dihydroorotate (DHO) en orotate (ORO) [7] la quatrième étape [12] de la biosynthèse de novo pyrimidine par un mécanisme séquentiel de ping-pong [7]. Elle est la seule enzyme capable d'effectuer cette conversion et elle est donc essentielle pour la capacité de la cellule à produire de L'UMP uridine monophosphate le premier élément constitutif de la production de d'ARN et d'ADN [12].

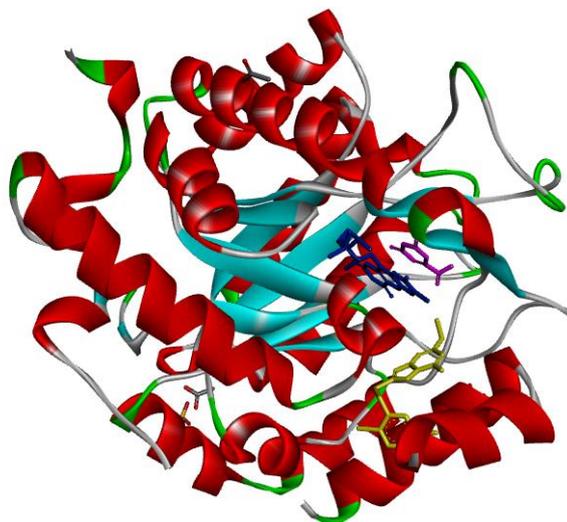
Les inhibiteurs de la DHODH fonctionnent en bloquant cette étape proximale conduisant à l'épuisement rapide de UMP. Malgré que Les cellules sont capables de piéger l'uridine de l'environnement extracellulaire via des transporteurs de nucléosides mais les concentrations d'uridine extracellulaire sont insuffisantes pour maintenir une cellule en division, et donc le manque d'activité DHODH n'est pas compatible avec la vie [12].

### 2.2.1. Structure globale

L'enzyme DHODH possède deux sites redox, l'un où le FMN oxyde le dihydroorotate en orotate et l'autre où l'ubiquinone oxyde le FMNH<sub>2</sub> en FMN, quand l'orotate et le FMN sont liés, ils définissent clairement un site redox de la DHODH humaine. Cette enzyme contient deux domaines connectés par une boucle étendue: un petit domaine N-terminal (Met30-Leu68) et un grand domaine C-terminal (Met78 à l'extrémité C) ; au sommet du canon, trois brins  $\beta$ C,  $\beta$ D et  $\beta$ E courts antiparallèles forment un côté rigide pour le site redox proximal [10].

Le grand domaine C-terminal cytosolique contient le site redox, formé à la fois de la poche de liaison du substrat, où se lie l'ORO, et du site qui se lie au cofacteur FMN [7], il a un pli en fût  $\alpha / \beta$  avec un fût central de huit brins  $\beta$  parallèles ( $\beta$ 1 –  $\beta$ 8) entouré de huit hélices  $\alpha$  ( $\alpha$ 3,  $\alpha$ 4,  $\alpha$ 6 –  $\alpha$ 10 et  $\alpha$ 12) [10].

Le petit domaine N-terminal connecté avec la membrane mitochondriale interne [7], se compose de deux hélices  $\alpha$ ,  $\alpha$ 1 et  $\alpha$ 2, et d'une courte boucle les reliant [10]. La topographie de ce domaine crée une sorte de tunnel à l'intérieur de la membrane qui abrite le site de liaison FMN. Ce tunnel situé profondément dans la membrane mitochondriale interne, il est presque exclusivement constitué d'acides aminés hydrophobes (résidus Leu42, Met43, Leu46, Ala55, Phe58, Leu62, Leu68, Phe98 et Leu359), ce qui est en accord avec le fait que les hélices  $\alpha$  1 et  $\alpha$  2 sont impliqués dans l'association membranaire [7] ; Il est utilisé par le deuxième cofacteur ubiquinone pour atteindre FMN et déclencher la deuxième étape du mécanisme de ping-pong, dans laquelle FMNH<sub>2</sub> est régénéré en FMN et l'ubiquinone (Q) est réduite à dihydroubiquinone (QH<sub>2</sub>) [7]. Plusieurs résidus conservés sont associés aux interactions avec l'ubiquinone: Arginine136 et Tyrosine 356 ; ces résidus interagissent avec plusieurs inhibiteurs de l'enzyme [13].



**Figure N°1:** Structure 3D de la DHODH *humaine* (code PDB : 3ZWT) en complexe avec le FMN (Bleu), l'orotate (Rose), l'inhibiteur KFZ (Jaune).

### 2.2.2. Site actif

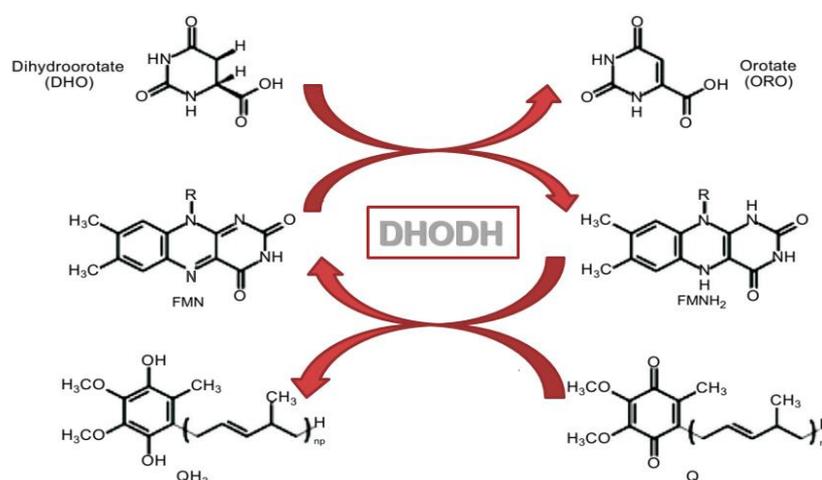
Ce site de liaison de type canal, est situé dans une région de la protéine qui est impliquée dans l'association membranaire ce qui crée un environnement hautement hydrophobe autour de l'entrée du site de liaison, qui est entouré principalement de chaînes latérales d'acides aminés hydrophobes. D'après l'inspection des complexes cristallins, on peut conclure que cette partie du site de liaison offre des interactions hydrophobes avec des groupes non polaires tels que le biphenyle dans le brequinar ou le para- (terifluorométhyl) phényle dans A771726 [11].

Le canal se termine dans une cavité étroite qui contient le site d'oxydoréduction des protéines à côté du cofacteur redox (FMN). Les informations structurales disponibles à partir des complexes cristallins DHODH – A771726 ou DHODH – Brequinar permettent l'identification de plusieurs donneurs / accepteurs d'électrons et des interactions ionisables entre les ligands potentiels et la région enzymatique interne [11].

### 2.3. Mécanisme d'action

La dihydroorotate déshydrogénase (DHODH) catalyse la réaction d'oxydation du dihydroorotate (DHO) en orotate (ORO) et la réduction du mono-nucléotide flavine (FMN) en mono-nucléotide de dihydroflavine (FMNH<sub>2</sub>) comprend deux demi-réactions de couple redox. L'accepteur d'électrons co-substrat utilisé par la DHODH varie selon les organismes. Dans DHODH.*h*, le cofacteur est le FMN et l'ubiquinone (CoQ) est le deuxième substrat [6].

Des études cinétiques ont montré le mécanisme séquentiel de ping-pong pour la conversion de DHO en ORO [14]. Dans la première moitié de la réaction, les électrons sont transférés du DHO à la fraction mono nucléotidique de la flavine (FMN) intermédiaire dans le transfert d'électrons et conduisant à l'oxydation en ORO. Dans la seconde moitié de la réaction et après la dissociation de l'ORO de l'enzyme, le mono nucléotide de dihydroflavine résultant (FMNH<sub>2</sub>) est régénéré par le deuxième cofacteur, coenzyme Q (ubiquinone) l'accepteur d'électrons final [6] et qui est recruté à partir de la membrane mitochondriale interne [7].



**Figure N°2:** Schéma du mécanisme d'action de la DHODH.*h*

### 3. Inhibiteurs

L'importance de la pyrimidine pour la prolifération cellulaire, le métabolisme et la multiplication détermine la DHODH comme cible pour le développement d'un nouveau médicament candidat. De nombreux inhibiteurs ont été décrits jusqu'à présent dans la littérature [6].

Les inhibiteurs de la DHODH humaine ont un pouvoir anti-proliférateur, ils sont utilisés en tant que médicaments contre les maladies auto-immunes et le cancer ainsi que dans le traitement du rejet de greffe grâce à leur potentiel thérapeutique de l'inhibition de la biosynthèse de la novo pyrimidine à l'étape catalysée par la dihydroorotate déshydrogénase. Parmi les agents antiprolifératifs les plus efficaces le Léflunomide et le Brequinar [10,11]

Le Léflunomide / Arava est le premier inhibiteur apparent du DHODH qui a été approuvé pour une utilisation en médecine humaine dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde, il a également été considéré pour le traitement des maladies dermatologiques comme le

psoriasis. De plus, il s'est révélé avoir un effet sur la prolifération des cytomégalovirus et il a été plus récemment affirmé et rapporté comme étant utile pour supprimer la clairance d'inhibition causée par le virus respiratoire syncytial [8].

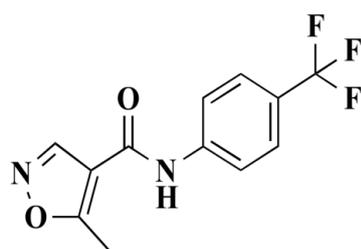
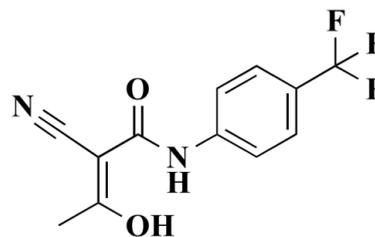
Le Brequinar a été utilisé comme anti-tumoral et agent immunosuppresseur dans les essais cliniques de phase II, mais a échoué en raison de sa fenêtre thérapeutique étroite [15].

### 3.1. Léflunomide

Le Léflunomide (commercialisé sous le nom d'Arava © par Sanofi-Aventis) est un médicament antirhumatismal qui a été approuvé pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde en 1998 [7] des essais cliniques ont montré que leur efficacité et innocuité clinique étaient presque égales au Méthotrexate et à la Sulfasalazine et statistiquement significativement supérieures au Placebo [16]. En 2012 et 2013, le Tériflunomide le métabolite actif du Léflunomide a été approuvé pour le traitement de la Sclérose en plaques chez les patients adultes respectivement par la Food and Drug Administration (FDA) et l'Agence européenne des médicaments (EMA) [13] Par ce qu'il était capable de limiter la disponibilité des cellules T et B autoréactives qui peuvent s'infiltrer dans le système nerveux central (SNC) dans les maladies inflammatoires du SNC, telles que la Sclérose en plaques [7].

Le Léflunomide dérivé de l'isoxazole, est structurellement très différent des autres ARMM. C'est un pro-médicament avec un poids moléculaire de 270 Da. Lors de son administration par voie orale, Il est fortement lié aux protéines dans le plasma (99%) et excrété dans l'urine et les fèces à des degrés similaires. Le Léflunomide est rapidement converti en son métabolite actif, le Tériflunomide, dans la paroi intestinale et le foie via une réaction non enzymatique [17]. Après ce premier passage métabolique, le Tériflunomide ou A771726, intervient dans les effets immunosuppresseurs et modificateurs de la maladie, il présente une demi-vie différente et très longue, en moyenne de plus de deux semaines [7].

La longue demi-vie, la faible inhibition in vitro de la DHODH.h [7] et les effets hors cible résultant de l'inhibition de la voie de novo dans les tissus présentant un taux élevé de renouvellement cellulaire, comme ceux du tractus gastro-intestinal [18] résulte des effets secondaires graves comprennent la diarrhée, des tests hépatiques anormaux, une hypertension artérielle, une myélo suppression, des nausées et une perte de cheveux ; ce qui est une forte raison pour l'ajout futur d'un deuxième inhibiteur de DHODH à la pharmacopée humaine [7].

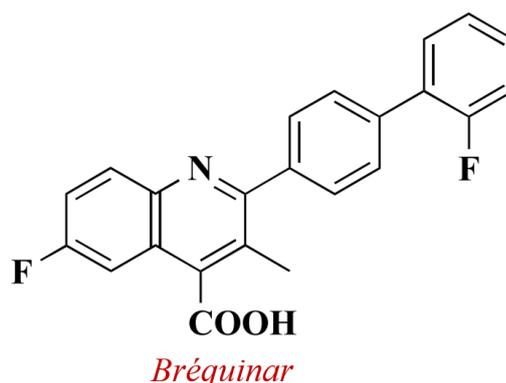
*Léflynomide**Tériflynomide***Figure N°3:** Structure 2D de Léflynomide et Tériflynomide.

Pour diminuer rapidement les concentrations plasmatiques de métabolite actif et faciliter l'élimination des médicaments la Colestyramine orale ou le Charbon activé peuvent être utilisés [16].

Deux mécanismes d'action ont été proposés du Léflynomide: l'inhibition réversible de la dihydroorotate déshydrogénase (DHODH), ainsi que l'inhibition des tyrosines kinases [17]. En conséquence, il est difficile d'attribuer des réponses cellulaires induites par le Léflynomide à la DHODH seule, en raison des contributions probables des effets hors cible [16], mais les concentrations plasmatiques du métabolite actif nécessaires pour interférer avec les tyrosine kinases sont beaucoup plus élevées que celles nécessaires pour l'inhibition de la DHODH [17].

### 3.2. Brequinar

Les effets secondaires mentionnés du Léflynomide / Tériflynomide ont conduit à un effort accru pour découvrir d'autres inhibiteurs de la DHODH *humains* plus puissants et plus sûrs [7]. Les chercheurs ont pensé que le Brequinar trouvé n'avait pas les profils d'effets secondaires du Léflynomide / Tériflynomide, car il était basé sur des chimio-types complètement différents, tout en partageant les mêmes avantages cliniques [15]. Mais Malheureusement, il a été rejeté en tant qu'agent thérapeutique lorsqu'il a été soumis à des essais cliniques pour le cancer, et pour la prévention du rejet de greffe d'organe, en raison de ses sévères effets secondaires, une fenêtre thérapeutique étroite et inconsistante pharmacocinétique [19].



**Figure N°4:** Structure 2D du Brequinar.

Le Brequinar sodium (DUP-785; NSC 369390, Brequinare) a été développé dans les années 1980 [20] il a été découvert grâce à une étude de la relation structure-activité (SAR) comme analogue de l'acide quinoléine carboxylique [13]. C'est l'un des inhibiteurs les plus puissants de la DHODH humaine actuellement connus ; il est environ 100 fois plus puissant que l'A771726 *in vitro*, ce qui justifie le choix du Brequinar comme point de départ pour l'extraction de l'échafaudage [11].

Le composé a montré une activité anti-tumorale contre plusieurs lignées de cellules cancéreuses et a inhibé la croissance de différents modèles de xénogreffes tumorales [13].

#### **Liaison du Brequinar et Tériflunomide a la DHODH**

L'A771726 et le Brequinar utilisent tous les deux des caractéristiques similaires pour se lier au même endroit ; l'analyse de mode de liaison de ces inhibiteurs illustre comment l'ubiquinone et le substrat naturel, se lient dans le même canal [10]. Dans ces expériences, le Brequinar et le A771726 sont révélés se lier au site auquel le cofacteur ubiquinone est supposé se lier, et non au site de liaison du substrat [11]. Partageant l'affinité similaire pour le patch lipophile comme l'ubiquinone, ces inhibiteurs ont également été définis comme des antagonistes redox silencieux de la coenzyme Q de DHODH [7].

Lors de la conception des inhibiteurs de la DHODH, les caractéristiques structurels générales du ligand doivent être en mesure de répondre positivement aux caractéristiques polaires et lipophiles du site de liaison. Les structures du Tériflunomide et du Brequinar présentent une fraction lipophile qui est capable d'établir un certain nombre de contacts hydrophobes avec plusieurs résidus lipophiles dans le tunnel, et une extrémité polaire, via laquelle elle est capable d'interagir avec les chaînes latérales chargées ou polaires [7].

Dans la structure Brequinaire, la fraction polaire est un groupe Carboxylate qui peut former un pont salin presque parfaitement orienté vers la chaîne latérale de Arginine136 et une interaction de liaison hydrogène avec Glutamine47 à la fois dans le sous-site polaire ; dans le mode de liaison dit « de type Brequinar ». Alors que dans le mode de liaison « non-Brequinaire », tel que celui associé au Tériflunomide, la partie polaire est tournée de près de 180 ° afin de former l'interaction avec les résidus Tyrosine356 et via la médiation par une molécule d'eau, avec le résidu Tyrosine147 [7].

Les premières structures cristallographiques de DHODH *humaine* en complexe avec un analogue de Brequinar et en complexe avec le métabolite actif d'A771726 ont été publiées en août 2000 [11].

# **Partie Bibliographique**

---

## **➤ Chapitre 2**

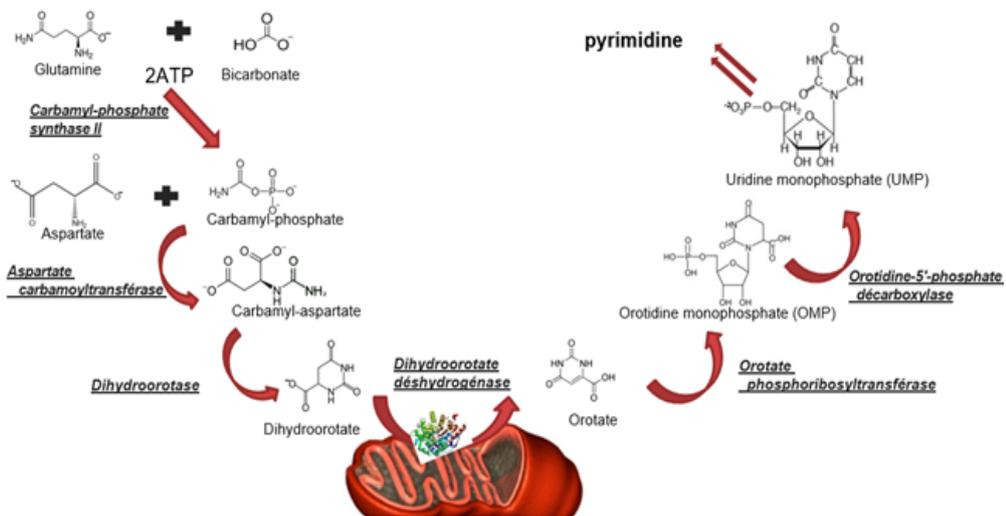
---

## 1. Introduction

Les bases azotés purines et pyrimidines sont des constituants des nucléotides qui sont essentiels pour de nombreux processus vitaux. Les nucléotides jouent un rôle crucial dans le métabolisme et la croissance cellulaire en tant que précurseur clé de l'ADN et de l'ARN [21]. Ils sont une source d'énergie, et des composants essentiels des voies de transduction du signal [22]. Chez les mammifères, dans les conditions physiologiques les pools de nucléotides cellulaires sont maintenus à la fois par des voies de biosynthèse de novo et de sauvetage [9].

## 2. Synthèse de novo pyrimidine

Chez l'homme, il est connu que la pyrimidine de novo biosynthèse [9] (synthétisée à partir des molécules simples) [13] est régulée à la hausse dans le cancer et les cellules immunitaires activées ainsi que les cellules infectées par le virus afin de répondre à la forte demande de pyrimidines en raison de la prolifération accrue des cellules / virus [9]. Contrairement aux cellules au repos ou totalement différenciées qui acquièrent la pyrimidine principalement via les voies de récupération des nucléotides (Voies de sauvetage) [21]. Par exemple des études ont montré que pendant la prolifération, la pyrimidine dans les lymphocytes doit se multiplier environ huit fois [18]. En plus de la synthèse de l'ADN et de l'ARN, les cellules T humaines en prolifération rapide nécessitent une biosynthèse de novo pyrimidine pour la glycosylation des protéines, la biosynthèse des lipides membranaire et la réparation des brins [10].



**Figure N°5:** La voie de biosynthèse de novo [14].

Le flux à travers cette voie (*Figure 5*) commence par un grand complexe multienzymatique cytosolique « CPSII-ATCase-DHOase » qui catalyse les trois premières étapes, il est composé de la Carbamyl phosphate synthétase II (CPSII), l'Aspartate carbamoyltransférase (ATC-ase), la L-dihydroorotase (DHOase) [18]. La dihydroorotate déshydrogénase DHODH l'enzyme de la quatrième étape oxyde le dihydroorotate en orotate ; elle est la seule enzyme de la voie située dans la mitochondrie, elle catalyse une étape engagée et présente donc une cible souhaitable pour arrêter le flux de la voie [14]. Enfin, les deux dernières enzymes de la voie forment un autre complexe multi-cytosolique, « OPRTase-OMPDC » composé de l'Orotate phosphoribosyltransférase (OPRTase) et Orotidine-5'-phosphate décarboxylase (OMPDC) [18].

L'inhibition pharmacologique de cette voie fournit une approche sélective pour cibler les cellules subissant une croissance cellulaire rapide. En conséquence, les enzymes qui font partie de la biosynthèse des novo nucléotides sont des cibles intéressantes pour supprimer la prolifération des cellules cancéreuses [14].

Deux enzymes, la carbamoyl phosphate synthase et la DHODH qui catalysent les étapes engagées, et contrôlent principalement la voie de novo [14]. Mais la dihydroorotate déshydrogénase (DHODH), catalyse l'étape de limitation de la vitesse [9], car la carbamoyl phosphate synthétase n'est pas exprimée dans toutes les cellules cancéreuses. En fait, la carbamoyl phosphate synthase a été observée comme ayant une faible expression ou est complètement régulée à la baisse dans la plupart des carcinomes hépatiques [14].

### 3. DHODH humaine comme cible thérapeutique

Parmi les six enzymes de la voie de biosynthèse de novo, La dihydroorotate déshydrogénase *humaine* (DHODH) joue un rôle clé dans la biosynthèse des nucléotides, et sa présence est très importante dans les cellules à prolifération rapide telles que: les cellules tumorales, les lymphocytes B activées et les cellules T activées [15] ; donc l'inhibition de la DHODH conduit à des niveaux réduits de nucléotides pyrimidiques essentiels [6] ce qui en fait une cible attrayante pour le traitement des diverses maladies.

Plusieurs inhibiteurs ont montré des résultats prometteurs en culture cellulaire et in vivo comme agents antiprolifératifs pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde, de la sclérose en plaques et de différents types de cancer. La synthèse des nucléotides étant essentielle à la réplication virale, le ciblage de la DHODH est également une approche intéressante pour atténuer les infections virales [13].

### 3.1. Leucémie myéloïde aiguë

La leucémie myéloïde aiguë (LMA) est la deuxième leucémie la plus courante chez l'adulte, avec l'incidence la plus élevée chez les patients de plus de 65 ans [23]. La maladie progresse rapidement et est généralement mortelle en quelques semaines ou mois si elle n'est pas traitée [19], indiquant un besoin de thérapie plus efficace et bien tolérée pour la LMA [23]. C'est une maladie qui affecte la lignée myéloïde des globules blancs, les cellules leucémiques perdent leur capacité à se différencier en globules blancs adultes. Cela conduit à l'accumulation dans la moelle osseuse des cellules immatures, caractérisées par un potentiel de prolifération élevé et connues pour interférer avec la production des cellules sanguines normales [19].

Au cours d'une hématopoïèse normale, les cellules myéloïdes passent de cellules hématopoïétiques pro-génitrices qui ont une capacité proliférative élevée à des cellules différenciées en phase terminale avec des taux de prolifération faibles et des durées de vie limitées. Au cours de la leucémogénèse, des mutations dans les cellules souches hématopoïétiques perturbent la différenciation normale et conduisent à un arrêt de la maturation, qui maintient les cellules leucémiques dans un état indifférencié avec une capacité de s'auto-renouveler [23].

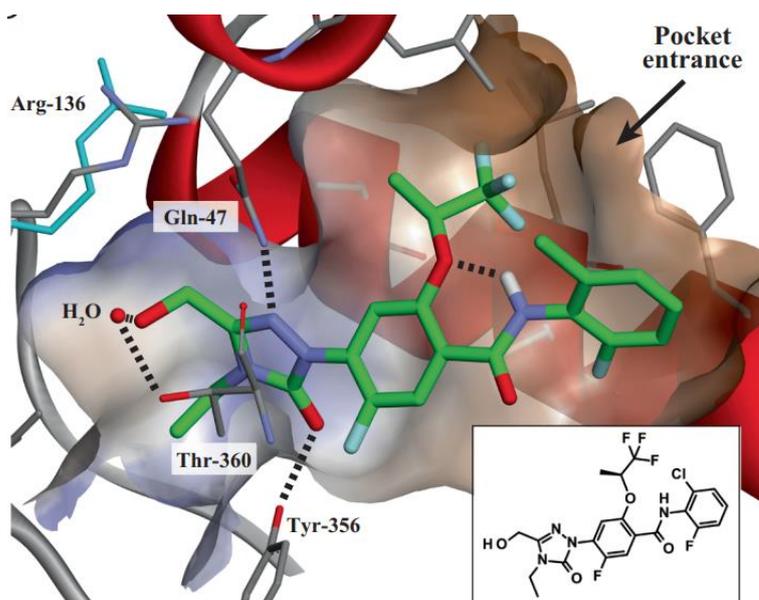
La LMA peut être traitée à partir de deux angles différents; en induisant directement l'apoptose des cellules blastiques avec une chimiothérapie cytotoxique, ou en induisant une différenciation terminale des cellules blastiques et en arrêtant ainsi leur capacité à se renouveler [23]. Historiquement, l'utilisation d'inhibiteurs de petites molécules de la synthèse d'ADN et d'ARN est courante dans la chimiothérapie du cancer, et nous avons des décennies d'expérience avec des molécules efficaces telles que le 5-fluorouracile, la Cytarabine et le Méthotrexate [12]. Cependant, de nombreux patients âgés sont incapables de recevoir une chimiothérapie à haute dose en raison de sa toxicité importante. Plus récemment, des thérapies ont été développées qui ciblent des protéines spécifiques qui interviennent dans l'arrêt de la différenciation cellulaire [23].

Lorsqu'ils ont dépourvu de pyrimidines, les blastes leucémiques myéloïdes aigus ont démontré la mort des cellules. De plus, les cellules survivantes étaient fonctionnellement plus différenciées, comme le démontre la perte de l'activité cellulaire initiatrice de la leucémie [24, 12]. Des études ont suggéré que DHODH.h joue un rôle central dans la

régulation de la différenciation myéloïde dans les modèles *in vitro* et *in vivo*, et ouvre ainsi des perspectives totalement nouvelles pour le traitement de la LMA [19]. En plus qu'elle est exprimée de manière ubiquitine et n'est pas connue pour être mutée ou surexprimée dans le cancer. Cependant, l'utilisation des inhibiteurs de la DHODH dans le traitement de la leucémie myéloïde aiguë s'est révélée plus récemment avoir à la fois un effet cytotoxique et pro-différencie, faisant de la LMA une nouvelle indication attrayante de la maladie [12].

Des études sur le Brequinar, le Léflunomide et le Tériflunomide suggèrent que les inhibiteurs de la DHODH peuvent être à la fois efficaces et bien tolérés [12]. Le Léflunomide, un inhibiteur de la DHODH, a été approuvé comme un médicament immunosuppresseur pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde. Dans les années qui ont suivi, les chercheurs ont suggéré que le léflunomide pouvait être utile dans le traitement de la leucémie [11]. L'utilité potentielle du léflunomide en tant qu'agent chimio thérapeutique a été limitée par sa relative faible puissance et sa très longue demi-vie [12].

Deux inhibiteurs de DHODH.h nouvellement brevetés sont actuellement à l'étude pour le traitement de la LMA. Le premier, ASLAN003 (par ASLAN Pharmaceuticals), est entré dans les essais cliniques de phase II en novembre 2017 (NCT03451084), tandis que le second composé de Bayer (BAY2402234) est entré dans les essais cliniques de phase I en janvier 2018 (NCT03404726). En mai 2018, le brevet contenant la structure BAY2402234 et la description du profil d'activité a été publié [19].



**Figure N°6:** Interaction du composé BAY2402234 (vert) et la DHODH [19].

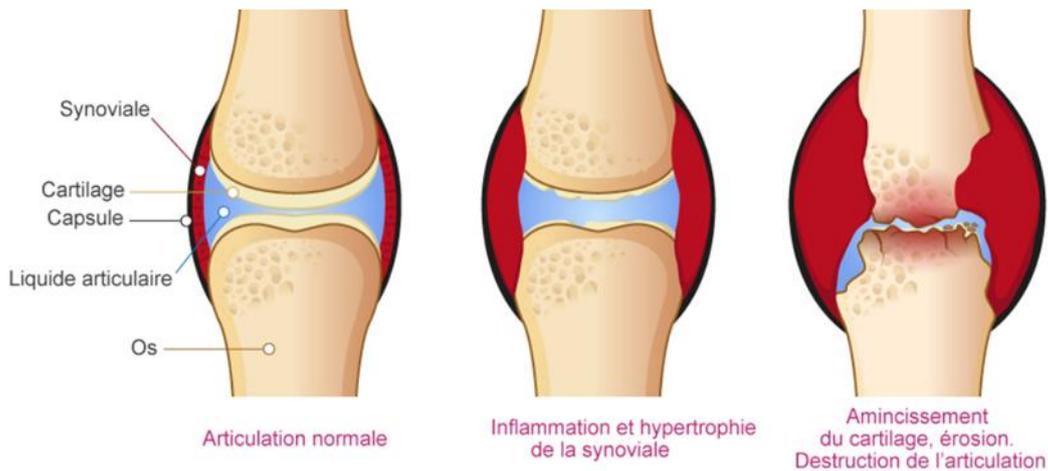
### 3.2. Polyarthrite rhumatoïde

La polyarthrite rhumatoïde (PR), maladie auto-immune multi systémique, est la plus fréquente des maladies rhumatismales inflammatoires chroniques de l'adulte [25]. Elle figure parmi les 10 principales maladies chroniques majeures des pays occidentaux, et présente dans 0,5 à 1,0% de la population adulte dans le monde [26]. Elle atteint généralement trois femmes pour un homme. Ses premiers signes peuvent apparaître entre 40 et 60 ans [25]. Cette maladie détruit à terme les articulations atteintes, altère la qualité de vie des patients et entraîne statistiquement une diminution de l'espérance de vie estimée en moyenne à dix ans par surmortalité cardiovasculaire, comorbidités et iatrogénie [25].

C'est un rhumatisme inflammatoire responsable d'une destruction de l'articulation [27] et qui affecte principalement les petites articulations diarthrodiales des mains et des pieds [26], provoquant des déformations douloureuses et un handicap fonctionnel sévère [25].

Même si des progrès considérables ont été faits dans la compréhension de la physiopathologie de cette maladie, son origine reste toujours inconnue. Plusieurs facteurs interviennent dans le déclenchement de la maladie : des facteurs hormonaux, facteurs génétiques, et des facteurs environnementaux, lorsque tous ces facteurs sont réunis, ils activent une réponse immunitaire innée et acquise incontrôlée qui se traduit par une réaction inflammatoire exagérée, en particulier de la membrane synoviale : une structure habituellement pauci cellulaire avec une couche bordante, c'est-à-dire proche de la cavité articulaire qui est mince [27].

La maladie est due à l'infiltration de cette membrane par des cellules du système immunitaire déstabilisé (lymphocytes T et B, monocytes et macrophages [25], cellules CD4+ et CD8+ [18]) ces derniers s'organisent en agrégats lymphoïdes avec parfois des centres germinaux dont la structure rappelle celle d'un ganglion [27] renforçant le potentiel inflammatoire et la dégradation subséquente des synoviocytes résidents [25]. Dans le modèle le plus simple, les lymphocytes T CD4+ sont activés par des antigènes dans l'articulation et stimulent les plasmocytes, les mastocytes, les macrophages et les fibroblastes synoviaux pour produire des médiateurs inflammatoires (facteur de nécrose tumeur (TNF) et interleukine1 (IL1)), qui stimulent la dégradation de la matrice [18].



**Figure N°7:** Illustration d'initialisation du développement de la polyarthrite rhumatoïde dans les articulations [28].

Les traitements de fond ou DMARDs pour « *disease-modifying antirheumatic drugs* » sont caractérisés par leur capacité à freiner voire pour certains d'entre eux à stopper la progression de la maladie. Le Méthotrexate constitue actuellement le traitement de référence de la PR, c'est le "Gold Standard" à l'échelon mondial. Seuls le Méthotrexate, la Sulfasalazine et le Leflunomide, ont prouvé leur efficacité sur la progression radiologique de la PR, et le Leflunomide est le plus récent des traitements de fond chimiques de la PR. Il a fait la preuve d'une efficacité et d'une tolérance comparable à celle du Méthotrexate et représente actuellement la meilleure alternative dans cette indication. Son efficacité sur la progression des lésions structurales a bien été documentée. La molécule est plutôt bien tolérée [29].

### 3.3. La sclérose en plaques

La sclérose en plaques est une maladie chronique du cerveau et de la moelle épinière. C'est une maladie auto-immune ; le système immunitaire du patient attaque une protéine indispensable à la propagation de l'influx nerveux, la myéline et aux cellules qui la produisent [30]. La myéline est une gaine qui entoure les fibres nerveuses, elle protège ces derniers et accélère la transmission des messages ou influx nerveux. Donc la maladie se caractérise par des réactions d'inflammation qui entraînent par endroits la destruction de la myéline (démýélinisation) en la considérant comme étrangère au corps (réaction auto-immune). Ainsi, à certains endroits du système nerveux, les influx sont plus lents ou complètement bloqués [31].

Cette inflammation joue un rôle majeur dans la survenue des symptômes qui apparaissent au cours des périodes de durée limitée appelées « poussées » et dans la progression de l'atteinte du système nerveux central. Le plus souvent au cours des poussées les symptômes réapparaissent ou de nouveaux symptômes surviennent. Au bout de quelques années, ces derniers laissent des séquelles (symptômes permanents) qui peuvent devenir très invalidantes. La maladie peut en effet porter atteinte à de nombreuses fonctions : le contrôle des mouvements, la perception sensorielle, la mémoire, la parole, etc [30].

En dehors des poussées, l'inflammation disparaît et la myéline se reforme en partie autour des fibres, ce qui entraîne une régression complète ou partielle des symptômes. Cependant, dans les cas de démyélinisation répétée et prolongée, les neurones peuvent être détruits définitivement. Cela cause alors une incapacité permanente [31].

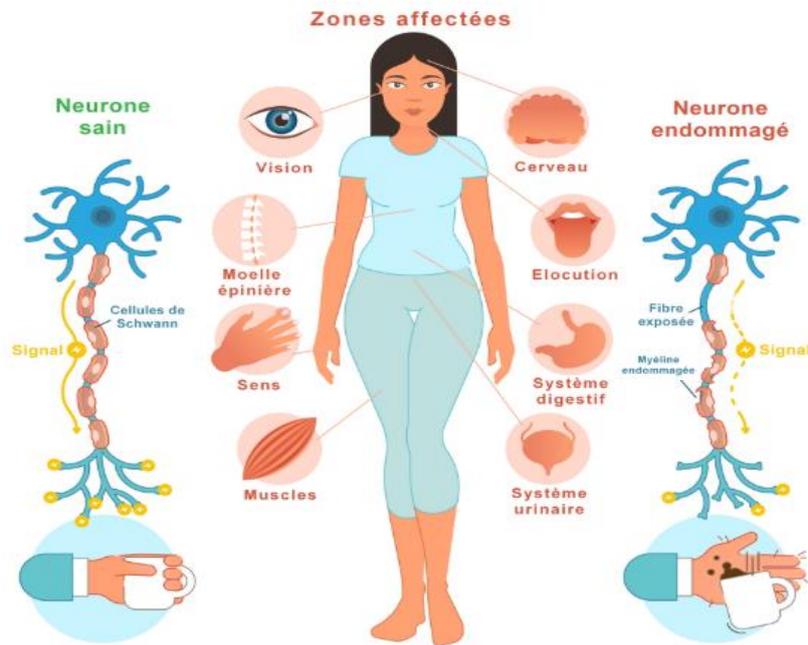
Bien que la cause exacte de la SEP ne soit pas claire, les chercheurs pensent que des facteurs environnementaux tels qu'une infection infantile par le virus d'Epstein-Barr, le tabagisme et une réduction de la vitamine D sérique peuvent déclencher la maladie chez un individu génétiquement prédisposé [32].

Le traitement de la sclérose en plaques fait face à d'énormes changements en raison de l'approbation de nouveaux médicaments, dont certains sont disponibles sous forme de formulations orales. Jusqu'à présent, les quatre médicaments disponibles par voie orale, le Fingolimod, le Diméthylfumarate (BG-12), le Tériflunomide et la Cladribine ont reçu une autorisation de mise sur le marché, tandis que le la Quinimod est toujours en cours de développement [33].

Le Tériflunomide inhibe la DHODH, ce qui conduit à une prolifération réduite des cellules B et des cellules T sans induire de cytotoxicité. La molécule réduit également la libération de cytokines pro-inflammatoires IL-6, IL-8 et MCP-1 à partir de cellules mononucléaires du sang périphérique. Comme il existe une voie de sauvetage indépendante de la DHODH, les réponses immunitaires établies ne sont pas altérées et les cellules neuronales ne souffrent pas de déficience pyrimidique [33].

Dans des études d'une durée d'environ 2 ans, il s'est avéré entraîner une réduction absolue d'environ 0,2 rechute par patient-année par rapport au placebo. La réduction relative du taux de rechute de 30% est similaire à l'effet observé dans les études sur l'acétate de glatiramère ou l'interféron bêta des autres médicaments pour la sclérose en plaque. Malgré

les avantages en termes de rechutes, on ne sait pas encore si cela se traduira par une réduction à long terme de l'invalidité [34].



**Figure N°8:** Schéma de la sclérose en plaques [31].

# **Partie Bibliographique**

---

## **➤ Chapitre 3**

---

## 1. Introduction

Un médicament est toute substance ayant des propriétés curatives ou préventives en ce qui concerne les maladies humaines et animales. Le but de processus de développement de médicament est alors l'identification et la mise sur le marché d'une molécule active qui se lie à la protéine cible de telle manière qu'elle modifie le développement de la maladie. Cette petite molécule doit également pouvoir atteindre la cible protéique à travers l'organisme sans déclencher des effets secondaires délétères indésirables [35].

## 2. La conception des Médicaments

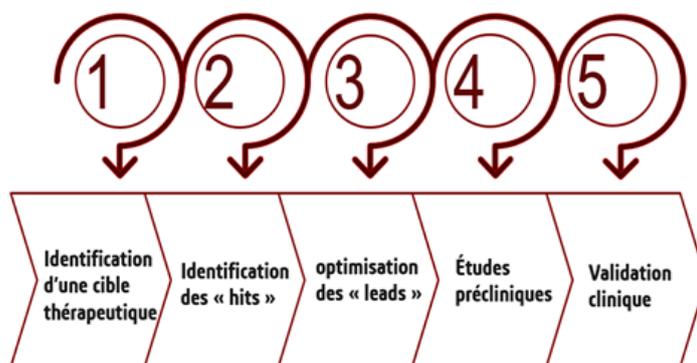
Ce processus est soumis à de nombreuses réglementations [1] et passe par cinq étapes essentielles :

- **Identification d'une cible thérapeutique :** c'est de comprendre à l'échelle moléculaire les processus moléculaires à fin d'identifier une cible qui a son inhibition ou son activation devrait corriger le processus anormal et inversé le phénotype de la maladie [35].
- **Identification des « hits »:** cette étape consiste à identifier un petit composé moléculaire qui inhibe (ou active) la protéine cible, et modifie sa fonction et celle de la voie en aval [35]. Elles sont généralement identifiées via des méthodes de criblage *in vitro*, comme le criblage à haut débit, des méthodes *in silico*, comme le criblage virtuel, ou encore par repositionnement, c'est-à-dire en utilisant un médicament existant [1].
- **Optimisation des « leads » :** Les « hits » identifiés font ensuite l'objet de modifications structurales afin de les évoluer vers des molécules présentant une meilleure affinité et sélectivité pour la cible thérapeutique ainsi que de meilleures propriétés ADMET (administration, distribution, métabolisme, élimination et toxicité). Ces molécules sont appelées « têtes de série » ou « leads » [1].
- **Études précliniques :** L'étude préclinique constitue une étape fondamentale d'évaluation de l'efficacité, la pharmacologie et la toxicité de la molécule candidate sur des modèles animaux (*in vitro* et *in vivo*), afin d'avoir s'il peut être administré par l'Homme [1].
- **Validation clinique:** Elle consiste à valider le médicament en trois étapes d'essais cliniques sur l'homme les résultats sont jugés par les agences juridiques (la Food and

Drug Administration -FDA- aux USA et l'Agence européenne pour l'évaluation des produits médicaux - EMA- en Europe) [35]. En phase I, le médicament est testé sur des volontaires sains, pour établir des dosages sûrs et recueillir des informations sur la pharmacologie et la toxicité du composé chez l'homme [36], excepté pour les anti-cancéreux qui sont testés directement sur des individus malades. La phase II l'étude de l'efficacité et de la relation dose-effet chez un nombre limité de patients malades [1]. La phase III est un essai en double aveugle, qui compare l'efficacité du nouveau médicament à celle d'un traitement de référence. Chacune de ces trois phases nécessite généralement plusieurs années [35].

En cas d'autorisation de la mise sur le marché, une dernière phase dite phase de pharmacovigilance correspond à un suivi du médicament commercialisé notamment pour surveiller l'efficacité du médicament et la déclaration d'éventuels effets secondaires [1].

Malgré toutes les avancées dans la compréhension des maladies et les percées technologiques, ce processus rationnel de découverte de médicaments à un succès limité et seules quelques dizaines de nouveaux médicaments arrivent sur le marché chaque année [35].



**Figure N°9:** processus de développement des médicaments

### 3. Interactions intermoléculaire

La complémentarité de forme est importante car elle permet de laisser entrer le ligand mais elle ne suffit pas pour qu'il reste au sein de la protéine. Pour cela, des interactions non-covalentes doivent être créées. L'ensemble forme un environnement favorable, impliquant des contacts tels que des liaisons hydrogènes, des contacts apolaires, des interactions aromatiques, ioniques et bien d'autres [37].

### 3.1. Interactions Van der Waals

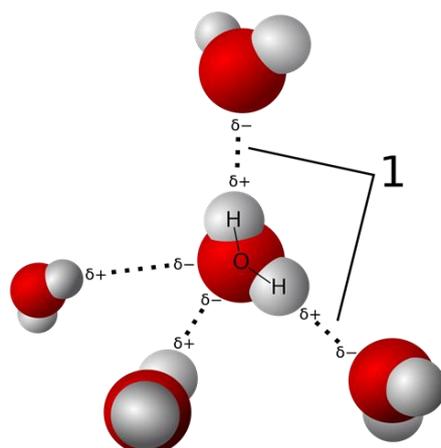
Les interactions Van der Waals sont à courte portée et se produisent lorsque deux atomes ou molécules se rapproche l'une de l'autre. Ces interactions sont la somme des forces d'attraction ou de répulsion entre les molécules, elles sont non covalentes et sont considérés comme des interactions attractives faibles qui deviennent seulement appréciable lorsque les molécules interagissant sont neutres et non polaires [38].

### 3.2. Liaisons hydrogène

La liaison hydrogène met en jeu un atome d'hydrogène, lié d'une façon covalente à un atome donneur d'hydrogène, et un atome accepteur de liaison hydrogène. Tel que l'oxygène, l'azote et le fluor. La distance n'est pas la seule composante géométrique à être influencée par la composition atomique et environnements directs des atomes : l'angle  $\theta$  réalisé entre le donneur et l'accepteur d'hydrogène est aussi impacté. Une liaison forte est caractérisée par un angle  $\theta$  de  $180^\circ$ , cependant, plus la distance augmente, plus celui-ci tend vers  $90^\circ$  [37].

Une nouvelle définition de la liaison hydrogène est recommandée en 2011 par Elangannan Arunan et al, cette définition courte est suivie d'une liste de critères expérimentaux et / ou théoriques qui peuvent être utilisés comme preuve de la présence de la liaison hydrogène : « La liaison hydrogène est une interaction attrayante entre un atome d'hydrogène d'une molécule ou d'un fragment moléculaire X – H dans lequel X est plus électro-négatif que H, et un atome ou un groupe d'atomes dans la même molécule ou une molécule différente, dans laquelle il existe des preuves de formation de liens » [39].

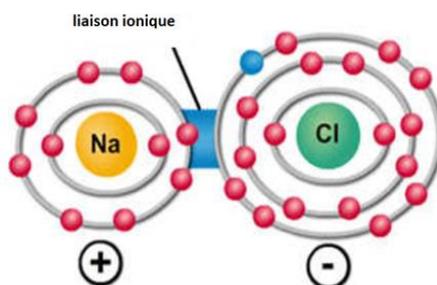
Par rapport à une liaison covalente tel que C-C ou C-N qui ont une énergie de dissociation de 348 kJ/mol et 308 kJ/mol successivement, les liaisons hydrogènes sont énergétiquement beaucoup plus faibles puisqu'elle variant entre 10 et 40 kJ/mol, permettant ainsi d'être créées et rompues plus facilement qu'une liaison covalente. Le fluorure d'hydrogène et l'ion fluorure réalisent une liaison hydrogène plus stable énergétiquement (d'énergie de dissociation = 212) qu'une liaison covalente N-N (d'énergie de dissociation = 170). La distance est en moyenne de 2.3 Å [37].



**Figure N°10:** Liaisons hydrogènes entre l'oxygène et l'hydrogène.

### 3.3. Interactions ioniques

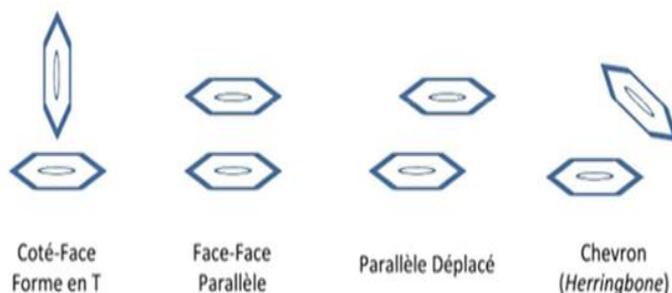
Les interactions ioniques résultent d'une force d'attraction électrostatique entre deux atomes de charges opposées tels groupement guanidinium et un carboxylate. La nature et la force de ces interactions sont aussi très dépendantes du contexte atomique des protagonistes et de leur distance. Les interactions ioniques sont des interactions fortes pouvant aller de 40 à 500 kJ/mol [37].



**Figure N°11:** Interactions ioniques entre calcium et sodium.

### 3.4. Interactions aromatiques

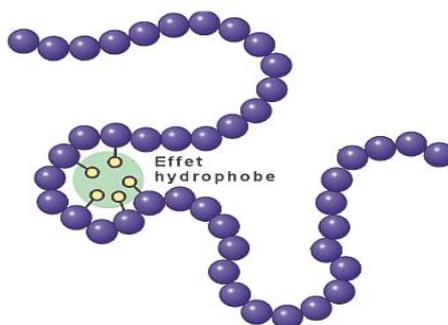
Les interactions aromatiques sont des exemples typiques d'interactions entre des groupements hydrophobes. Il existe différents types de positionnement entre deux cycles aromatiques, présentés dans la *figure 12*. L'orientation choisie par deux cycles aromatiques est dépendante du contexte structural du ligand comme de la protéine, impliquant un effet de conformation des deux parties et de leurs substituants [37].



**Figure N°12:** Interaction  $\pi$ - $\pi$  stacking [37].

### 3.5. Effet hydrophobe

Les molécules ou groupes d'atomes non polaires ne sont pas capables de former des liaisons hydrogènes et ne peuvent donc pas s'hydrater : pour cette raison, on les nomme substances hydrophobes. L'effet hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence de façon à minimiser les contacts avec l'eau. Les liaisons hydrophobes possèdent une énergie de l'ordre de 7 kcal/mol [40].



**Figure N°13:** L'effet hydrophobe dans une protéine.

## 4. Docking moléculaire

L'utilisation des méthodes de docking dans le processus de conception de médicaments a débuté il y a plus de 30 ans [41]. Initialement, il n'était utilisé que pour prédire et reproduire des complexes protéine-ligand, mais les succès de ces premières études ont conduit à l'exploration de docking moléculaire comme outil prometteur dans la découverte de médicaments pour trouver des résultats et optimiser les composés « Hits » [42]. C'est une approche importante pour le criblage virtuel à grande échelle [43]. Il est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales [19].

Le processus de docking moléculaire est de rechercher les conformations des protéines et des ligands en fonction de leurs structures tridimensionnelles avec l'énergie de liaison la

plus basse. Les ligands sont placés au site actif des récepteurs protéiques, et des orientations et des conformations raisonnables sont recherchées pour correspondre à la forme et à l'interaction des ligands et des récepteurs [43]. Il peut également également contribuer à l'analyse du métabolisme des médicaments à l'aide de structures telles que les isoformes du cytochrome P450 [44]. Le processus de simulation par docking moléculaire se fait en deux principales étapes : Docking et scoring.

#### 4.1. Docking

L'amarrage moléculaire commence par l'étape appelée docking dont il existe l'application d'algorithmes d'ancrage qui posent de petites molécules dans le site actif [44] ce qui permet au ligand d'avoir différentes positions et plusieurs conformations au niveau du site actif de la protéine, dans le but de garder la meilleure et la plus favorable. Il existe deux approches essentielles pour le docking.

##### 4.1.1. Les méthodes par ajustement de fragment :

Elles commencent par construire un modèle « en négatif » du site actif. Les ligands sont décomposés en fragments puis reconstruits dans le modèle négatif du site, en essayant de faire correspondre les géométries ainsi que les fonctions chimiques. Des logiciels tels que DOCK ou SURFLEX utilisent cette approche qui permet notamment un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés.

##### 4.1.2. Approche par trajectoire

Elle est plus précise : à partir d'une position initiale aléatoire, à l'extérieur du site actif, le ligand explore le site étudié par la répétition successive de mouvements et d'évaluations de l'interaction ligand-récepteur. Les mouvements sont effectués par des opérations de translation, de rotation et de changement de conformation. L'énergie d'interaction est calculée par une fonction énergétique. Les mouvements du cycle à venir sont guidés par les variations d'énergie induites par les mouvements des cycles précédents. L'algorithme s'arrête lorsqu'il a trouvé la position idéale du ligand dans le récepteur. Ces techniques sont plus lentes que celles par matching mais prennent mieux en compte la flexibilité du ligand et permettent l'exploration de régions plus vastes. AUTODOCK fait partie de cette approche [45].

#### 4.2 Scoring

La deuxième étape nommée scoring dont les algorithmes sont complétés par des fonctions de score, qui sont des champs de force pour évaluer l'énergie de la conformation

de docking [43]. Autrement dit ces algorithmes évaluent l'affinité entre le ligand et la protéine pour donner un score aux conformations issus de l'étape du docking [46]. Une fonction de scoring raisonnable peut non seulement évaluer correctement les résultats de docking, mais elle peut également distinguer la différence entre les résultats des différents dockings [44] et permet de ressortir le ligand ayant la meilleure pose [46].

L'évaluation et le classement des conformations de ligand prédites est un aspect crucial du criblage virtuel basé sur la structure. Car même lorsque les conformations de liaison sont correctement prédites, les calculs ne finissent pas par réussir s'ils ne différencient pas les poses correctes des incorrects et si les « vrais » ligands ne peuvent pas être identifiés. Ainsi, la conception de fonctions et de schémas de score fiables est d'une importance fondamentale [44].

## 5. Outils de docking

Les éléments indispensables pour pratiquer un docking moléculaire se limitent en la structure 3D de la cible protéique (le récepteur), une petite molécule appelée ligand et un programme de docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi [47].

### 5.1. Le récepteur

La connaissance de la structure 3D d'une protéine se révèle donc être d'une importance capitale. Cette structure est obtenue généralement à partir des banques de données PDB.

La Protéine Data Bank (PDB) est un répertoire mondial de dépôt d'informations sur la structure tridimensionnelle de macromolécules biologiques : protéines, essentiellement et des acides nucléiques. Les structures tridimensionnelles sont issues principalement d'analyses par diffraction des rayons X, les autres par résonance magnétique nucléaire (RMN) ou de modélisations moléculaires. La banque contient des fichiers pour chaque modèle moléculaire. Ces fichiers décrivent la localisation exacte de chaque atome de la macromolécule étudiée, c'est-à-dire les coordonnées cartésiennes de l'atome dans un repère à trois dimensions [48].

Le nombre de structures protéiques connues est relativement faible par rapport au nombre de séquences disponibles dans les banques de données de séquences. Donc si la structure 3D protéine cherchée n'est pas disponible la modélisation par homologie permet de construire un modèle tridimensionnel de cette protéine en se basant sur son alignement avec une ou plusieurs protéines de structure connue [49].

## 5.2. Le ligand

Le docking moléculaire consiste à prédire la meilleure conformation du ligand 3D au sein de l'espace du site actif. Pour y obtenir, il existe deux moyens :

- **Le premier moyen** consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer sous différents formats (*pdb*, *mol*, *mol2*...etc.) grâce à des programmes de construction moléculaire 3D tels que Titan, ChemDraw, Arguslab, Marvin, Sybyl...etc.

- **Le second moyen** consistant à consulter des chimiothèques [50].

Les chimiothèques disponibles publiquement ou commercialement se divisent en 4 grandes classes : Chimiothèques de composés virtuels ; Les chimiothèques de fragments ; les chimiothèques de molécules commerciales : elles regroupent l'ensemble des molécules ayant déjà été synthétisées ou extraites de bioressources et ils sont disponibles à l'achat tel que la chimiothèque ZINC et enfin les chimiothèques de données bioactives qui nous intéressent dans le présent travail [1].

Les chimiothèques de données bioactives : elles recensent des données d'activité et/ou d'affinité de couples ligands/protéines issues de tests expérimentaux. Elles sont utilisées pour la construction, l'évaluation et le calibrage de modèles de criblage aussi bien basés sur le ligand que sur la structure (ChEMBL, PubChem, NRLiSt BDB5) [1].

**PubChem** : Depuis son lancement en 2004, par le National Center for Biotechnology Information (NCBI), la PubChem est devenu une ressource d'information chimique clé. Cette base de donnée ouverte offre des informations sur les structures chimiques, les identifiants, les propriétés chimiques et physiques, les activités biologiques, les brevets, la santé, la sécurité, les données de toxicité et bien d'autres [51].

Elle contient principalement de petites molécules, mais aussi des molécules plus grandes telles que des nucléotides, des glucides, des lipides, des peptides et des macromolécules chimiquement modifiées et recueille des informations sur les structures chimiques, les identifiants, les propriétés chimiques et physiques, les activités biologiques, les brevets, la santé, la sécurité, les données de toxicité et bien d'autres [51].

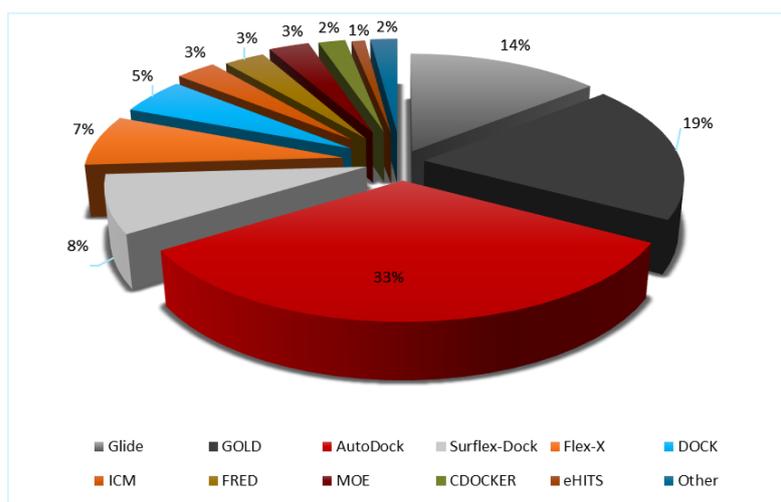
## 5.3. Logiciels de docking

Le docking moléculaire est une approche de calcul très importante dans la conception de médicaments [52] assisté par ordinateur [43]. Ce dernier est fourni par des programmes de

docking moléculaire qui jouent un rôle majeur dans le criblage virtuel de **docking** et de **scoring**, et donc ils assument la responsabilité principale de la qualité de scoring dans le criblage virtuel [52]. La plupart des méthodes d'amarrage utilisées à l'heure actuelle dans la recherche universitaire et industrielle supposent toutes une protéine rigide [53].

De nos jours, une variété de logiciels de docking est disponible pour la communauté scientifique [54]. Des programmes nouvellement développés sont publiés chaque année [52]. Au cours des deux dernières décennies, une grande variété d'outils et de programmes de docking, tels que AutoDock, AutoDock Vina, LeDock19, rDock, UCSF DOCK, LigandFit, Glide, GOLD, MOE Dock, Surflex-Dock [54] DOCK, FlexX, ICM, and Surflex [52] etc..., ont été développés pour les deux utilisations commerciales et universitaires [54].

Les trois logiciels les plus populaires sont : AutoDock, Glide et GOLD [50] (Voir figure N°19). AutoDock a rassemblé une grande communauté d'utilisateurs et est devenu le logiciel d'amarrage le plus cité [54].



**Figure N°14:** Utilisation des différents logiciels de docking en 2010-2011 [41].

### 5.3.1. AutoDock

AutoDock est une suite d'outils d'ancrage automatisés. Il est conçu pour prédire comment de petites molécules, telles que des substrats ou des candidats-médicaments, se lient à un récepteur de structure 3D connue [55].

Depuis sa sortie en 1990, AutoDock s'est avéré être un outil efficace capable de prédire rapidement et avec précision les conformations liées et les énergies de liaison des ligands avec des cibles macromoléculaires [56].

Dans la version la plus récente et actuelle d'AutoDock, qui est AutoDock4 la protéine est traitée comme une molécule rigide [57]. Il incorpore une modélisation conformationnelle explicite des chaînes latérales spécifiées dans le récepteur. Cette capacité fournit une méthode efficace pour l'analyse des ligands attachés de manière covalente [56].

Pour effectuer une expérience de docking ligand-récepteur, le logiciel accepte en entrée les coordonnées ligand et macromolécule, puis utilise **l'algorithme génétique lamarckien** (LGA) pour générer des positions de ligand et minimiser les énergies de liaison en utilisant des cartes de grille de potentiel par paires (grid maps) [58] calculées par **AutoGrid** [54]. Chaque station d'accueil est composée de plusieurs exécutions indépendantes de la LGA, limitées à un nombre spécifié par l'utilisateur d'évaluations énergétiques ou de générations. Les exécutions individuelles de la LGA sont regroupées et classées pour générer le résultat final de la station d'accueil [58].

#### 5.3.1.1. AutoGrid

La protéine, en utilisant la procédure AutoGrid d'AutoDock 4.2, est fixée dans une grille tridimensionnelle et un atome de sonde est situé à chaque point de la grille. Le site actif est déterminé avec la boîte de grille et il doit être suffisamment grand pour accueillir tous les composés amarrés possibles. Les grilles d'affinité AutoGrid sont calculées pour chaque type d'atome dans le ligand, généralement carbone, oxygène, azote et hydrogène [57].

#### 5.3.1.2. Algorithme génétique Lamarckien (LGA)

L'algorithme génétique lamarckien (LGA) c'est l'algorithme de recherche par défaut d'AutoDock 4.2 (AD4) qui permet de générer les positions de ligand. C'est un algorithme génétique hybride avec optimisation locale qui utilise une fonction de score d'énergie libre paramétrée pour estimer l'énergie de liaison [58]. Solis et Wets [10]. Morris et. Al [7] ont montré que l'algorithme génétique lamarckien est capable de gérer des ligands avec un plus grand nombre de degrés de liberté que la méthode de recuit simulé SA (simulated annealing), ou des algorithmes génétiques GA traditionnel [14] utilisés dans les versions antérieures d'AutoDock [59].

# **Partie Pratique**

---

## **> Chapitre 1**

---

La motivation de ce travail découle de problème de la conception de médicaments assistée par ordinateur, et en particulier par docking moléculaire afin d'avoir un nouvel inhibiteur plus puissant avec des propriétés ADMET meilleur que celles des génériques existants. Pour y atteindre, nous avons utilisé le matériel suivant :

## 1. Matériel

### 1.1. Microordinateur

Dans notre travail nous avons utilisé un microordinateur ayant un processeur 2,70 GHz Intel (R) Core (TM) i7 4eme génération et une mémoire vive de 8GO.

Tous les programmes utilisés dans cette étude ont été installés sous système d'exploitation Windows 10 (64 bits) version 2019.

### 1.2. Banques de données

#### 1.2.1. Protéine Data Bank

La PDB est gratuitement accessible par Internet et contient un grand nombre d'informations complémentaires comme la séquence ou la phylogénie des macromolécules [19]. Elle est la plus grande archive des structures 3D en juin 2020 elle a contenu **164391** structures [60]. Pour notre travail elle nous a proposé des différentes structures du complexe DHODH-inhibiteur de différentes espèces ainsi que celle humaine ce qui nous a permis d'atteindre notre finalité.



**Figure N°15:** Interface d'accueil de la PDB.

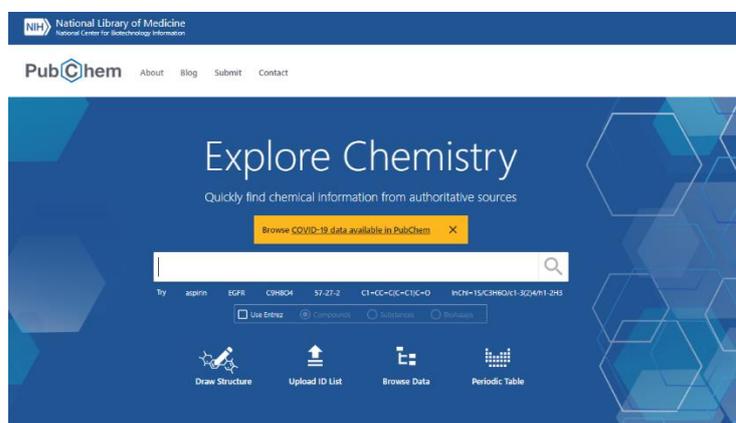
#### 1.2.2. PubChem

**PubChem** est une banque de données américaine de molécules chimiques gérée par le « *National Center for Biotechnology Information* » (NCBI), branche de la Bibliothèque

nationale de médecine des États-Unis sous l'autorité des « *National Institutes of Health* » (NCI) [61].

Elle répertorie plusieurs millions de composés en mettant en ligne, gratuitement, pour chaque substance une grande quantité de données de divers ordres : chimique, biochimique, pharmacologique, production, toxicologie, environnemental, etc... [61]. En juin 2020 la PubChem a offert **102, 704, 372** de composés chimiques [51].

On a consulté cette chimiothèque afin de chercher et de télécharger les similaires de l'inhibiteur de la DHODH pour réaliser le criblage virtuel. Ces derniers ont été téléchargés sous format *sdf*. La **PubChem** peut être consultée via le lien suivant : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> [51].

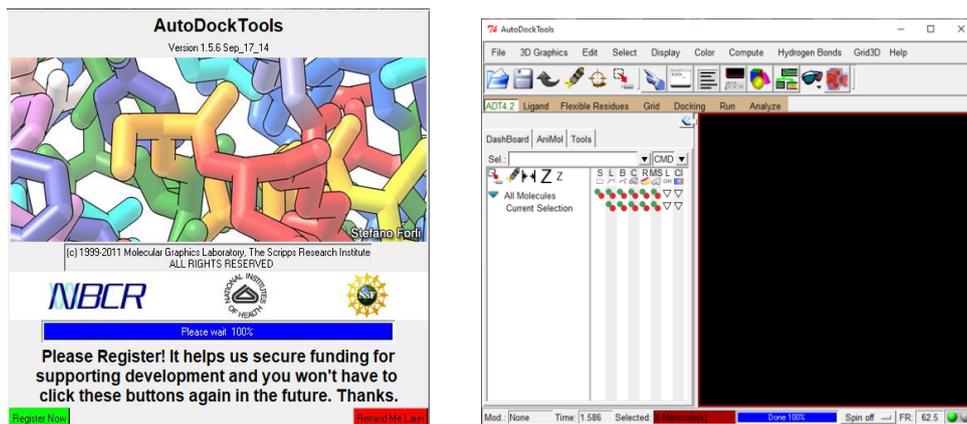


**Figure N° 16:** L'interface de la PubChem.

### 1.3. Logiciels

#### 1.3.1. Autodock

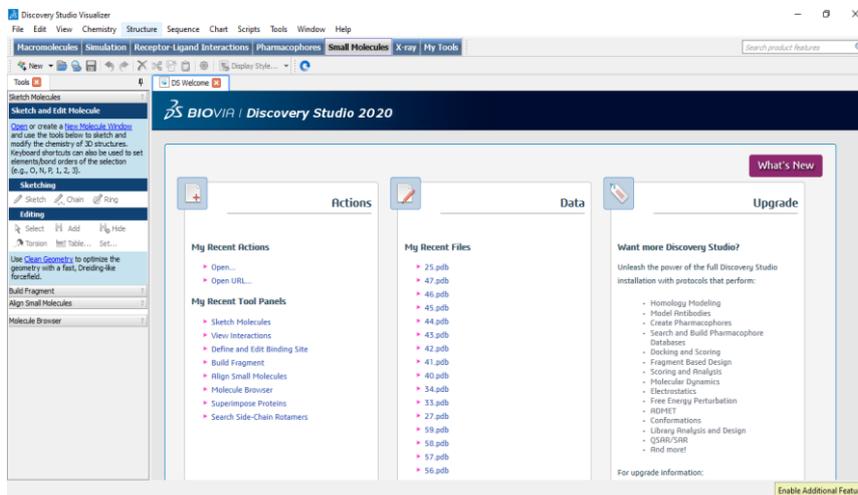
L'amarrage moléculaire a été réalisé à l'aide du programme AutoDock dans sa version la plus récente 4.2.6. Ce programme est un ensemble de deux sous-programme, AutoDock effectue l'amarrage du ligand à un ensemble de grilles décrivant la protéine cible, Autogrid pré-calculé ces grilles. Ce programme est fourni d'une interface graphique appelée AutoDockTools, afin de faciliter l'utilisation et la visualisation des résultats. La dernière version du AutoDock fait partie de la catégorie des méthodes de stimulation par trajectoire et il dispose d'un algorithme génétique Lamarckien AGL un algorithme qui donne les résultats les plus fiables et les temps de calcul les plus courts.



**Figure N°17:** L'interface graphique du programme AutoDock.

### 1.3.2. Discovery studio 2020

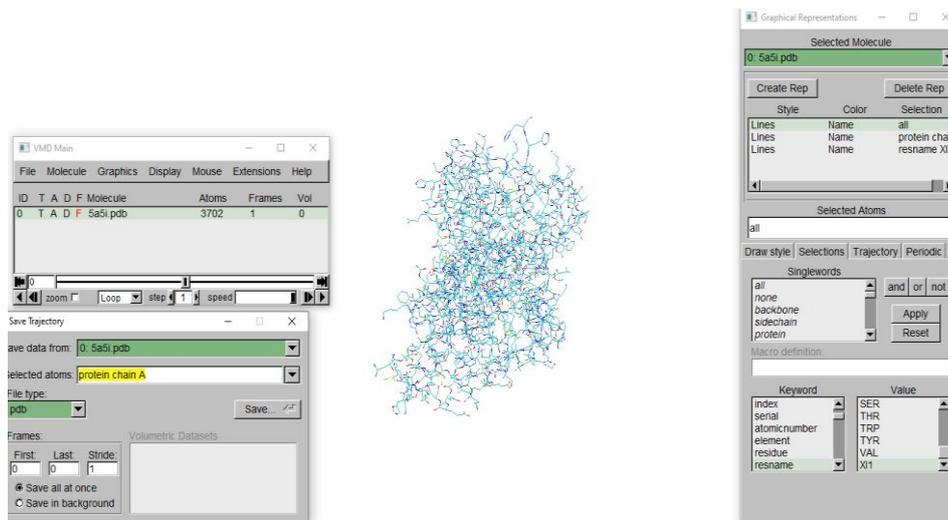
Les structures 3D des ligands issus de la littérature ont été construites en utilisant le programme Discovery studio 2020 la version majeure de BIOVIA [62]. Ce programme est gratuitement accessible et propose des options pour la construction des molécules en 3D ainsi que leur optimisation et leur enregistrement sous différents formats (*pdb*, *sml*, *mol*). Ainsi il a été utile pour réaliser la visualisation des résultats de docking par des diagrammes 2D.



**Figure N°18:** L'interface graphique programme Discovery studio 2020.

### 1.3.3. VMD 1.8.7

Visual Molecular Dynamics, ce programme fournit une grande variété de méthodes pour rendre et colorer une molécule, ce qui donne une visualisation bien détaillé du complexe protéique (les différents ligands, molécules d'eau, les chaînes de l'enzyme) que du ligand au sein du site actif [63]. Ce dernier nous a permis de séparer les complexes protéine-ligand issus de la PDB.

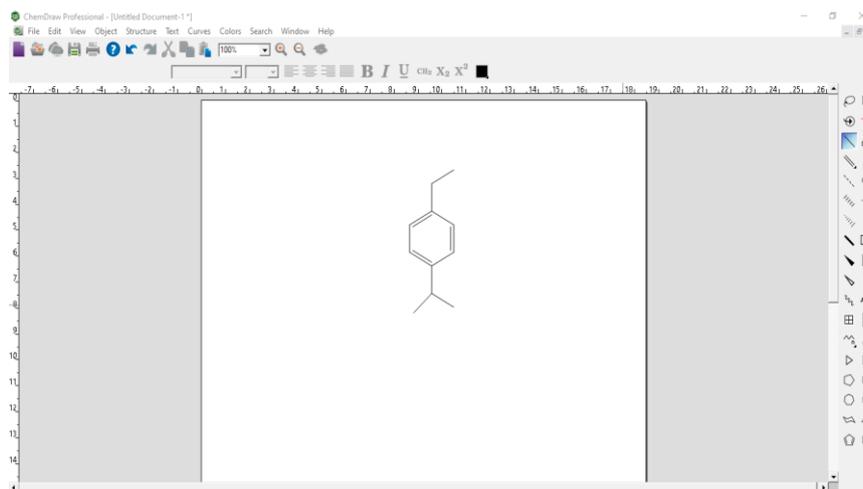


**Figure N°19:** L'interface graphique du programme VMD 1.8.7.

### 1.3.4. ChemDraw17

Le logiciel **ChemDraw** est un éditeur de molécules et un outil de dessin chimique qui fait partie de la suite de programmes ChemOffice. C'est un outil puissant, qui contient une interface de dessin facile à utiliser, pour produire des dessins chimiques. De plus il offre à son utilisateur le choix de créer ses propres dessins ou d'utiliser les modèles disponibles dans sa bibliothèque.

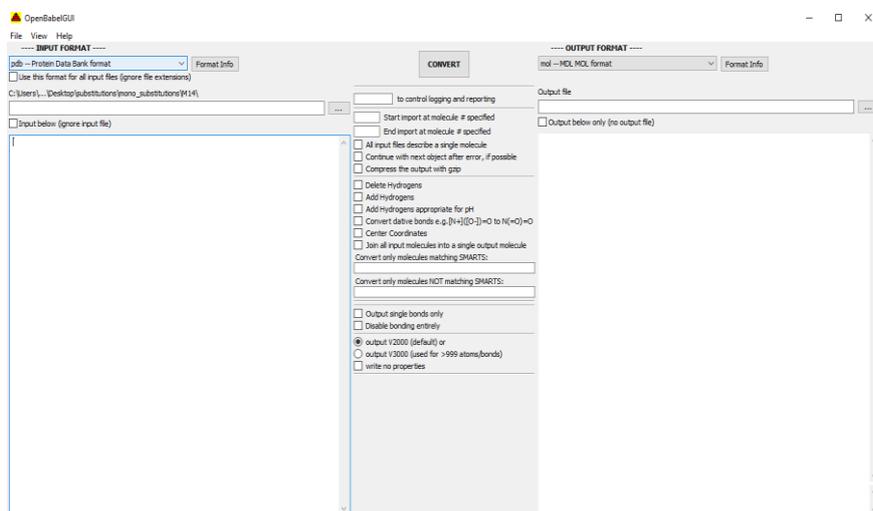
Dans notre étude **ChemDraw17** été utilisé pour de dessiner toutes les différentes structures 2D existantes dans ce manuscrit. Dans notre étude **ChemDraw17** été utilisé pour de dessiner toutes les différentes structures 2D existantes dans ce manuscrit.



**Figure N°20:** L'interface du programme ChemDraw17.

### 1.3.5 OpenBabel 2.0.2

OpenBabel 2.0.2 est un logiciel libre de conversion, qui nous a facilité et simplifié la conversion des données chimiques des fichiers d'un format à un autre *smi*, *mol*, *mol2*, *sdf*...etc.

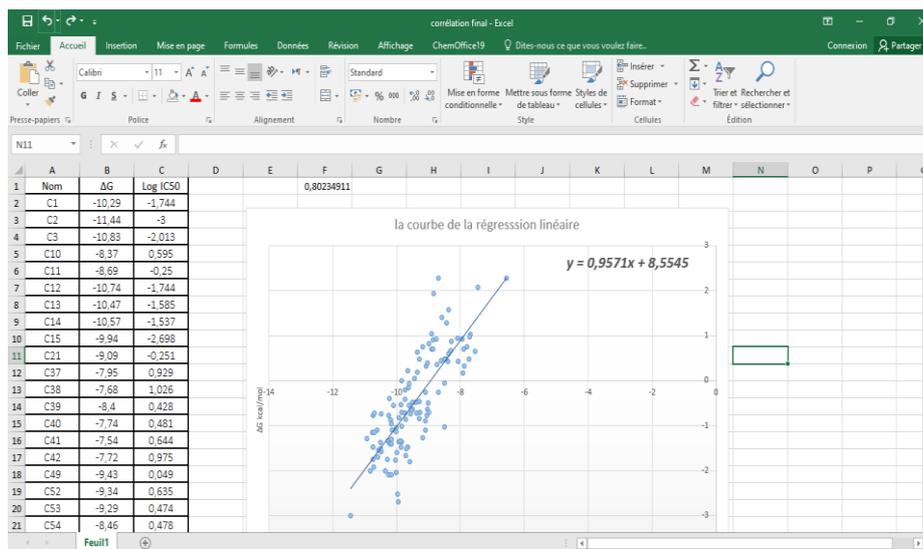


**Figure N°21:** l'interface du logiciel OpenBabel 2.0.2.

### 1.3.6 Microsoft Excel

Microsoft Excel est un logiciel de la suite bureautique Office de Microsoft qui permet de créer facilement des tableaux de toutes sortes, et d'y intégrer des calculs.

Nous avons utilisé le **Microsoft Excel 2016** afin de calculer le coefficient de corrélation linéaire et de dessiner sa courbe pour le test de fiabilité du logiciel AutoDock.



**Figure N°22:** logiciel Excel Microsoft 2016.

## 1.4 Les serveurs :

L'étude des propriétés ADMET de nos composés a été réussie à l'aide des serveurs en ligne.

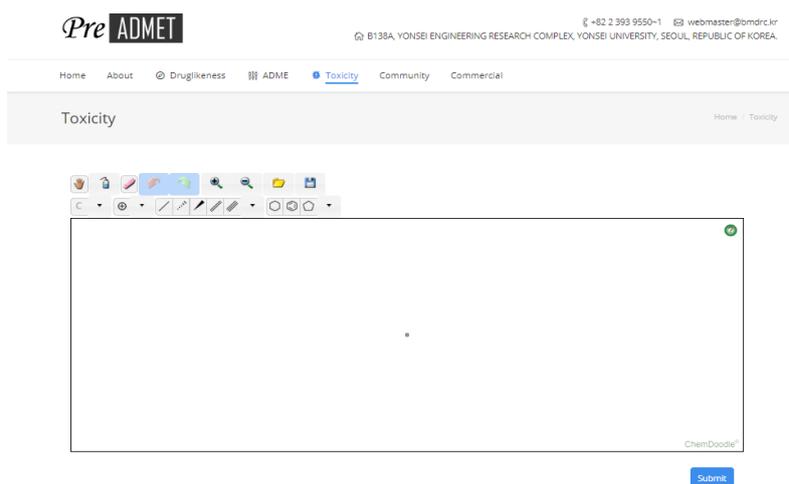
### 1.4.1. SwissADME

Un serveur en ligne aide à calculer des descripteurs physico-chimiques à partir de la structure 2D ou du format *smile* du ligand ainsi que de prédire les propriétés pharmacocinétiques ADME [64]. Telles que le coefficient de partage, la solubilité molaire dans l'eau, la perméabilité au BBB, la perméation cutanée, la capacité d'absorption gastro-intestinale humaine (HIA) et d'autres propriétés importantes de la chimie médicinale ont également été examinées pour sélectionner le meilleur candidat [58]. Le SwissADME est largement populaire auprès de la communauté scientifique pour son pouvoir prédictif rapide et son interprétation spontanée directe ; De plus, de certain nombre de caractéristiques [58].

**Figure N°23:** L'interface graphique de SwissADME.

### 1.4.2. PreADMET

C'est un serveur en ligne permettant la prédiction des données ADMET. Dans notre travail ce serveur a été utilisé pour prédire la toxicité *in silico*, par différents tests ayant servi de modèles fiables. Le serveur PreADMET peut être consulté via le lien : <https://preadmet.bmdrc.kr/> [65].



**Figure N°24:** L'interface du serveur PreADMET.

## 2. Méthode

### 2.1. Les tests de fiabilité du logiciel :

Avant de pratiquer le protocole de docking moléculaire nous avons jugé utile d'évaluer d'abord la performance du programme AutoDock en effectuant trois tests de fiabilité :

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

#### 2.1.1. Le test RMSD

Un critère de performance est la capacité d'un programme de docking moléculaire à reproduire le mode de liaison du ligand tel qu'il est observé dans la structure cristalline correspondante. IL est généralement mesuré par le calcul de la distance quadratique moyenne (RMSD), une mesure de similitude entre la position réelle et la position calculée d'amarrage du ligand. Une valeur seuil RMSD de 2,0 Å est largement acceptée [66,67]. Ce test a été réalisé sur 100 complexes issus de la pdb de façon aléatoire.

#### 2.1.2. L'analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape complémentaire du test RMSD. Il permet le jugement des conformations spatiales simulées par AutoDock du ligand dans le site actif de la protéine cible. Ce qui nous a permis de valider la fiabilité de la prédiction et donc celle d'AutoDock en cas où il n'y a pas une différence significative entre la pose du ligand générée par docking et celle déterminée expérimentalement.

### 2.1.3. Test de corrélation linéaire

Ce test consiste à étudier la relation entre deux variables. Il a été utilisé afin d'évaluer le degré de corrélation entre les scores simulés par AutoDock et les valeurs des  $IC_{50}$  déterminées expérimentalement des inhibiteurs étudiés.

Le calcul du Coefficient de Bravais-Pearson exprime l'intensité et le sens (positif ou négatif) de la relation linéaire entre le score simulé et l' $IC_{50}$  expérimental. Il assume des valeurs se situant dans l'intervalle qui va de - 1 à +1. Plus la valeur est proche de 1 ou -1 plus la relation est forte et plus le programme est efficace [68]. A ce titre on a testé la fiabilité d'AutoDock par la réalisation de ce teste à partir de 119 inhibiteurs de la DHODH.h issus de la littérature.

## 2.2. Le docking moléculaire

### 2.2.1. Préparation de la cible

La structure 3D de notre cible la DHODH *humaine* en complexe avec son inhibiteur est disponible dans la banque de donné pdb sous format *pdb*. Cette banque nous a proposé 28 complexes hDHODH-inhibiteur. Parmi ces complexes on a choisi le complexe 3ZWT avec valeur de résolution 1.55 Å. Il faut noter que la résolution en angström de la protéine est une des données reflétant la qualité des structures ayant permis de construire le modèle cristallographique [69].



**Figure N°25:** Code 3ZWT de la DHODH.h dans la PDB.

Avant d'entamer le docking moléculaire par AutoDock le complexe doit subir des préparations nécessaires. Le programme VMD nous a facilité de séparer la protéine de son ligand afin d'obtenir une enzyme avec un site actif libre. Par la suite le cofacteur ; les ligands étrangers ainsi que les molécules d'eau ont été supprimé. Enfin la cible a été exportée sous format *pdb*.

### 2.2.2. Préparation du ligand

Afin d'obtenir les structures 3D des 119 ligands issus de la littérature faisant objet dans notre test de corrélation linéaire, ces derniers ont été construits manuellement avec l'aide du logiciel Discovery Studio 2020 à partir des structures 2D. Les énergies potentielles de ces ligands ont été minimisées, l'état d'hybridation de chaque atome a été pris en compte, et leurs structures 3D obtenues ont été enregistrées sous format *pdb*.

En ce qui concerne les ligands amarrés dans le test de RMSD, ces derniers ont été obtenus du *pdb*, dont on a téléchargé 100 complexes enzyme-inhibiteur sous format *pdb*. Puis en faisant appel au programme VMD les ligands 3D ont été séparés de leurs enzymes et enregistrés sous format *pdb*.

Il faut noter aussi que dans l'étape de criblage les ligands 3D ont été directement téléchargés de la chimiothèque PubChem sous format *sdf*.

### 2.2.3 Le protocole d'utilisation d'AutoDock

#### 2.2.3.1. Préparation du récepteur

La première étape consiste à créer un fichier des coordonnées sous format *pdbqt* à l'aide du sous-programme AutoDock tools après avoir ajouté les hydrogènes et des charges partielles de type "Kollman" au récepteur. Le fichier *pdbqt* comprend des informations : des atomes d'hydrogène polaires; des charges partielles; des types d'atomes; des informations sur l'articulation de molécules flexibles [70].

#### 2.2.3.2. Préparation du ligand

Les ligands dessinés auparavant à l'aide du logiciel Discovery Studio 2020 et enregistrés sous format *pdb* ont été par la suite préparés pour l'étape du docking moléculaire. Avec l'aide de l'interface AutoDock Tools des hydrogènes polaires ont été rajoutés aux ligands puis ces derniers ont été enregistrés sous format *pdbqt*.

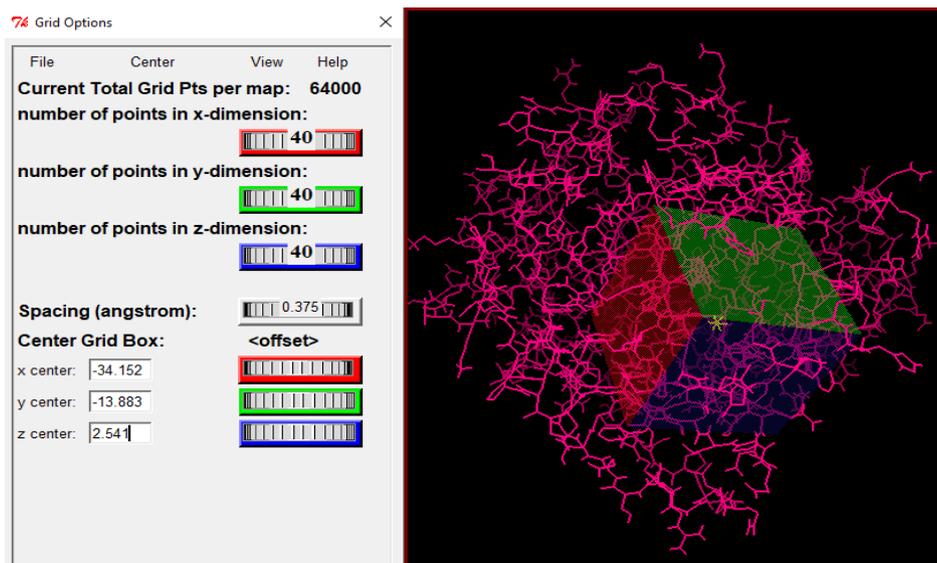
#### 2.2.3.3 Calcul des grilles

Le logiciel AutoDock 4.2.6 considère le ligand flexible, et représente la partie rigide du récepteur à l'aide de trois dimensions Grilles rectilignes (3D). Ces dernières sont appelées cartes d'affinité et calculées par son programme AutoGrid 4.

AutoDock 4.2.6 utilise une boîte tridimensionnelle (3D) englobant le site actif de la cible. Le centre de cette boîte est déterminé par des coordonnées : X, Y, Z et des dimensions qui sont proportionnelles à la taille de tous les ligands étudiés. Une fois les coordonnées sont

remplies, la boîte devient centrée sur le ligand au niveau du site actif. Toutes ces informations sont sauvegardées dans un fichier texte sous l'extension *gpf* (*Grid Parameters File*).

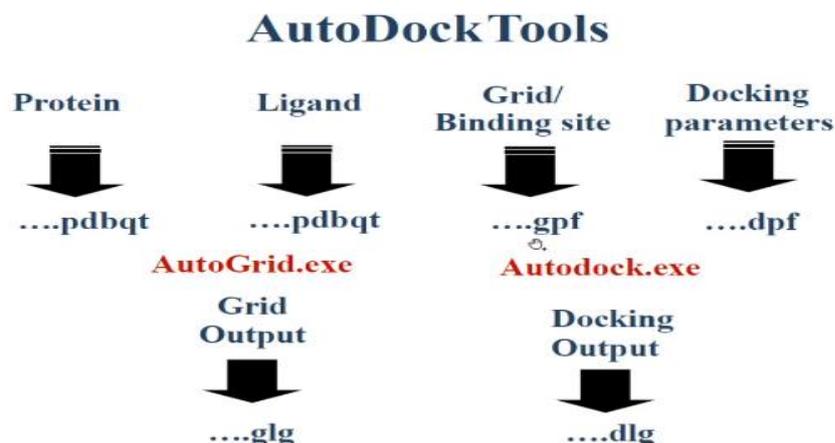
Après, grâce à son programme AutoGrid 4, les calculs d'affinité entre les différents types d'atomes (généralement carbone, oxygène, azote et hydrogène [57]) de la protéine et de ligand sont faits, puis les résultats sont générés dans un fichier *glg*.



**Figure N°26** : Position de la boîte dans le site actif de la **3ZWT** avec ses dimensions et ses coordonnées X, Y, Z.

#### 2.2.3.4. Docking moléculaire

Le docking protéine –ligand a été effectué grâce à ce programme AutoDock4 en choisissant l'algorithme génétique lamarckien alors qu'on a laissé les autres paramètres par défaut. Cette étape nécessite les paramètres suivants : 1) des cartes de grille pour chaque type d'atome dans le ligand, calculées par AutoGrid, 2) Fichier *pdbqt* pour le ligand, et 3) un fichier de paramètres d'ancrage qui spécifie les fichiers et les paramètres pour le calcul d'ancrage ; qu'on les transmet au programme par l'intermédiaire d'un fichier *dpg* (*Docking Parameters File*). Les résultats sont présentés sous format *dlg* (*Digital Line Graph*) [70].



**Figure N°27:** les étapes de docking par AutoDock Tools.

### 2.2.3.5. Analyse des résultats

Les calculs issus de docking moléculaire par le logiciel AutoDock 4.2.6 sont générés dans le fichier *dlg*. Ce dernier présente pour chaque ligand amarré : les 10 meilleures positions au sein du site actif de la cible, les valeurs de l'énergie d'interaction  $\Delta G$ , ainsi que leurs valeurs de RMSD.

De plus il est possible d'utiliser ce fichier « *dlg* » dans logiciel AutoDock 4.2.6 afin de faire la visualisation des types de liaisons formés entre les 10 meilleures positions et le site actif de la cible.

## 2.3. Recherche de nouveaux inhibiteurs de la DHODH humaine

Parmi les inhibiteurs de la DHODH humaine le Léflunomide et le Brequinar sont les plus efficaces (comme il été indiqué dans la section 3. Inhibiteurs). Le Léflunomide est un médicament antirhumatismal [7] ayant une demi-vie très longue (en moyenne de plus de deux semaines). Ce dernier a des effets secondaires graves. Le Brequinar II est environ 100 fois plus puissant que le dérivé du Léflunomide *in vitro* [11], il a été utilisé comme anti-tumoral et agent immunosuppresseur mais il a échoué dans les essais cliniques de phase II [15].

Notre but dans cette étude c'est de trouver des nouveaux inhibiteurs de la DHODH humaine et les améliorer d'avantage par rapport aux inconvénients existants dans le Léflunomide et le Brequinar, afin de proposer un nouveau candidat médicament avec de meilleures caractéristiques.

### 2.3.1. Criblage virtuel

Afin de trouver des nouveaux inhibiteurs de la DHODH, on a consulté la chimiothèque PubChem, à partir de la structure du composé de départ (sous format *smile*). Cette dernière nous a proposé 490 composés similaires avec un pourcentage de similarité de 90%. Leurs structures 3D ont été téléchargées sous format *sdf*, puis converties au format *pdb* par le logiciel OpenBabel pour subir un docking moléculaire.

### 2.3.2. Modification par substitutions

Suite à l'étude précédente, le composé similaire ayant le meilleur score a été choisi comme structure de départ dans l'étude des substitutions. Ce dernier a subi des modifications structurales dans le but d'améliorer d'avantage les paramètres ADME et la toxicité par rapport à ceux du Brequinar et Léflunomide d'une part, et d'essayer d'améliorer le score d'autre part.

### 2.3.3. Docking moléculaire Poly2- cytochrome 2C9

Un docking moléculaire a été réalisé pour le composé issu de la poly substitution le poly2 avec le cytochrome 2C9 Parmi les codes du cytochrome 2C9 on a choisir celui du code **5A5I** disponible dans la PDB en utilisant le même protocole de docking moléculaire par Autodock durant ce travail.

## 2.4. Propriétés ADMET

Le premier obstacle pour un médicament avant qu'il exerce son effet thérapeutique via l'interaction avec sa cible, c'est qu'il doit traverser des barrières du corps pour atteindre le site d'action. Une fois que le médicament a déclenché la réponse thérapeutique souhaitable, il doit être progressivement éliminé de l'organisme; sinon, la bioaccumulation peut devenir toxique. L'étude de la pharmacocinétique fait référence au parcours du médicament depuis son point d'entrée jusqu'au site d'action. Ce processus peut être défini par les phases : absorption, distribution, métabolisme et excrétion (ADME) [71].

Un autre problème principal du processus d'utilisation et de conception du médicament est la question de la toxicité, qui est en partie due à des interactions inattendues du médicament avec des protéines hors cibles [35]. Un médicament efficace ne doit pas être toxique au point de mettre sérieusement en danger la personne qui le prend [72]. Le criblage traditionnel de toxicité *in vivo* implique des tests sur les animaux, qui sont lents et coûteux, et donc inacceptables pour un criblage de masse de nombreux médicaments potentiels. Pour

pallier cet inconvénient, la découverte des médicaments fait de plus en plus appel à la toxicologie informatique, également connue sous le nom de toxicologie *in silico* [71].

#### 2.4.1. Propriétés physico-chimiques

##### 2.4.1.1. La règle de Lipinski « règle des 5 »

Une molécule « hit » ou un candidat médicament doit avoir une affinité qui lui donne une activité biologique d'une part, et doit pouvoir demeurer dans l'organisme humain une période suffisante d'une autre part pour qu'il puisse exercer cette activité [73].

La règle de Lipinski appelée aussi « règle des 5 » ou « Règle de Pfizer » a été formulée par Christopher A. Lipinski en 1997. Il a défini un ensemble de règles concernant les propriétés physico-chimiques qui ont été définies après l'analyse de 2245 médicaments commercialisés ou en phase finale de développement permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle (2D) [76]. Selon cette règle, les composés qui respectent au moins trois des cinq critères suivants sont susceptibles d'être disponibles oralement :

- ✚ Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da).
- ✚ Le logarithme décimal du coefficient de partage eau / 1-octanol, noté logP, doit être inférieur à 5.
- ✚ 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 fonctions rotatives (flexibles et linéaires) inférieur à 15 [74].

La beauté de cette règle réside dans sa simplicité. Parce que tous les paramètres peuvent être facilement calculés. Elle est devenue le filtre le plus largement appliqué dans la conception de bibliothèques virtuelles aujourd'hui [7].

**Log P:** Le coefficient de partage n-octanol / eau d'un produit chimique est le rapport de sa concentration en n-octanol à celle en milieu aqueux à l'équilibre. La raison de l'utilité de cette propriété est liée de l'hydrophobicité, qui joue un rôle dans la modulation de nombreux processus ADME (les interactions médicament-membrane, le transport des médicaments, la distribution...) L'importance du logP est également saisie par la règle de 5, qui stipule qu'une molécule est mal absorbée si la valeur de son logP dépasse 5 [71].

#### 2.4.1.2. Règle de Veber

Une publication faite par *Veber et al* en 2002 suggère que les composés qui répondent uniquement aux deux critères suivants : 10 liaisons rotatives ou moins et une surface polaire égale ou inférieure à 140 Å<sup>2</sup> (ou 12 donneurs et accepteurs de liaisons H ou moins) auront une forte probabilité de bonne biodisponibilité orale chez le rat [75].

La surface polaire est représentée par la somme des surfaces des atomes Polaires de la molécule (calcul basé sur la topologie de la molécule ou tPSA) et permet de prédire l'absorption intestinale et le passage de la barrière hématoencéphalique. En effet, alors que l'absorption intestinale devient difficile pour un composé de surface polaire supérieure à 140 Å<sup>2</sup>, 60 Å<sup>2</sup> est le seuil maximal pour le passage de la barrière hématoencéphalique [57].

#### 2.4.1.3. Inhibition des cytochromes P450

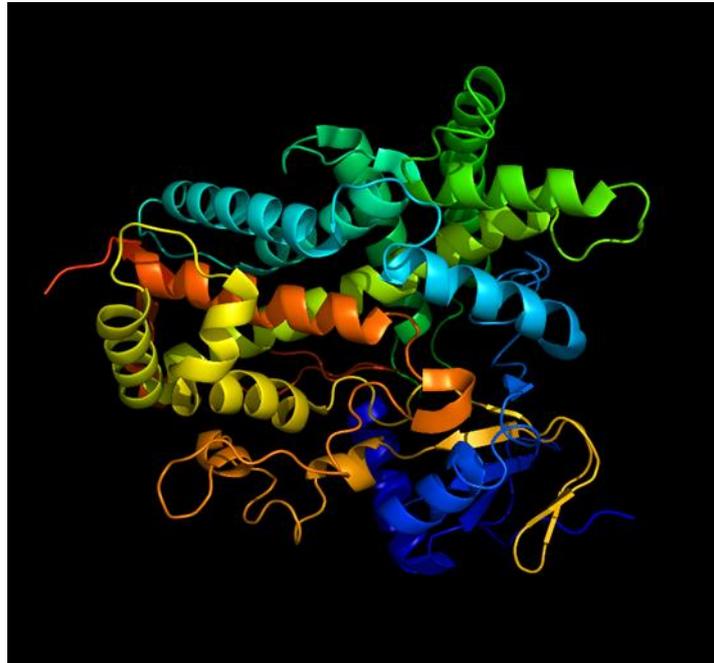
Les principaux cytochromes P450 (CYP) impliqués dans le métabolisme des médicaments sont [76] :

- CYP1A2
- CYP2C8
- CYP2C9
- CYP2C19
- CYP2D6
- CYP3A4

Le CYP P450 a un rôle dans le métabolisme des composés endogènes, et il est essentiel pour la détoxification des substances étrangers ingérées ou inhalées (exogènes) comme les médicaments. Ces enzymes sont présentes en grande quantité dans les hépatocytes, dans les entérocytes de l'intestin grêle, et en plus faible quantité dans d'autres tissus (rein, poumon, cerveau, peau ...).

Un médicament est considéré comme un inhibiteur d'un cytochrome lorsqu'il bloque le métabolisme que doit effectuer un cytochrome pour éliminer un autre médicament ou une autre substance. Cette association médicamenteuse a pour effet de diminuer le métabolisme du médicament inhibé, d'en augmenter sa concentration plasmatique, de prolonger ses effets thérapeutiques et de déclencher éventuellement des effets indésirables si la dose de ce

médicament dont le métabolisme est inhibé n'est pas diminuée. Cet effet est inversé si le métabolisme du médicament inhibé est une pro-drogue [77].



**Figure N°28:** structure 3D du Cytochrome P450.

#### 2.4.1.4. Solubilité dans l'eau

La solubilité, le phénomène de dissolution du soluté dans un solvant pour donner un système homogène, est l'un des paramètres importants pour atteindre la concentration souhaitée de médicament dans la circulation systémique pour la réponse pharmacologique souhaitée (anticipée). Tout médicament à absorber doit être présent sous forme de solution au site d'absorption [3]. La solubilité aqueuse d'une substance est souvent exprimée en unités logarithmiques de solubilité molaire (mol / L). La solubilité d'un candidat-médicament a peut-être l'effet le plus profond sur l'absorption [71].

#### 2.4.2. Propriétés pharmacocinétiques

##### 2.4.2.1. Absorption gastro-intestinale

Pour atteindre leur cible, les molécules médicamenteuses doivent être absorbées par le tractus gastro-intestinal et entrer dans la circulation systémique en quantité suffisante. Pour cette raison, la compréhension et l'anticipation des mécanismes et des facteurs affectant l'absorption gastro-intestinale et le métabolisme sont de la plus haute importance dans le développement de nouveaux médicaments [78].

#### 2.4.2.2. Barrière hématoencéphalique

Barrière hématoencéphalique ou Blood-Brain Barrier (BBB), cette dernière protège le système nerveux central (SNV) en séparant le tissu cérébral de la circulation sanguine. Il est principalement formé par l'endothélium cérébral, qui peut empêcher les plus grosses molécules (environ 100%) et les petites molécules (environ 98%) d'entrer dans le SNC, et permet le transport uniquement d'eau, de molécules liposolubles et de molécules de transport sélectif à travers lui-même [79]. Des études ont également établi des liens entre le logP et la pénétration de la barrière hémato-encéphalique (BBB), un composé actif sur le SNV, généralement un logP d'environ 4 à 5 est requis [71].

#### 2.4.3 Toxicité

##### 2.4.3.1. Test de toxicité aiguë

La toxicité aiguë vise à déterminer les doses toxiques chez l'animal et les organes souffrant électivement de cette toxicité. Cette étape doit être réalisée chez au moins 2 espèces de mammifères (généralement rat et souris), avec 2 voies d'administration (dont l'une sera la voie d'administration utilisée chez l'homme). Le produit est administré à dose croissante. Chaque animal reçoit une dose unique de produit. La durée de suivi après l'administration est généralement courte, de l'ordre de 14 jours. Cette étape permet de déterminer la **DL<sub>50</sub>** : dose létale tuant la moitié des animaux ; la dose maximale tolérée : dose qui provoque un effet toxique mais qui n'affecte pas la survie des animaux ; la dose maximale sans effet toxique [80].

- **Toxicité aquatique** : La toxicité aquatique est l'un des indicateurs toxicologiques clés couramment utilisés pour évaluer le risque potentiel posé à la santé humaine et environnementale par les substances chimiques. Un certain nombre d'organismes marins et d'eau douce, tels que les algues (algae), les crustacés (daphnia) et les poissons (medaka et minnow). Sont devenus des systèmes d'écotoxicité de choix en raison de leur taux de croissance rapide dans des conditions de culture simples et peu coûteuses. Plus important encore, l'établissement de protocoles d'essai standard pour ces espèces rend les comparaisons des résultats inter laboratoires significatives. La ressource la plus complète sur la toxicité aquatique est la base de données AQUIRE (Aquatic Toxicity Information Retrieval) sur laquelle repose la prédiction de la toxicité fourni par le serveur preADMET.

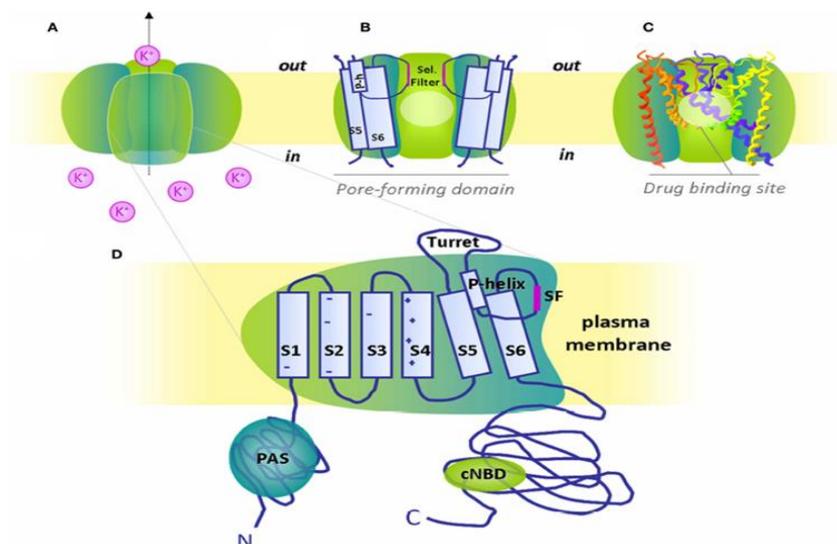
### 2.4.3.2. Test d'AMES

Ce test biologique fut décrit en 1973 par Bruce Ames. Ce test permet d'estimer le potentiel mutagène d'une substance. Le test d'Ames évalue la facilité qu'une substance induise une réversion dans l'expression des gènes pour l'histidine sur des souches bactériennes mutagènes de *Salmonella typhimurium*. La mutation rend les bactéries auxotrophes, c'est-à-dire qu'elles ne peuvent se développer que dans un milieu possédant cet acide aminé contrairement aux bactéries sauvages (prototrophes) qui poussent dans un milieu qui en est dépourvu. On cherche l'apparition de souches mutantes [81]. Les souches de départ (His-) ont muté en souche (His+) sous l'effet de la substance mutagène. Ce phénomène est également appelé mutation réverse et conduit à l'apparition de bactéries mutées (révertants) [61].

### 2.4.3.3. Inhibition hERG

hERG « *human Ether-à-go-go-Related Gene* » code le canal ionique à voltage-dépendant qui fait sortir le potassium de la cellule [61]. C'est un canal potassique à tension de rectification vers l'intérieur dans le cœur (IKr) qui est impliqué dans la repolarisation cardiaque [82]. Le blocage de ce dernier entraîne des fibrillations en cardiologie qui peut aboutir à un arrêt cardiaque. Par exemple : Les antihistaminiques peuvent bloquer ce canal [61].

Un certain nombre de médicaments ont été retirés des essais cliniques de stade avancé en raison de ces effets cardiotoxiques, il est donc important d'identifier les inhibiteurs au début de la découverte du médicament [82].



**Figure N°29:** Structure du canal potassique hERG1.

#### **2.4.3.4. Test de cancérogénicité**

La cancérogénicité est un critère d'effet toxicologique qui concerne la capacité d'un produit chimique à provoquer le cancer chez les animaux ou les humains [7].

Ce test permet de détecter un éventuel pouvoir cancérigène du composé. Ce dernier va être administré au long cours du produit (2 ans ou plus) par la même voie d'administration utilisée en clinique avec 3 niveaux de doses chez 2 espèces, souvent les plus utilisés dans les tests précliniques sont les rats et souris. Il est nécessaire d'apporter la preuve de l'exposition au produit par des mesures répétées de concentration plasmatique [83].

# Partie Pratique

---

## Chapitre 2

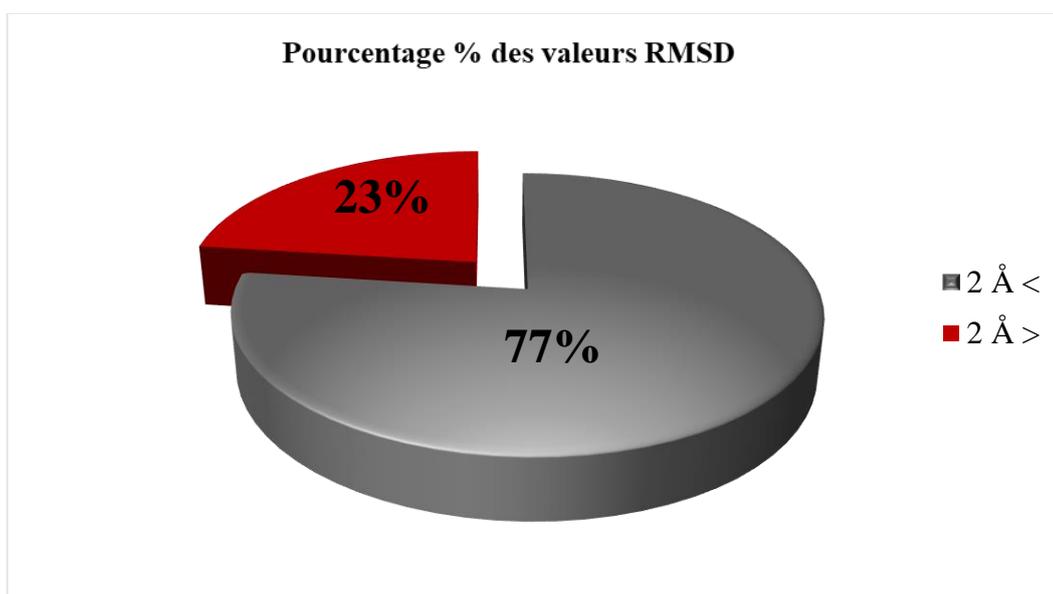
---

## 1. Les tests de fiabilité :

### 1.1. Test RMSD

Afin de tester la performance du logiciel du docking moléculaire Tout d'abord, une étude de self-docking a été réalisée sous forme d'un test RMSD sur 100 complexes. Les scores de ce test montrent la différence entre la position du ligand prédite par le logiciel et celle du ligand de référence. Ces résultats sont présentés dans l'annexe N°1 et illustrés dans la présentation graphique en secteurs (Figure N°30).

Comme le montre la figure, nous avons obtenu de bons résultats avec seulement 23% des valeurs RMSD qui sont supérieures à 2Å et 77% des valeurs RMSD qui sont inférieures à 2Å. Ces résultats sont compatibles avec ceux de Chikhi et Bensegueni [84]. Ce qui indique que le logiciel est en mesure de prédire des conformations géométriques correctes du ligand au sein du site actif de la DHODHh et que le programme d'amarrage moléculaire « AutoDock » est donc performant.



**Figure N°30:** graphique en secteurs qui présente le pourcentage des valeurs RMSD obtenues.

### 1.2. Analyse visuelle

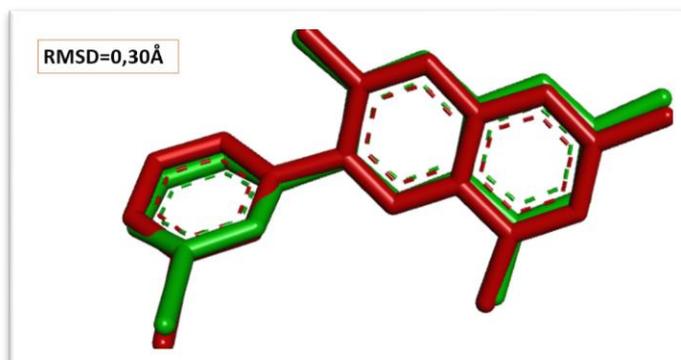
La visualisation est une étape complémentaire au test RMSD elle permet de s'assurer que la conformation prédite par AutoDock pour le ligand amarré est similaire à celle du ligand de référence (expérimental), et qu'elle est compatible à la valeur numérique obtenue

lors du test RMSD. De notre part on a choisi de confirmer les résultats du test RMSD par une analyse visuelle des 2 complexes avec les plus basses valeurs de RMSD (inférieures à 2Å), un complexe avec une valeur RMSD proche de 2Å, et deux complexes avec des valeurs plus élevées (Tableau N°1).

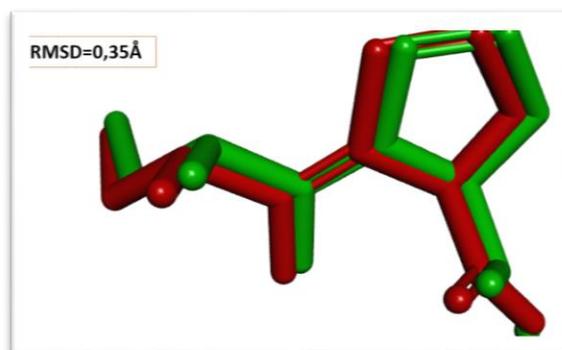
**Tableau N°1** : Valeurs de RMSD des Cinq complexes étudiés.

Nom	Code PDB du complexe	Code PDB du ligand	RMSD
Code 1	5IH6	AUG	0.30
Code 2	2X8Z	X8Z	0.35
Code 81	4PVY	JD1	2.18
Code 99	3EQ7	X99	4,64
Code 100	4XRX	42V	4.98

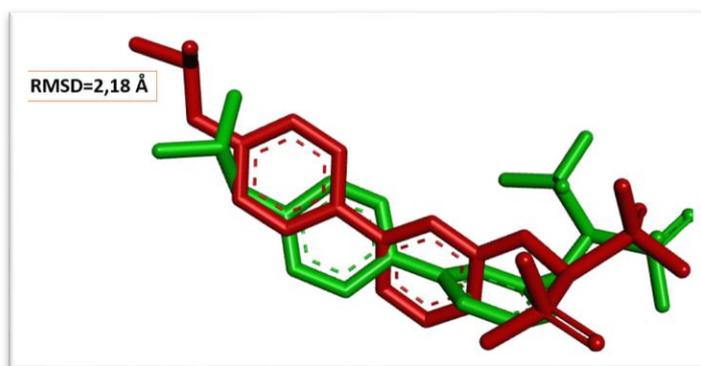
Les deux figures N°31 et N°32 des premiers complexes **5IH6** et **2X8Z** respectivement montrent que les ligands prédits par le logiciel AutoDock (en vert) et les ligands de références (en rouge) sont parfaitement superposés et bien positionnés ce qui prouve leurs faibles valeurs de RMSD. Le ligand du complexe **4PVY** est mal positionné par rapport au ligand de référence (Figure N°33). De plus les deux autres figures N°34 et N°35 des complexes **3EQ7** et **4XRX** respectivement présentent un très mauvais positionnement des ligands prédits par Autodock par rapports aux ligands de références ce qui confirme leurs valeurs élevées du RMSD.



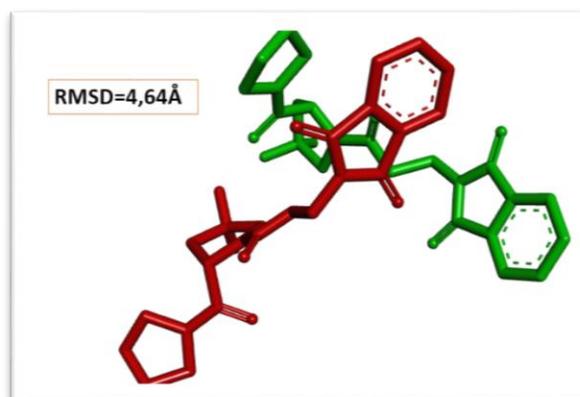
**Figure N°31**: Superposition de la conformation de référence du ligand **AUG** (en rouge) et celle du docking moléculaire avec AutoDock (en vert) du complexe **5IH6**.



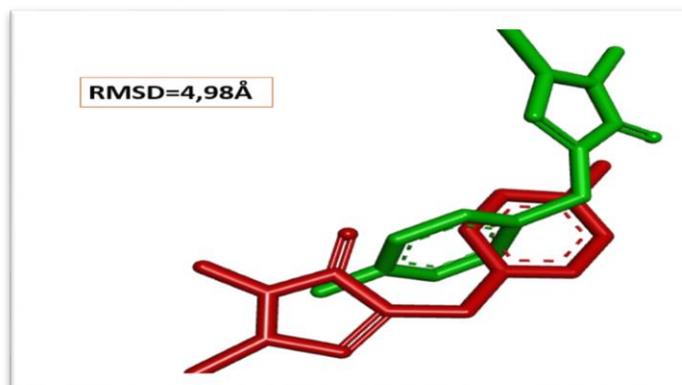
**Figure N°32:** Superposition de la conformation de référence du ligand **X8Z** (en Rouge) et celle du docking moléculaire avec AutoDock (en vert) du complexe **2X8Z**.



**Figure N°33:** Superposition de la conformation de référence du ligand **JD1** (en Rouge) et celle du docking moléculaire avec AutoDock (en vert) du complexe **4PVY**.



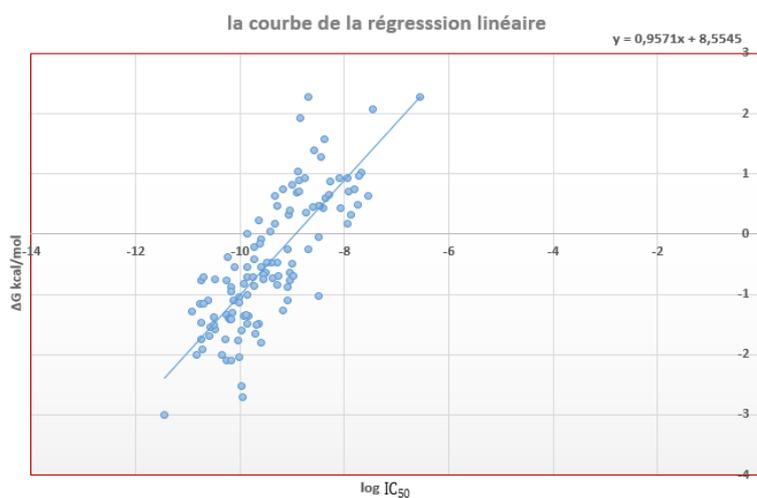
**Figure N°34:** Superposition de la conformation de référence du ligand **X99** (en Rouge) et celle du docking moléculaire avec AutoDock (en vert) du complexe **3EQ7**.



**Figure N°35:** Superposition de la conformation de référence du ligand 42V (en Rouge) et celle du docking moléculaire avec AutoDock (en vert) du complexe 4XXR.

### 1.3. Test de corrélation linéaire

L'autre test de fiabilité consiste à étudier la relation entre les valeurs des  $IC_{50}$  déterminées expérimentalement et les valeurs des énergies d'interaction ( $\Delta G$ ) de ces inhibiteurs. Cette relation a été vérifiée statistiquement par le coefficient de corrélation et graphiquement par la courbe de régression linéaire à partir de 119 inhibiteurs issus de la littérature (Figure N° 36). Les inhibiteurs ainsi que leurs  $IC_{50}$  et leurs énergies d'interaction sont présentés dans l'annexe N°2.



**Figure N°36:** Droite de corrélation linéaire entre  $\log IC_{50}$  des 119 inhibiteurs et leurs ( $\Delta G$ ).

La présentation graphique montre un nuage des points avec une droite de régression linéaire. Nous remarquons que les points sont proches et serrés, et la droite montre un

relation positive entre les valeurs de ( $\Delta G$ ) prédites et les valeurs  $IC_{50}$  issus de l'expérimentation ce qui est confirmé par le coefficient de corrélation ; ce dernier a une valeur égale à 0.8 proche de 1 et par conséquent indique une forte corrélation entre les deux variables. Selon les travaux de Bensegueni. A [85] un logiciel de docking moléculaire est performant si la valeur absolue du coefficient de corrélation linéaire ( $r$ ) dépasse 0.5 Les résultats obtenus indiquent que le programme AutoDock est performant.

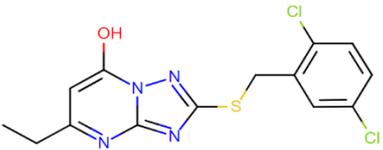
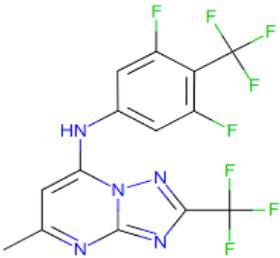
#### 1.4. Conclusion

A partir des résultats obtenus avec les différents tests de fiabilité : le test RMSD, l'analyse visuelle et le coefficient de de corrélation linéaire, nous pouvons conclure la haute performance du programme AutoDock qu'on peut utiliser sans trop de risques d'erreurs pour la recherche et la découverte de nouveaux inhibiteurs de la DHODHh par un amarrage moléculaire *in silico* avec AutoDock.

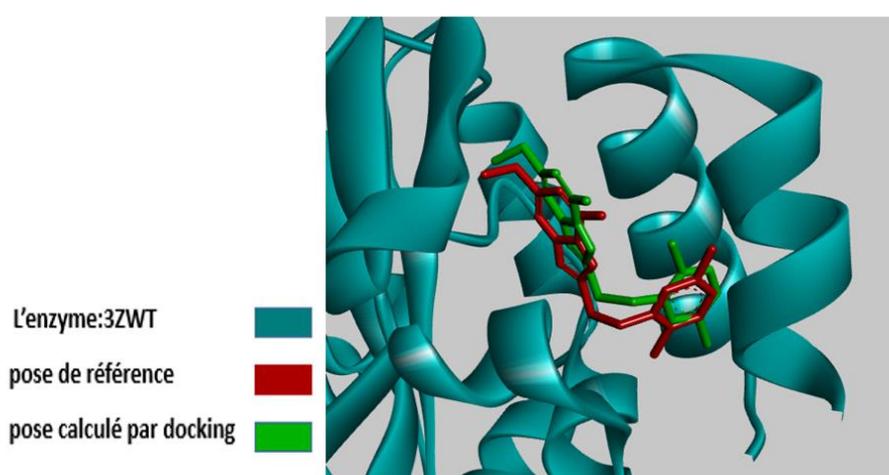
## 2. Etude des interactions de la DHODH – inhibiteur

La procédure d'amarrage ajuste deux molécules ensemble, protéine et ligand dans l'espace 3D. Dans l'objectif de proposer un nouveau inhibiteur de la DHODH humaine par docking moléculaire nous avons eu besoin d'une structure 3D de notre cible et une pour notre ligand de départ. Le choix de notre cible a été établi à partir des propositions de la PDB. Cette dernière nous a proposé 28 complexes de la DHODHh - inhibiteur avec des résolutions entre (1.23 Å et 1.94 Å). Parmi ces complexes on a choisi le complexe **3ZWT**.

**Tableau N°2 :** Code **3ZWT** sa résolution, son ligand ainsi que son RMSD.

Code	Résolution Å	Code du ligand	Structure du ligand	RMSD Å
<b>3ZWT</b>	1.55	KFZ		1.15
<b>4OQV</b>	1,23	2V6		2,31

Ce dernier a présenté une bonne résolution égale à 1.55 Å qui est inférieure de 2 Å. Ainsi qu'un bon score RMSD égale à 1.15 Å (voir Tableau N°2), contrairement au complexe **4OQV** qui malgré sa faible résolution (1.23 Å) il a présenté un RMSD supérieure à 2 Å (RMSD= 2,31 Å) (voir annexe N°1). Le ligand de notre complexe choisi présente une structure favorable et l'analyse visuelle du self docking a montré le bon positionnement de ce dernier dans le site actif de l'enzyme et la superposition entre la conformation co-cristallisée et celle prédite par AutoDock (Figure N°37).

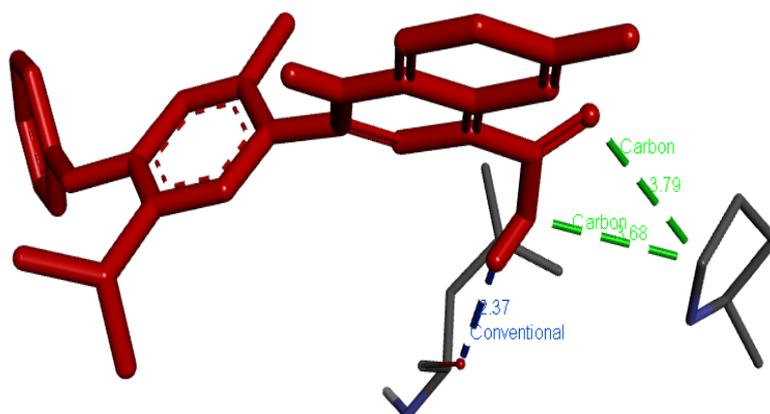


**Figure N°37:** Superposition de la conformation de référence du ligand **KFZ** (en Rouge) et celle du docking moléculaire avec Autodock (en Vert) du complexe **3ZWT**.

La recherche bibliographique nous a dévoilé deux inhibiteurs de la DHODH *humaine* avec des structures différentes : le Léflunomide et son métabolite actif le Tériflunomide, et le Brequinar. Malgré l'échec de ce dernier en tant qu'agent thérapeutique il présente une bonne affinité et une meilleure activité inhibitrice envers la DHODH que le Léflunomide. En effet la forte activité du Brequinar par rapport au Tériflunomide a été confirmée par les résultats du docking moléculaire qui montrent que le Brequinar (composé C1) a présenté un meilleur score (-10.29 kcal/mol) que celui de Tériflunomide (composé C132) (-7.23 kcal/mol).

Pour poursuivre nos travaux, nous avons choisi un dérivé du Berquinar (composé C2) car il est l'un des meilleurs inhibiteurs de la DHODH sur le plan expérimental (IC50= 0.01 µM) et *in silico* avec un meilleur score d'amarrage ( $\Delta G = -11.44$  kcal/mol). Toutes ces caractéristiques nous ont amené à choisir le composé C2 comme structure de départ pour obtenir un nouveau inhibiteur plus puissant de la DHODH.

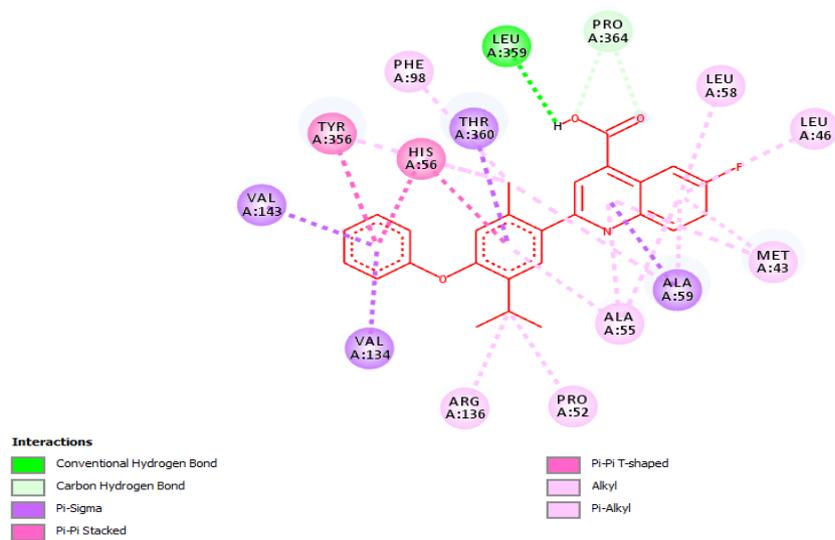
La visualisation du C2 au sein du site actif de la DHODH montre un ensemble des liaisons hydrogène : une liaison hydrogène entre OH du groupement carboxyle du ligand et l'oxygène de la leucine 359 ainsi que deux autres liaisons hydrogène entre les oxygènes du même groupement et la proline (figure\_N°38).



**Figure N°38:** les liaisons hydrogènes du composé C2 au sein du site actif de la DHODH.

Le ligand C2 (Rouge) établit trois types de liaisons hydrogènes : une liaison classique (bleu) et deux autres non classiques (vert).

Ce ligand est également stabilisé par des interactions hydrophobes avec les résidus : Glycine 363, Proline 364, Leucine 46, Méthionine 43, Alanine59, Alanine55, Glutamine47, Proline52, Arginine136, Valine134, Valine143, Tyrosine356, Histidine56, Thréonine360, Phénylalanine98 ; il sont présentés en différents degrés de rose dans La figure N°39 qui clarifie les types différents de ces interactions : la liaison entre le ligand et le noyau de l'histidine 56 présente un exemple liaison de type pi-pi hydrophobique précisément pi-pi stacking alors que celle entre la leucine 46 et le ligand a joué le rôle d'un exemple de liaison hydrophobique de types alkyle. La figure N°39 a illustré un diagramme 2D qui montre la présence d'une liaison Van der Waals avec la Glutamine 47 et résume l'ensemble des liaisons effectuées entre le C2 et la DHODH.



**Figure N°39:** Diagrammes des interactions DHODH – composé C2 : les liaisons ainsi que leurs types en couleurs le vert pour les liaisons hydrogènes le rose pour les liaisons hydrophobiques.

Les interactions des médicaments avec les protéines non ciblées ont été classiquement considérées comme une confusion responsable d'effets secondaires indésirables [5]. En raison des effets secondaires déjà cités dans la partie bibliographique de Léflunomide et du Bréquinar on a cherché à l'aide des serveurs SwissADME et preADMET à comparer certains critères ADMET qui peuvent influencer négativement l'activité thérapeutique et être une raison des effets secondaires. Les résultats sont présentés dans le Tableau N°3. On remarque que le Tériflunomide peut traverser la barrière hémato-encéphalique, et inhibe un seul cytochrome, alors que le Brequinar inhibe deux cytochromes et ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique. Malgré que le composé C2 avait un bon score, et qu'il a inhibé un seul cytochrome, et n'est pas susceptible à traverser la membrane hémato-encéphalique, il a montré une faible absorption gastro-intestinale, ainsi qu'une cancérogénicité positive.

**Tableau N°3 :** Propriétés ADMET des standards Tériflunomide, Brequinar, et le composé C2.

Molécule	Abs	BBB	Inhibition des 5 CYT	Cancérogénicité	Score
<b>Téri</b>	Elevée	Oui	1	Non	-7.23
<b>Bre</b>	Elevée	Non	2	Non	-10.29
<b>C2</b>	Faible	Non	1	cancérogène	-11.44

Tous ces données sur les scores et les propriétés pharmacocinétiques et toxicité du Tériflunomide, Brequinar, et du C2 nous ont encouragés à rechercher un nouveau inhibiteur

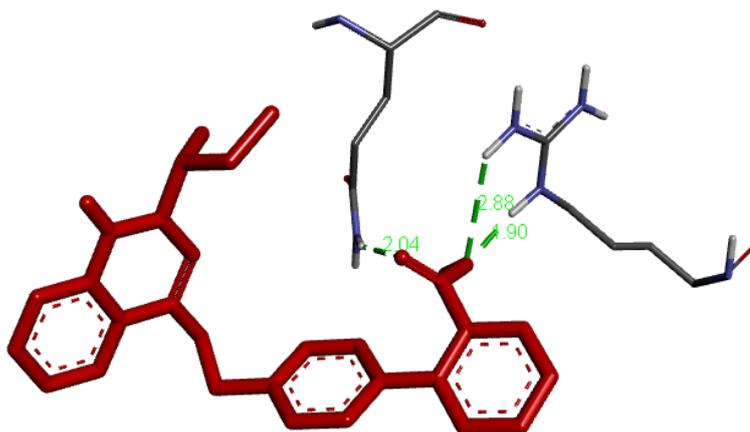
de la DHODHh plus puissant avec des propriétés ADMET meilleures que celles des inhibiteurs existants.

### 3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la DHODH

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

A partir de notre structure de départ C2, la chimiothèque PubChem nous a proposés 488 similaires avec un pourcentage de similarité égale à 90%. Le docking moléculaire de chacun de ces similaires avec la DHODH.h nous a donné des valeurs de  $\Delta G$  entre -13.06 et -1.97 (kcal/mol) qui sont présentés dans l'annexe N°3.

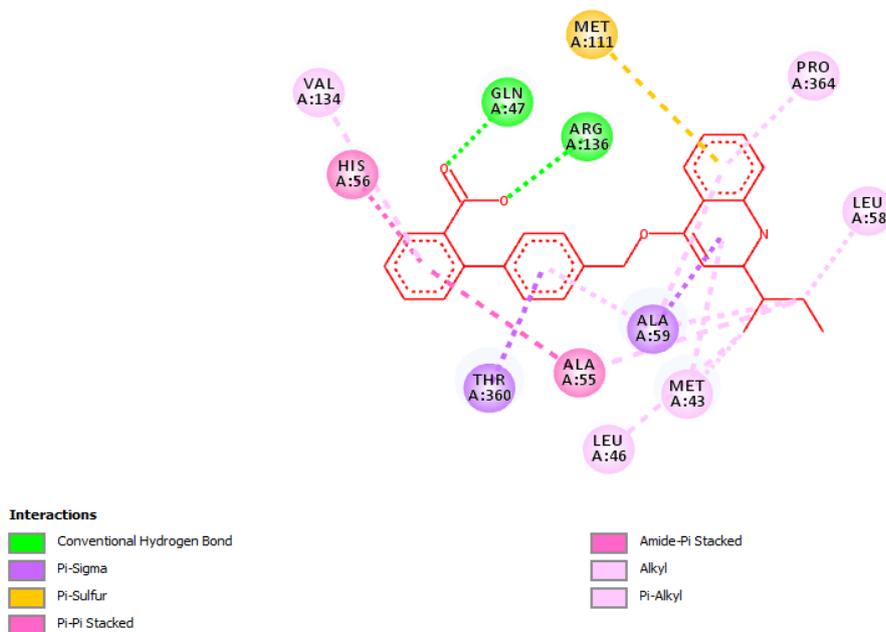
Parmi les 488 similaires proposés, le composé similaire S21 a présenté le meilleur score avec un  $\Delta G = -13.06$  kcal/mol. L'analyse visuelle de son mode de liaison au sein du site actif de la DHODHh montre que le similaire S21 forme trois liaisons hydrogènes, dont les deux premières entre l'Oxygène de groupement carboxyle du ligand et les deux hydrogènes des deux groupements NH du résidu Arginine 136 avec des distances de 2.88 Å et 1.90 Å et la troisième liaison entre l'autre oxygène du même groupement carboxyle et l'hydrogène du groupement NH du résidu Glutamine 147 avec une distance de 2.04 Å (voir Figure N°40). De plus on peut remarquer la présence d'une liaison sulfure du type pi-sulfure avec la méthionine 111 à une distance de 5.99 Å.



**Figure N°40:** les liaisons hydrogènes du composé S21 au sien du site actif de la DHODH :  
Le ligand S21 (Rouge) établit trois liaisons hydrogènes classiques (vert).

Un ensemble des liaisons hydrophobes de différents types avec les résidus Proline 364, Leucine 58, Méthionine 43, Leucine 46, Alanine 59, Alanine 55, Thréonine 360,

Histidine 56, Valine 134 ont été mise en jeu à différentes distances. A ce titre on peut citer l'exemples de la liaison de type pi-pi-stacking avec le résidu Histidine 56, la liaison de types alkyl hydrophobique entre l'Alanine 55 et la chaîne carbonique du ligand, et les liaisons hydrophobiques mixtes telles que les liaisons pi-sigma entre la Thréonine 360 et le noyau du ligand (voir Figure N°41).



**Figure N°41 :** Diagrammes 2D des interactions DHODH – composé S21: en vert les liaisons hydrogène, en rose pour les liaisons hydrophobiques et orange avec le soufre.

Une étude des propriétés pharmacocinétiques et de toxicité a été réalisée avec une comparaison de certains de ces critères du composé S21 avec celle du Tériflunomide et du Brequinar. Les résultats sont présentés dans le tableau N°4.

**Tableau N°4 :** Propriétés ADMET des standards Teriflunomide, brequinar, et le composé S21.

Molécule	Abs	BBB	Inhibition des 5 CYT	Cancérogénicité Des souris	Score kcal/mol
Léflu	Elevée	Oui	1	Non	-7.23
Bre	Elevée	Non	2	Non	-10.29
<b>S21</b>	Elevée	Non	4	Non	-13.06

Le tableau nous a donné une idée sur les bons avantages du similaire S21 ainsi que ces inconvénients. En plus de son bon score, le S21 a une bonne absorption intestinale contrairement à notre structure de départ C2. Ainsi le serveur a prédit que le composé S21

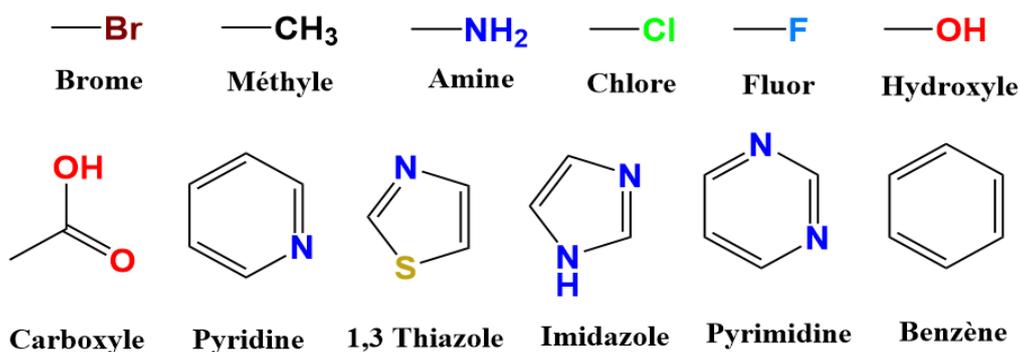
ne passe pas la barrière hémato encéphalique contrairement au standard Teriflunomide, mais malheureusement il inhibe quatre cytochromes, ce qui peut provoquer un risque de toxicité.

### 3.2. Substitutions

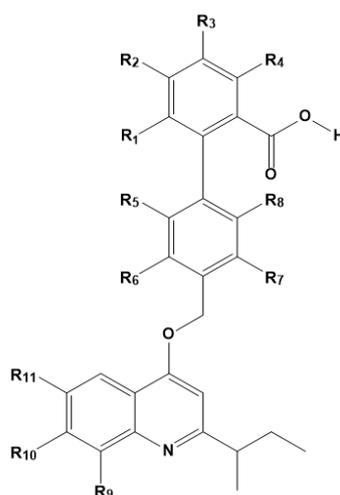
Le similaire S21 été utilisé comme structure de base pour une seconde approche basée sur des modifications de sa structure moléculaire par des mono, bi et poly substitutions dans le but d'aboutir à un nouvel inhibiteur avec un meilleur score, non toxique et ayant des meilleures propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques.

#### 3.2.1. Mono-substitution

A cette première étape nous avons introduit un seul groupement chimique à la fois (Figure N°42) sur les différents positions proposées (Figure N°43). Cette étape nous a révélée 108 composés. Chaque molécule issue de la mono substitution a subi un amarrage moléculaire envers notre cible DHODHh. L'annexe N°4 résume ces résultats.



**Figure N°42:** Groupements ajoutés lors de la mono-substitution.



**Figure N°43:** la structure de départ pour les mono-substitutions.

Les composés issus de la mono substitution du similaire S21 ayant présenté un score supérieur à  $-13,06 \text{ kcal/mol}$  ont été retenus pour une analyse comparative de leurs propriétés ADMET (Annexe N°5).

L'analyse de leurs propriétés pharmacocinétiques a montré que contrairement au similaire S21, les deux composés monosubstitués M14 et M92 présentent une faible absorption gastro-intestinale (Tableau N°5). Par ailleurs, comme le S21, ils ne franchissent pas la barrière hémato-encéphalique et inhibent que deux cytochromes au lieu de quatre dans le cas de ce dernier. Enfin le test de cancérogénicité montre que parmi les deux composés M92 et M14, seul ce dernier est comme le S21 non cancérigène. D'où notre intérêt pour le composé M14 que nous avons choisi pour subir d'autres modifications structurelles telles que la bi ou la poly-substitution pour notamment améliorer son absorption gastro-intestinale.

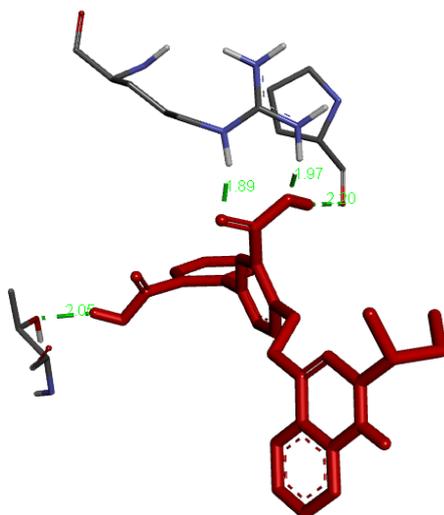
**Tableau N°5 :** Propriétés ADMET des standards Tériflunomide, Brequinar, et des composés M92 et M14.

Molécule	Abs Gastro-Intestinale	BBB	Inhibition des 5 CYT	Cancérogénicité	Score
S21	Elevée	Non	4	Non	-13,06
M92	Faible	Non	2	Cancérigène	-14,29
M14	Faible	Non	2	Non	-14,24

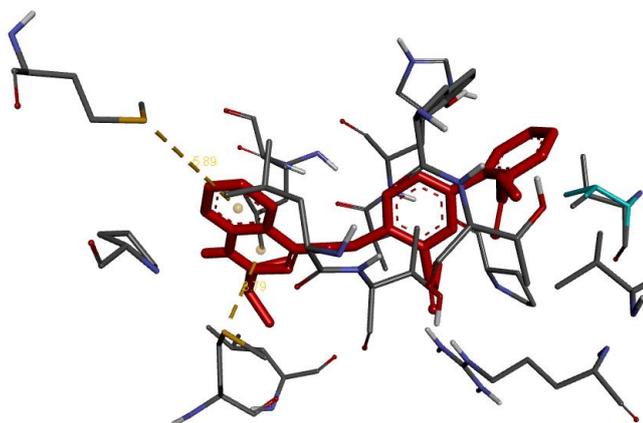
L'amélioration du score du composé M14 revient à l'implication de diverses interactions intermoléculaires avec le site actif de la DHODH. Ce dernier établi quatre

liaisons hydrogène : dont l'une à une distance de 2.20 Å entre hydrogène du groupement OH du carboxyle et l'oxygène du Proline 52, deux autres à des distances de 1.97 Å et 1.89 Å entre les deux groupements amine de l'Arginine 136 et les deux oxygènes du groupement carboxyle et une dernière à une distance de 2.05 Å entre l'hydrogène de l'autre groupement carboxylique et l'oxygène du groupement OH de la Thréonine 357 (voir Figure N°44).

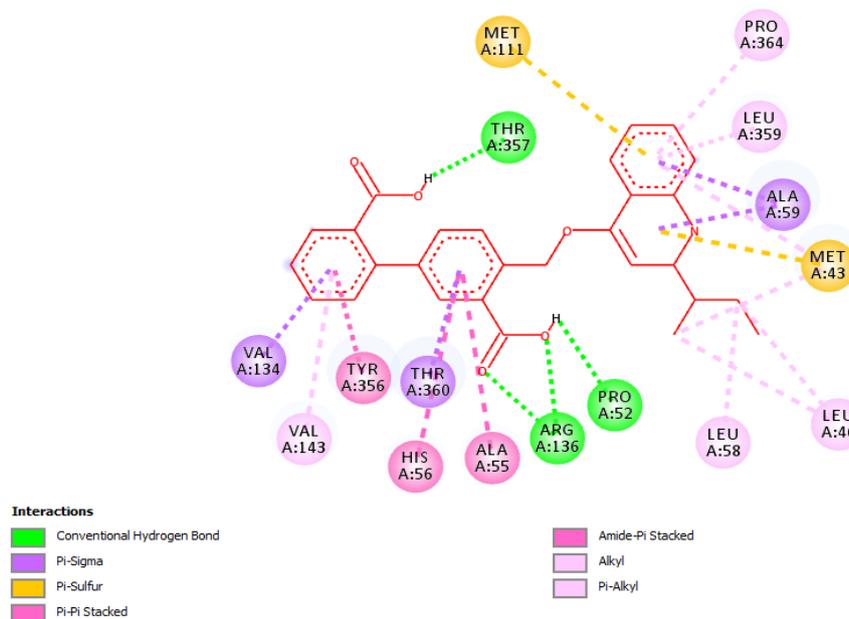
La présence de deux liaisons de type pi-Sulfure est également observée entre le noyau quinone et le soufre de la Méthionine 43 avec une distance de 3.79 Å et une autre entre le Méthionine 111 et le même noyau à une distance de 5.89 Å (voir Figure N°45). Différentes interactions hydrophobiques sont impliquées dont celles de type amide-pi stacking entre le groupement CO du de l'Alanine 55 et le NH de l'Histidine 56 et le cycle du ligand ou encore de type alkyle entre le carbone 27 de la chaîne carbonique du ligand et la Leucine 58 (voir Figure N°46).



**Figure N°44:** Les liaisons hydrogènes du composé M14 au sein du site actif de la DHODH. Le ligand M14 (Rouge) établit quatre liaisons hydrogènes classiques (vert).



**Figure N°45:** Les liaisons sulfures du composé M14 au sein du site actif de la DHODH. Le ligand M14 (Rouge) établit deux liaisons de type pi-sulfure (jaune).

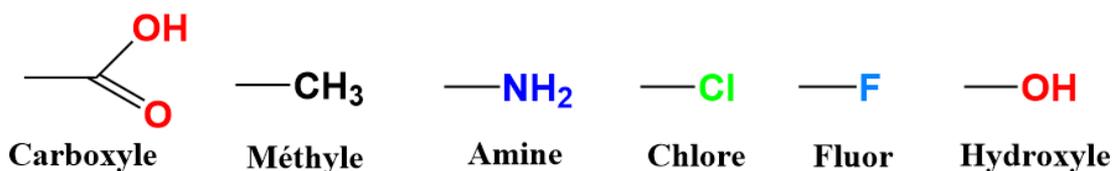


**Figure N°46:** Diagrammes 2D des interactions DHODH – composé M14 : en vert les liaisons hydrogène, en rose les liaisons hydrophobiques et orange avec le soufre.

### 3.2.2. Bi-substitution

A partir de mono substitution on peut constater que certains groupements chimiques ont entraîné une amélioration du score de docking et donc de l'affinité de notre molécule envers la DHODH, ce qui a été le contraire pour d'autres. A titre d'exemple les cycles :

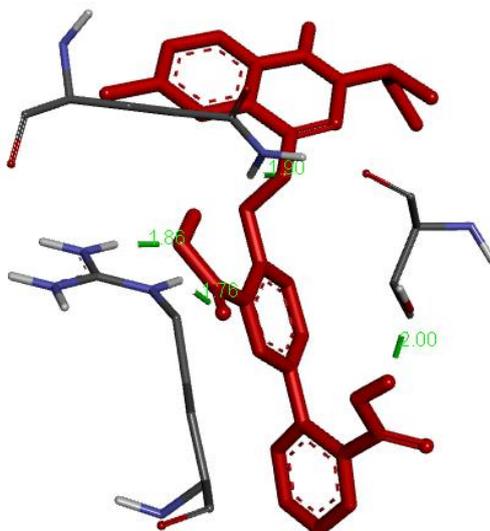
pyridines, 1.3 thiazole, imidazoles, pyrimidine et benzène n'ont montrés aucune amélioration du score. Certains groupements ont entraîné une altération négative de quelques tests ADMET tel que le Brome qui a provoqué une cancérogénicité. Ces observations nous ont permis de ne retenir que les groupements chimiques les plus intéressants pour continuer les bi substitutions (voir Figure N°47).



**Figure N°47:** Les groupements utilisés lors de la bi-substitution.

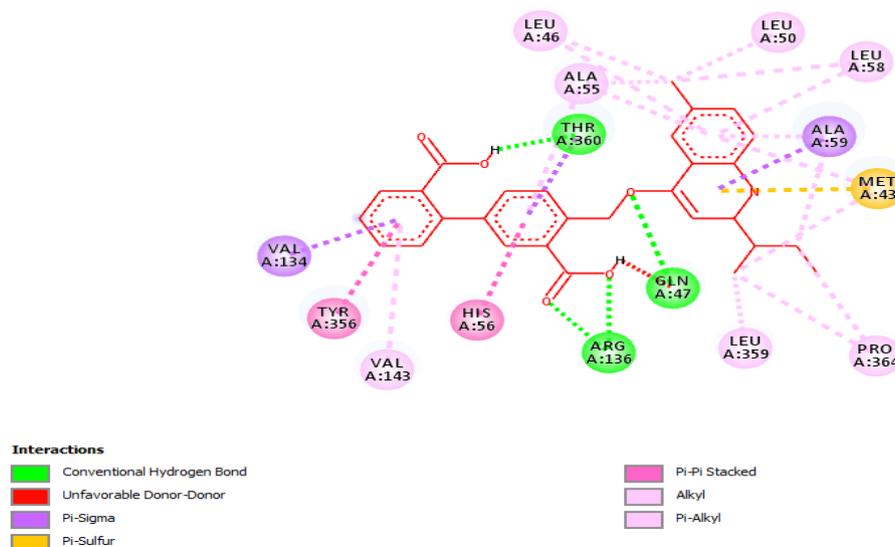
Le composé M14 issu de la mono substitution a subi des changements de structure par l'introduction des groupements de la figure N°47 dans différentes positions. Chaque exemple résultant de cette modification a subi un docking moléculaire et les résultats de ce docking sont présentés dans l'Annexe N°6. Les propriétés ADME de ces molécules ont également été calculées. Les résultats des énergies d'interaction et des propriétés ADME sont représentés dans l'annexe N°7.

Il ressort de la bi substitution que le composé B24 révèle le meilleure score de  $\Delta G = -14.82$  kcal/mol, en impliquant quatre liaisons hydrogène dont l'une entre l'oxygène du premier groupement carboxyle et le groupement OH de la Thréonine360 avec une distance de 2.00 Å, la deuxième et la troisième entre les deux oxygènes de l'autre groupement carboxyle et les deux hydrogènes de deux groupement NH du l'arginine 136 a des distance de 1.76 Å et 1.86 Å et la dernière liaison hydrogène entre le Glutamine 147 et l'oxygène numéro 11 avec une distance de 1.90 Å (voir Figure N°48).



**Figure N°48:** les liaisons hydrogènes du composé B24 au sien du site actif de la DHODH. Le ligand B24 (rouge) établit quatre liaisons hydrogènes classiques (vert).

D'autres interactions interviennent également pour stabiliser le complexe telles que la liaison pi-sulfure entre la Méthionine 43 et le noyau avec une distance de 3.96 Å, ainsi que différentes liaisons hydrophobes avec les résidus : Alanine55, Leucine46, Leucine50, Leucine58 ; Alanine 59, Proline 364, Leucine 359, Histidine56, Valine 143, Tyrosine 356, Valine 134, ou encore l'interaction sigma hydrophobique qui est une interaction mixte entre l'interaction pi-hydrophobique et l'interaction alkyle qui est observé avec le Valine 134 (Figure N°49).



**Figure N°49 :** Diagrammes 2D des interactions DHODH – composé B24: en vert pour les liaisons hydrogènes, en rose pour les liaisons hydrophobiques et orange avec le soufre.

A titre comparatif les résultats des énergies d’interactions et des propriétés ADME du composé monosubstitué M14 de départ et du composé bi-substitué B24 sont regroupés dans le tableau N°6 suivant.

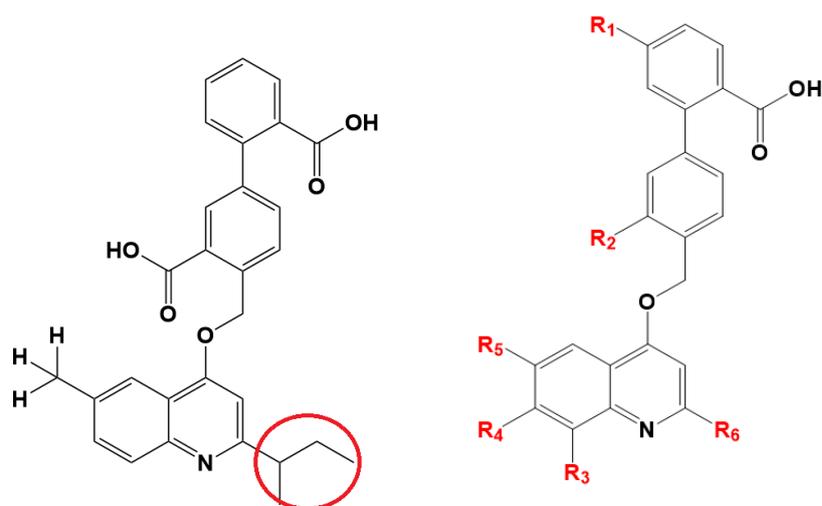
**Tableau N°6:** Propriétés ADMET des standards Tériflunomide, Brequinar, et du composés B24.

Nom	Abs Gastro-Intestinale	BBB	Inhibition des 5 CYT	Cancérogénicité	Score
M14	Faible	Non	2	Non	-14.24
B24	Faible	Non	2	Non	-14.82

Malgré l’amélioration du score du composé B24 par rapport au composé M14 le bon score et l’ensemble des liaisons effectuées par le B24 son absorption s’avère par contre toujours faible ce qui peut altérer sa fonction d’agent thérapeutique qu’on a tenté d’améliorer en procédant à une poly-substitution.

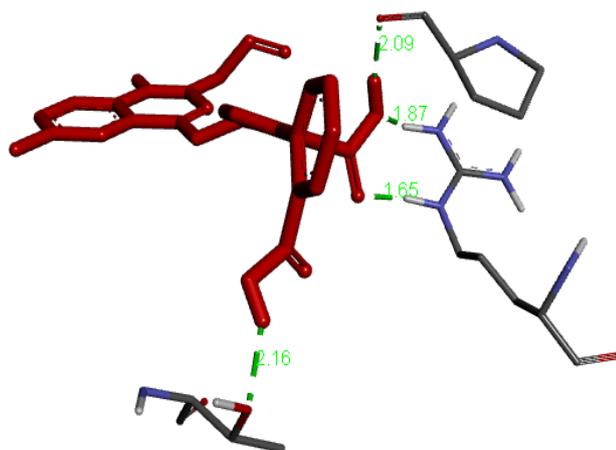
### 3.2.3. Poly-substitution

Afin d’améliorer l’absorption gastro-intestinale du composé bi-substitué B24, nous avons procédé à une poly-substitution en changeant chaine carbonique 4 (Figure N°50) par différents groupements chimiques. A chaque changement, un docking moléculaire a été réalisé (Annexe N°8).



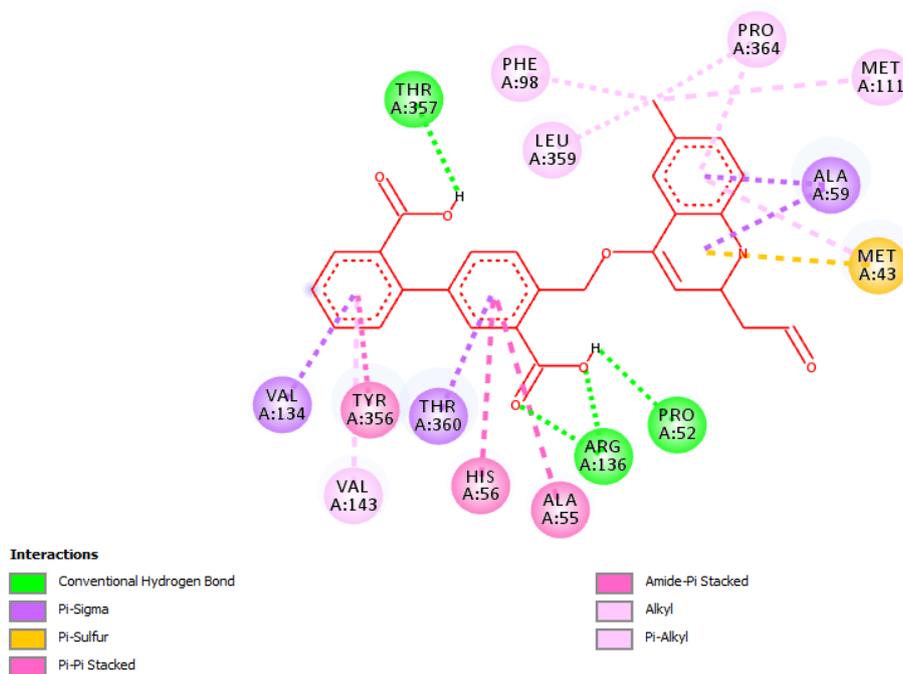
**Figure N°50:** structure de l'inhibiteur B24 et son radical carboné encerclé en rouge dans la position R6, avec la démonstration des différents positions choisis pour l'ajout des différents groupements.

Les résultats du docking moléculaire montre que le composé poly2 présente le meilleur score ( $\Delta G = -13.56$  kcal/mol). L'analyse visuelle du composé poly2 révèle quatre liaisons hydrogène : une liaison avec une distance de 2.16 Å entre le OH du groupement carboxyle et l'oxygène du OH de la Thréonine 357, une autre entre l'hydrogène du groupement OH du carboxyle avec l'oxygène de la Proline 52 avec une distance de 2,09 Å, enfin les deux dernières liaisons ont lieu entre les deux groupement NH de l'Arginine 136 et les oxygènes de ce même groupement carboxylique (voir Figure N°51). Nous remarquons aussi l'absence des liaisons Van der Waals et la présence d'une liaison sulfure de types pi-sulfure entre le noyau quinone et le Méthionine 43 à une distance de 3.89 Å.



**Figure N°51** Les liaisons hydrogènes du composé Poly2 au sein du site actif de la DHODH. Le ligand Poly2 (Rouge) établit deux liaisons (vert).

Des liaisons hydrophobes sont établies avec les résidus : Leucine 359, Phénylalanine 98, Proline 364, Méthionine 111, Alanine 59, Alanine 55, Histidine 56, Thréonine 360, Tyrosine 356, Valine 143 et Valine 134. Parmi les différents types des liaisons hydrophobes nous distinguons: celle de type pi hydrophobique comme la pi stacking entre le noyau de la Tyrosine 356 et celui du ligand avec une distance de 4.68 Å ; la liaison de type hydrophobique alkyle entre le carbone et la Leucine 359 à distance de 3.66 Å, liaison pi alkyle comme entre le noyau et le Valine 143 à une distance de 4.94 Å et celle du type pi sigma entre le thréonine 360 et le noyau à une distance de 3.58 Å (voir Figure N°52).



**Figure N°52 :** Diagrammes 2D des interactions DHODH – composé Poly2 : en vert pour les liaisons hydrogène, en rose pour les liaisons hydrophobiques et orange avec le soufre.

En plus du bon score le poly2 a présenté de bonnes propriétés ADMET : ni cancérogénicité, ni passage de la barrière hémato encéphalique tel que observé dans le cas du Tériflunomide. Il se caractérise aussi par il a une bonne absorption gastro-intestinale ce qui le rend l'un des meilleurs inhibiteurs de la DHODH, le plus puissant avec des bonnes propriétés ADMET (voir Tableau N°7).

**Tableau N°7:** Propriétés ADMET des standards Teriflunomide, brequinar, et du composé Poly33.

Nom	Abs Gastro-Intestinale	BBB	Inhibition des 5 CYT	Cancérogénicité	Score
Téri	Elevée	Oui	1	Non	-7,23
Bre	Elevée	Non	2	Non	-10,29
B24	Faible	Non	2	Non	-14,82
<b>Poly2</b>	Elevée	Non	2	Non	-13,56

### 3.2.3.1. Docking moléculaire Poly2- cytochrome 2C9

Le Poly 2 inhibe seulement deux cytochromes, le cytochrome 2C9 et le cytochrome 2C19, ces derniers sont étroitement liés avec environ 91% d'identité en acides aminés [87] ce qui peut être la raison de leur inhibition par le même composé.

Les résultats de ce docking nous ont révélé que le Poly2 inhibe le cytochrome 2C9 par un score  $\Delta G = -7.20$  kcal/mol. Ce dernier est un score moins faible par rapport à celui du C2 notre structure de départ ou le docking moléculaire **C2- Cyt 2c9** a donné un score  $\Delta G = -8.66$  kcal/mol, ce qui peut indiquer que le Poly 2 a un faible effet sur le cytochrome par rapport à ce dernier, par conséquent le Poly 2 peut avoir moins d'effets secondaires par rapport au C2.

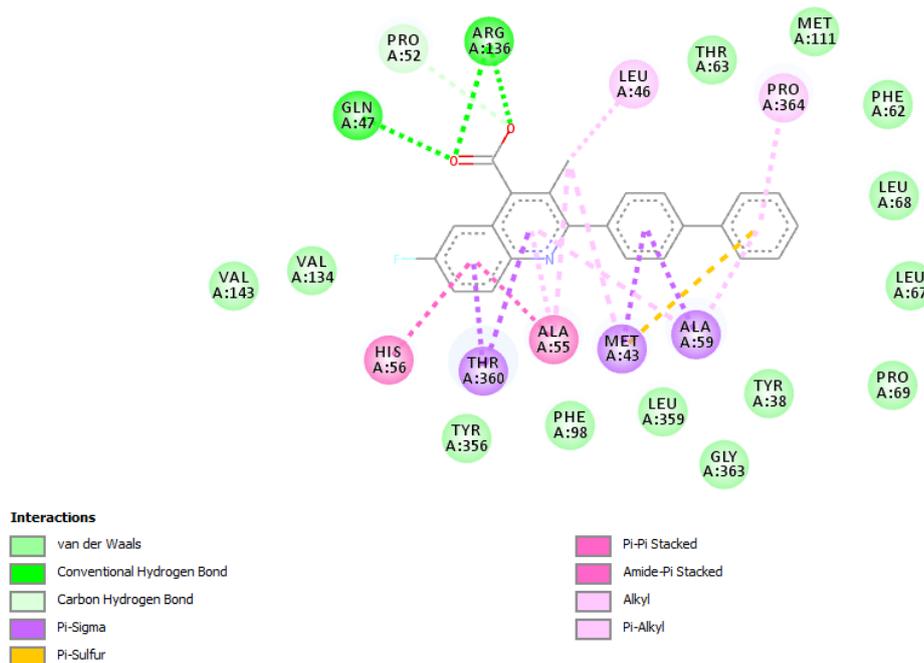
### 3.3. Etude comparative des modes de liaisons des inhibiteurs avec la DHODH

Deux structures cristallographiques de la DHODH *humaine* en complexe avec le Triflunomide et un analogue du Brequinar sont disponibles dans la PDB sous les codes **1D3H** (Résolution = 1.80 Å) et **1D3G** (Résolution = 1.60 Å) successivement. Shenping et all ont montré [10] à partir de ces deux structures cristallographiques que A771726 et Brequinar utilisent tous les deux des caractéristiques similaires pour se lier au même endroit, comme il a été indiqué dans la section (3.3 chapitre 1).

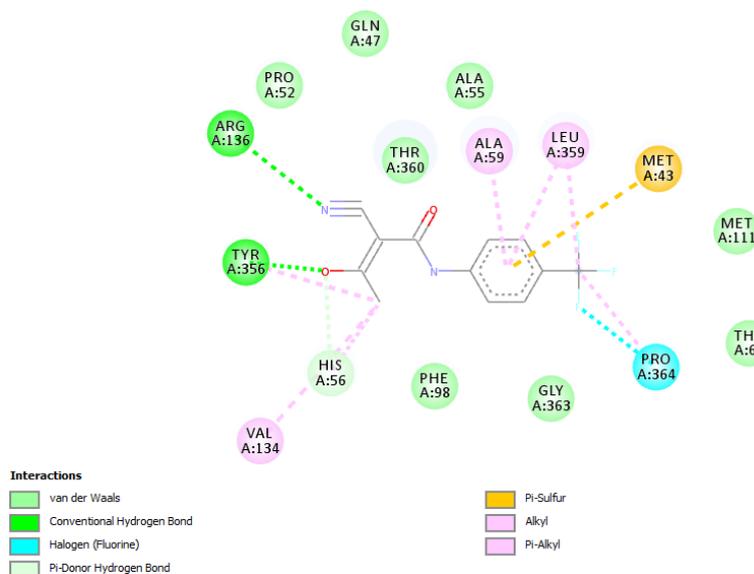
L'analogue du Bréquinar a formé une liaison hydrogène à l'aide du groupement carboxyle avec la Glutamine 47 et un pont salin par le même group avec l'Agrénine136,

ainsi que Le groupe bi phényle a des contacts hydrophobes avec les chaînes latérales de Met43, Ala59, Leu68 et Pro364. Alors que Le carbonyle du Tériflunomide est lié par l'hydrogène à une eau qui, à son tour, est liée à Arg136, tandis que l'isohydrogène OH est lié à Tyr356. Le cycle aromatique contenant du trifluoro-méthyle établit de nombreux contacts hydrophobes avec des résidus dans le tunnel [10].

Une visualisation de ces complexes par le logiciel Discovery Studio Visualizer nous a permis d'obtenir les digramme 2D de chacun d'eux. Les deux figures N°53 et N°54 montrent clairement les liaisons hydrogènes formés par l'analogue du Bréquinar et du Tériflunomide et assurent ce qui été rapporté par Shenping et al [10]. Une comparaison de ces dernières avec les modes d'interactions de nos composé **S21**, **M14**, **B24** et **poly2** nous a permet de remarquer que tous nos composés se trouvent dans la même cavité que le Bréquinar et le Tériflunomide malgré la différence des modes de liaison prédits à chaque fois par le docking, nous remarquons aussi la présence à chaque fois des même résidus tel que : Arginine 136, Glutamine 47, Proline 52, Proline 364, Méthionine111, Alanine 59, Alanine 55, Histidine 56, Thréonine360, Tyrosine 356, et Valine 134 ;ce qui montre l'importance de ces résidus.



**Figure N°53:** Diagrammes 2D des interactions DHODH – analogue Bréquinar : en vert les liaisons hydrogène, en rose les liaisons hydrophobiques et orange avec le soufre.



**Figure N°54:** Diagrammes 2D des interactions DHODH – Tériflunomide: en vert les liaisons hydrogène, en rose les liaisons hydrophobiques et orange avec le soufre.

L'analyse visuelle de **C2** explique le mode de liaison différent de celui du Bréquinar et Tériflunomide par la présence d'une liaison hydrogène entre le groupement carboxyle et la tyrosine 356 alors que le **S21** et le **B24** a réussi à faire des liaisons hydrogènes proche de celles du Bréquinar avec l'Arginine 136 et Glutamine 47.

Les deux composés **M14** et **poly2** ont montré les mêmes types des liaisons hydrogènes ainsi qu'une présence d'un pont salin entre le groupement carboxyle et

l'Arginine 136 qui été remarqué dans le cas du Bréquinar, ils ont établi aussi une liaison hydrogène avec la Tyrosine 357 au lieu de Tyrosine 356 qui a été présente dans le cas de Tériflunomide. Nous remarquons aussi que les interactions hydrophobiques ont été effectuées avec les mêmes résidus.

### Conclusion

A partir de l'étude du mode de liaison des deux inhibiteurs le Tériflunomide et l'analogue du Bréquinar ainsi que celle du nos composés nous pouvons conclure le bon positionnement de nos composés et qu'ils sont trouvé dans le même endroit montré par cristallographie.

Ainsi nous concluons l'importance du groupement carboxyle et du groupement bi phényle ainsi que le rôle primordial de certains résidus de la DHODH dans les interactions intermoléculaires tel que l'Arginine 136, Glutamine 47, Histidine 56, Tyrosine 356, Tyrosine 357, Méthionine 43, Alanine 59.

## 4. Résultat filtrage ADMET

Les différentes étapes de docking moléculaire nous ont révélé à chaque fois un inhibiteur différent de la DHODH *humaine*, afin de proposé un nouvel inhibiteur de notre cible il était indispensable de compléter notre travail par l'application de la règle de Lipinski et celle du Veber, et par une étude comparative des propriétés pharmacocinétiques et de la toxicité des inhibiteurs résultants.

### 4.1. Propriétés physico-chimiques

A partir des données du serveur SwissADME représentés dans le tableau N°8, on remarque que les quatre composés : **S21**, **M14**, **B24** et **Poly2** répondent parfaitement aux critères de la règle de Lipinski. Les composés **Poly2** et **M14** ainsi que le standard Tériflunomide ont réussi à atteindre les cinq conditions de la règle de Lipinski, alors que le Bréquinar, le **S21**, et **B24** ont réussi 4/5 des conditions, ce qui montre que chacun de ces composés ne va pas poser des problèmes d'absorption en cas de biodisponibilité par voie orale. La règle de Veber est parfaitement conforme aussi, les quatre composés et les deux standards ont une TPSA inférieure à  $144 \text{ \AA}^2$  et un nombre de liaisons flexibles inférieure à 10.

Ceci démontre le caractère hydrophobe de nos composés rendant leur solubilité dans les milieux aqueux difficile. Ce problème peut être résolu lors de l'optimisation de ces composés.

Le critère de l'accessibilité à la synthèse a été évalué en chiffre allant de 1 jusqu'à 10 plus ce chiffre est proche de 1 plus la molécule est facile à synthétiser. Les chiffres obtenus suggèrent que la synthèse chimique de nos composés est réalisable sur le plan expérimental : Les quatre composés ainsi que les deux standards avaient des chiffres de 2,07 jusqu'à 3,95. Le **Poly 33** a eu la valeur la plus basse par rapport au **S21**, **M14** et **B24**.

**Tableau N°8:** Propriétés physico-chimiques des deux standards Tériflunomide et Brequinar, et des composés S21, M14, B24, et Poly2.

Propriétés	Triflu	Ber	S21	M14	B24	Poly2
<b>Formule</b>	C12H9F3 N2O2	C23H15F 2NO2	C27H25N O3	C28H25N O5	C29H27N O5	C27H21N O6
<b>Poids moléculaire PM (g/mol)</b>	270.21	375.37	411.49	455.50	469.53	455.46
<b>nLF nombre de liaisons flexibles</b>	4	3	7	8	8	8
<b>nON nombre d'accepteur d'hydrogène</b>	6	5	4	6	6	7
<b>nOHNH nombre de donneurs d'hydrogène</b>	2	1	1	2	2	2
<b>Log P</b>	2.47	5.09	5.42	4.96	5.35	3.88
<b>TPSA Å<sup>2</sup></b>	73.12	50.19	59.42	96.72	96.72	113.79
<b>Règle de Lipinski</b>	Parfaitement conforme					
<b>Règle de Veber</b>	Parfaitement conforme					
<b>Solubilité dans l'eau</b>	Soluble	Faiblement soluble	Faiblement soluble	Faiblement soluble	Faiblement soluble	Faiblement soluble
<b>Accessibilité à la synthèse</b>	2.07	2.70	3.50	3.82	3.94	3.26

#### 4.2. Propriétés pharmacocinétiques

La voie d'administration orale ou per os impose au médicament un passage au travers de la barrière digestive, une fois cette dernière franchie, pour rejoindre la circulation générale le médicament doit passer par le système porte et le foie où il peut subir des biotransformations par les systèmes enzymatiques des hépatocytes, ce qui rend l'absorption gastro-intestinale indispensable pour un médicament désigné à être administré par voie orale [69]. Nos résultats ont dévoilé que contrairement aux composés **M14** et **B24** qui avaient une absorption gastro-intestinale faible, les deux standards et les composés **S21** et **Poly2** avaient une absorption gastro-intestinale élevée, ce qui rend ces derniers les meilleurs composés (voir Tableau N°9).

La prédiction de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BBB) est très importante, quand elle est limitée elle protège le cerveau de l'exposition à des molécules inoffensives pour les organes périphériques mais toxiques pour les neurones du cerveau. [72] A partir de nos résultats prédits avec le serveur SwissADMET le standard Tériflunomide peut traverser la BBB, par conséquent il peut avoir un risque de provoquer des effets nocifs sur le système nerveux central, contrairement au standard Berquinar et les composés **S21**, **M14**, **B24** et **Poly2** qui ne traversent pas cette barrière (voir Tableau N°9).

La prédiction du nombre des cytochromes qui peuvent être inhibés par nos molécules est importante aussi. Quand une molécule inhibe un cytochrome donné dont ce dernier est responsable du métabolisme d'un autre médicament ou une autre substance, la concentration plasmatique du médicament inhibé va s'accumuler dans l'organisme, les effets thérapeutiques seront prolongés et ce qui va éventuellement déclencher des effets indésirables si sa dose n'est pas diminuée, c'est le : « risque des interactions médicamenteuses » [60]. A partir des résultats obtenus, le standard Tériflunomide inhibe

seulement un seul cytochrome, le deuxième standard le brequinar, et les composés **M14**, **B24** et **poly2** inhibent que deux cytochromes seulement, ce qui est dans les normes par rapport aux deux standards, contrairement au composé **S21** qui inhibe 4 cytochromes (voir Tableau N°9).

**Tableau N°9:** Propriétés pharmacocinétiques des 2 standards : Tériflunomide, Brequinar, et des composés S21, M14, B24, et Poly2.

Propriétés	Triflu	Ber	S21	M14	B24	Poly2
<b>GI absorption</b>	Elevée	Elevée	Elevée	Faible	Faible	Elevée
<b>BBB perméabilité</b>	Oui	Non	Non	Non	Non	Non
<b>CYP1A2 inhibition</b>	Positive	Positive	Négative	Négative	Négative	Négative
<b>CYP2C19 inhibition</b>	Négative	Positive	Positive	Négative	Négative	Positive
<b>CYP2C9 inhibition</b>	Négative	Négative	Positive	Positive	Positive	Positive
<b>CYP2D6 inhibition</b>	Négative	Négative	Positive	Négative	Négative	Négative
<b>CYP3A4 inhibition</b>	Négative	Négative	Positive	Positive	Positive	Négative

#### 4.3. Toxicité potentielle

Il ressort du tableau que tous nos composés ainsi que le Tériflunomide et le Brequinar sont mutagènes, mais ils ont aucune cancérogénicité envers les rats et les souris, de plus ils ont un risque moyen pour l'inhibition du gène hERG causant des troubles associés au rythme cardiaque, à l'exception du Tériflunomide qui a présenté un risque faible (voir Tableau N°10).

Le test de toxicité aiguë sur les quatre espèces aquatiques a révélé que le Berquinar et tous les autres composés avaient une toxicité aiguë faible par rapport au Tériflunomide sur les espèces aquatiques *algae* et *daphnia*, alors qu'ils ont présentés une toxicité aiguë supérieure à celle du Tériflunomide dans le cas des espèces *medaka* et *minnow*. Seulement le composé **poly2** a présenté une toxicité inférieure à celle du Tériflunomide dans le cas des trois espèces *algae*, *medaka*, et *minnow*. Ce qui suggère que la toxicité aiguë de ce composé est relativement faible (voir Tableau N°10).

**Tableau N°10:** Toxicité potentielle des 2 standards : Teriflunomide, Brequinar, et des composés S21, M14, B24, et Poly2.

Propriétés	Triflu	Ber	S21	M14	B24	Poly2
Test d'Ames	Mutagène	Mutagène	Mutagène	Mutagène	Mutagène	Mutagène
Cancérogénicité pour les souris	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative
Cancérogénicité pour les rats	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative
hERG_inhibition	Faible risque	Risque moyen				
algae_at	0.0547284	0.00440567	0.0025889	0.00181518	0.00110531	0.00412223
daphnia_at	0.199788	0.00445025	0.00243953	0.00241558	0.00154592	0.00551109
medaka_at	0.057626	4.99956e-005	1.67571e-005	1.77228e-005	7.56756e-006	9.0202e-005
minnow_at	0.0339509	3.92194e-005	3.86214e-005	3.42319e-005	1.47964e-005	0.000232879

#### 4.4. Conclusion

L'étude théorique *in silico* nous a dévoilée le composé Poly 33 comme un nouveau inhibiteur de la DHODH.h avec un score de -13.56 kcal/mol et des propriétés ADMET meilleures que les autres composés et acceptable pour qu'il continue son parcours du développement comme un candidat médicament.



**➤ Conclusion**



## 5. Conclusion générale

Afin d'entamer l'objectif de notre étude, on a visé l'approche de la conception des médicaments assistée par ordinateur connue sous le nom « docking moléculaire *in silico* », afin de prédire un nouvel inhibiteur de la Dihydroorotate déshydrogénase *humaine*, une enzyme clé de la voie de biosynthèse de novo et une cible thérapeutique attrayante pour certaines maladies auto-immunes tel que : la sclérose en plaques, la leucémie myéloïde aiguë et la polyarthrite rhumatoïde.

D'abord nous avons jugé utile d'évaluer la performance du logiciel du docking « AutoDock » par trois tests : en premier l'évaluation de la déviation de la pose de ligand stimulé et celle du référence, elle a été réalisée par le teste RMSD sur 100 complexes tirés d'une façon aléatoire de la PDB, 77% des complexes avaient des bons résultats avec des valeurs inférieures de 2Å, ce teste a été complété par une analyse visuelle de 5 complexes : 2 complexes avec les meilleurs scores, un complexe avec un score moyens, et 2 complexes avec les plus mauvais scores RMSD, ces derniers ont montré des poses correctes et compatibles avec les scores du test RMSD, puis le dernier test de fiabilité qui consiste à calculer le coefficient de Bravais-Pearson, c'est le test de la corrélation linéaire réalisé à partir de 119 inhibiteurs afin d'avoir la corrélation entre les valeurs  $IC_{50}$  expérimentaux et les scores  $\Delta G$  simulés par Autodock. La majorité des scores RMSD ont été inférieures de 2 Å, l'analyse visuelle a montré la superposition des conformations Co-cristallisés et celles simulés par le logiciel, de plus le coefficient de corrélation avait une valeur  $r = 0.8$  proche de 1 et qui montre la forte relation entre les deux valeurs. Tous ces résultats nous ont permis de conclure la fiabilité du logiciel **AutoDock** et qu'il peut être utiliser sans avoir des risques pour simuler les interactions du complexe DHODHh-inhibiteur.

Au début le composé C2 avec  $IC_{50} = 0.01 \mu M$  et meilleur score de docking  $\Delta G = -11.44 kcal/mol$  a subi une étude concernant son mode d'interaction au sien du site actif de la DHODHh ainsi qu'une étude des propriétés ADMET, cette dernière a montré que le C2 a une faible absorption gastro intestinale et une cancérogénicité positive. Afin d'avoir un nouvel inhibiteur plus puissant de la DHODHh avec des propriétés ADMET meilleures que celles des inhibiteurs existants, on a choisi le composé C2 comme structure de départ.

A partir du composé C2 la PubChem nous a proposé 488 similaires avec un pourcentage de similarité égale à 90%, chacun de ces derniers a subi un amarrage

moléculaire et une étude des critères ADMET. Les résultats ont révélés le composé S21 ayant un meilleur score  $\Delta G = -13.06 \text{ kcal/mol}$ , mais ce dernier avait la possibilité d'inhiber quatre cytochromes sur 5. Dans ce contexte et afin d'avoir une molécule avec un meilleur score et meilleurs propriétés ADMET, le composé S21 été choisi comme une structure de départ pour faire une série de modifications structurales (mono, bi, et poly-substitution).

Cette dernière consiste à ajouter des groupements chimiques au composé S21 afin d'avoir un nouvel inhibiteur, on a commencé par 108 mono-substitutions, puis 48 bi-substitutions, et finalement 17 poly-substitutions. Un amarrage moléculaire de chacun de ces composés substitués a été réalisé, ce dernier a permis de ressortir à la fin le composé **Poly 2** avec un score de  $\Delta G = -13.56 \text{ kcal/mol}$  et meilleures propriétés ADMET.

Au final l'étude des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et de toxicité potentielle ont assurés que le composé **Poly 2** a respecté la règle de Lipinski ainsi que celle du Veber, et qu'il a présenté un meilleur profil ADMET par rapport au structure de départ ainsi que toutes les molécules résultantes de chaque étape de cette étude.

Le composé **Poly 2** a été simulé comme un inhibiteur de deux cytochromes sur 5. afin de bien comprendre l'effet de ce dernier envers le cytochrome **2C19**, un autre Docking moléculaire avec ce dernier a montré sa faible inhibition par rapport à celle du composé **C2** par conséquent le **Poly 2** peut provoquer moins d'effets secondaires par rapport au **C2**.

En termes de perspectives les composés issus de ce travail peuvent être testés, et compléter leurs parcours par une étude expérimentale in vitro et/ou in vivo afin de valider nos résultats théoriques et vérifier l'efficacité de l'approche *in silico*.

---

**➤ Références**

**bibliographiques**

---

- [1] M. Reau. Importance des données inactives dans les modèles: application aux méthodes de criblage virtuel en santé humaine et environnementale. THÈSE de doctorat. Discipline : Biochimie et biologie moléculaire / Spécialité : Bioinformatique. Chimie thérapeutique. Conservatoire national des arts et métiers. 2019.347p.
- [2] Olivier J. Wouters, M. McKee, J. Luyten. Estimated Research and Development Investment Needed to Bring a New Medicine to Market,2009-2018. *JAMA*. 2020. **323** (9): 844-853.
- [3] Lagarde N. Méthodes de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. thèse de doctorat , spécialité : Bio-Informatique, Biologie Systémique [qbio.QM]. Conservatoire national des arts et métiers - CNAM, ÉCOLE DOCTORALE Abbé Grégoire Laboratoire Génomique, Bioinformatique et Applications. 2014. France.313p.
- [4] C.G.P. Doss, C. Chakraborty, V. Narayan, D.T. Kumar Computational Approaches and Resources in Single Amino Acid Substitutions Analysis Toward Clinical Research. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*. 2014.Vol 94.
- [5] R.A.G. Reis, F.A. Calil, P.R. Feliciano, M.P. Pinheiro, M.C. Nonato. The dihydroorotate dehydrogenases: Past and present. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2017.
- [6] V.K. Vyas and M. Ghate. Recent Developments in the Medicinal Chemistry and Therapeutic Potential of Dihydroorotate Dehydrogenase (DHODH) Inhibitors. *MiniReviews in Medicinal Chemistry*. 2011, 11: 1039-1055.
- [7] M.L. Lolli, S. Sainas, A.C. Pippione, M. Giorgis, D. Boschi, F. Dosio. Use of human Dihydroorotate Dehydrogenase (hDHODH) Inhibitors in Autoimmune Diseases and New Perspectives in Cancer Therapy. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*. 2018. 13: 86-105.
- [8] H.M. Lehmann, P.O. Vidalain, F. Tangy, Y.L. Janin. On Dihydroorotate Dehydrogenases and Their Inhibitors and Uses. *J. Med. Chem*. 2013. 56: 3148–3167.
- [9] Miyazaki Y, Inaoka DK, Shiba T, Saimoto H, Sakura T, Amalia E, Kido Y, Sakai C, Nakamura M, Moore AL, Harada S and Kita K . Selective Cytotoxicity of Dihydroorotate

Dehydrogenase Inhibitors to Human Cancer Cells Under Hypoxia and Nutrient-Deprived Conditions. *Front. Pharmacol.* 2018. 9: 997.

[10] S. Liu, E.A. Neidhardt, T.H. Grossman, T. Ocain, J. Clardy. Structures of human dihydroorotate dehydrogenase in complex with antiproliferative agents. *Structure.* 2000. 8: 25–33.

[11] I. Fritzson, B. Svensson, S. Al-Karadaghi, B. Walse, U. Wellmar, U.J. Nilsson, D.G. Thrige, and S. Jçnsson. Inhibition of Human DHODH by 4-Hydroxycoumarins, Fenamic Acids, and N-(Alkylcarbonyl) anthranilic Acids Identified by Structure-Guided Fragment Selection. *ChemMedChem.* 2010. 5: 608–617.

[12] D.B. Sykes. The emergence of dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) as a therapeutic target in acute myeloid leukemia. *Expert Opinion on Therapeutic Targets.* 2018.

[13] G. Popova. Dihydroorotate Dehydrogenase – New Insights Into an Old Target. Thèse de doctorat. Microbiology, Tumor and Cell Biology. Stockholm, Institut Karolinska. Suède. 2020. 35p.

[14] J.T. Madak, A. Bankhead, C.R. Cuthbertson, H.D. Showalter, N.Neamati. Revisiting the role of dihydroorotate dehydrogenase as a therapeutic target for cancer. *Jpt ..*2018.

[15] F. Zeng, T. Qi, C. Li, T. Li, H. Li, S. Li, L. Zhub, X. Xuac. Synthesis, structure-activity relationship and binding mode analysis of 4-thiazolidinone derivatives as novel inhibitors of human dihydroorotate dehydrogenase. *Med. Chem. Commun.* 2017.

[16] S. Sanders, V. Harisdangkul, Leflunomide for the Treatment of Rheumatoid Arthritis and Autoimmunity. *The American Journal Of The Medical Sciences.* 2002, 323(4):190–193.

[17] N. Alcorn, S. Saunders, R. Madhok. Benefit-Risk Assessment of Leflunomide An Appraisal of Leflunomide in Rheumatoid Arthritis 10 Years After Licensing. *Drug Safety.* 2009. 32 (12): 1123-1134.

[18] F.C Breedveld, J-M Dayer .Leflunomide: mode of action in the treatment of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2000. 59: 841–849.

[19] S. Sainas, A.C. Pippione, E. Lupino, M. Giorgis, P. Circosta, V. Gaidano, P. Goyal, D. Bonanni, B. Rolando, A. Cignetti, A. Ducime, M. Andersson, M. Järvå, R. Friemann, M.

Piccinini, C. Ramondetti, B. Buccinnà, S. Al-Karadaghi, D. Boschi, G. Saglio, M.L. Lolli. Targeting Myeloid Differentiation Using Potent 2-Hydroxypyrazolo[1,5-a] pyridine Scaffold-Based Human Dihydroorotate Dehydrogenase Inhibitors . J. Med. Chem. 2018. 61: 6034–6055.

[20] G. J. Peters. Re-evaluation of Brequinar sodium, a dihydroorotate dehydrogenase inhibitor. Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids. 2019.

[21] F. Zeng, L. Quan, G. Yang, T. Qi, L. Zhang, S. Li, H. Li, L. Zhu, X. Xu. Structural Optimization and Structure–Activity Relationship of 4-Thiazolidinone Derivatives as Novel Inhibitors of Human Dihydroorotate Dehydrogenase. Molecules. 2019. 24: 2780.

[22] J. M Berg, J. L Tymoczko, and L. Stryer. Biochemistry, 5<sup>ème</sup> édition. Chapter 25 Nucleotide Biosynthesis. New York: W H Freeman. 2002. [en ligne] ISBN-10: 0-7167-3051-0.

[23] S. Christian, C. Merz, L. Evans, S. Gradl, H. Seidel, A. Friberg, A. Eheim, P. Lejeune, K. Brzezinka, K. Zimmermann, S. Ferrara, H. Meyer, R. Lesche, D. Stoeckigt, M. Bauser, A. Haegebarth, D.B Sykes, D.T Scadden, J-A Losman, A. Janzer. The novel dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitor BAY 2402234 triggers differentiation and is effective in the treatment of myeloid malignancies. Leukemia. 2019. 33: 2403–2415.

[24] S. Teschner, V. Burst. Leflunomide: a drug with a potential beyond rheumatology. Immunotherapy. 2010. 2(5): 637–650.

[25] C. David, T. Boinet. Adapter et expliquer les traitements de la polyarthrite rhumatoïde. Actualités pharmaceutiques. 2018. 575 : 14-17.

[26] Gary S. Firestein. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. NATURE. 2003. VOL 423.

[27] J. Morel, P. Miossec, B.Combe .Immunopathologie de la polyarthrite rhumatoïde Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. EMC-Rhumatologie Orthopédie 1. 2004. 218–230.

[28] Grandes maladies. Polyarthrite rhumatoïde. [ En ligne ].  
<https://public.larhumatologie.fr/>. Consulté le : [02/06/2020].

- [29] Haddouche, A, Slimani S, Bengana B, et al. Quelles sont les thérapeutiques médicales de première ligne dans la polyarthrite rhumatoïde ?. *Batna J Med Sci.* 2014, 1:27-33.
- [30] VIDAL eureka santé. Maladies. Système nerveux. Sclérose en plaques. <https://eurekasante.vidal.fr/> [en ligne]. Consulté le [15/06/2020].
- [31] PasseportSanté. Maladies. Index des maladies de A à Z. S. Sclérose en plaques. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5974/#\\_ncbi\\_dlg\\_citbx\\_NBK5974](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5974/#_ncbi_dlg_citbx_NBK5974) . [en ligne]. Consulté le [16/06/2020.]
- [32] M.D Wiese, A. Rowland, T.M Polasek, M.J Sorich & C. O’Doherty. Pharmacokinetic evaluation of teriflunomide for the treatment of multiple sclerosis. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2013. 9(8): 1025-1035.
- [33] Simon Faissner and Ralf Gold. Oral Therapies for Multiple Sclerosis . Cold Spring Harb Perspect Med march 3, 2018. *doi:* 10.1101/cshperspect.a032011
- [34] Tannaz Aliabadi-Zadeh, Chei Hung, Sam Love, Adam Mitchell, Martin O’Brien, Irene Chiwele, Caroline Hatchett. Teriflunomide for multiple sclerosis. *dtb.bmj.com.* August 27, 2014. 52 ;7. *doi:* 10.1136/dtb.2014.7.0267
- [35] B. Playe. Machine learning approaches for drug virtual screening. Thèse de doctorat. Bioinformatics. Paris. Université PSL. 2019.312 p.
- [36] Joseph A. DiMasias, Ronald W. Hansenb, Henry G. Grabowskic. The price of innovation: new estimates of drug development costs. *Journal of Health Economics.* 2003. 22 : 151–185.
- [37] J. Desaphy. L’analyse structurale de complexes protéine/ligand et ses applications en chémogénomique. THÈSE de doctorat. Sciences agricoles. Discipline: Chimie, Spécialité Chémoinformatique. Université de Strasbourg, 2013.192 p.
- [38] M. khalil. Interactions et stabilité des protéines étudiées par spectroscopie infrarouge et Ramana. Thèse de doctorat. Spécialité: chimie. Université de Strasbourg. 2016. 166p.
- [39] E. Arunan, G. R. Desiraju, R. A. Klein, J. Sadlej, S. Scheiner, I. Alkorta, D. C. Clary, R. H. Crabtree, J. J. Dannenberg, P. Hobza, H. G. Kjaergaard, A. C. Legon, B. Mennucci, D. J. Nesbitt. Definition of the hydrogen bond. 2011. 83 (8): 1637–1641.

- [40] G. Renvez. Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines : vers un processus de docking. THÈSE de doctorat. spécialité : Nanophysique. Université Toulouse III -Paul Sabatier. 2010.149 p.
- [41] N. Lagarde. Méthodes de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. thèse de doctorat , spécialité : Bio-Informatique, Biologie Systémique [qbio.QM]. Conservatoire national des arts et métiers - CNAM, ÉCOLE DOCTORALE Abbé Grégoire Laboratoire Génomique, Bioinformatique et Applications 29 octobre 2014. France.313p.
- [42] N. M. F. S. A. Cerqueira, J. Ribeiro, P. A. Fernandes, M. J. Ramos. vsLab—An Implementation for Virtual High-Throughput Screening Using AutoDock and VMD. *Journal of Quantum Chemistry*. 2011. 111: 1208–1212.
- [43] B. Guan, C. Zhang, J. Ning. Genetic algorithm with a crossover elitist preservation mechanism for protein–ligand docking. *AMB Express*. 2017. 7:174.
- [44] D. B. Kitchen, H. Decornez, J. R. Furr, J. Bajorath. Docking and scoring in virtual Screening for drug discovery: methods and applications. *Nature reviews. Drug discovery*. 2004. 3: 935-949.
- [45] A. Fortuné. Techniques de Modélisation Moléculaire appliquées à l'Etude et à l'Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance. THÈSE de doctorat. Discipline : SCIENCES DU MEDICAMENT Université JosephFourier - Grenoble I. 2006. 71 p.
- [46] Boucherit H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de Mycobacterium Tuberculosis par diverses molécules. Mémoire du magister. Technologies des explorations biochimiques. Constantine, Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2012. 70p.
- [47] Benhamoud A., Boufrah M. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs De la Bêta Lactamase de classe C par Docking Moléculaire. Mémoire de master d'Université : Biochimie Moléculaire et Santé. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine1. Algérie. 2017. 64p.

- [48] Mahdjoub Y. Développement d'une application distribuée en utilisant la plateforme Jini « Application docking moléculaire ». Mémoire de magister. Informatique. Oran. Université des Science et des Technologies d'Oran Mohamed Boudiaf. 2010. 93 p.
- [49] Lambert, Christophe. Développement d'une méthode automatique fiable de modélisation de la structure tridimensionnelle des protéines par homologie et application au protéome de *Brucella melitensis*. THÈSE de doctorat. Presses universitaires de Namur & Christophe Lambert Rempart de la Vierge, 13 B - 5000 Namur (Belgique) 2003.260p.
- [50] Mokrani E. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Mémoire de Magister d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri de Constantine. Algérie. 2012. 75 p.
- [51] National Center for Biotechnology Information. PubChem. [En ligne]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consulté le : [30/05/2020].
- [52] K. Onodera\*, K. Satou, H. Hirota. Evaluations of Molecular Docking Programs for Virtual Screening. *J. Chem. Inf. Model.* 2007. 47: 1609-1618.
- [53] M.L. Teodoro and G.N. Phillips and L.E. Kavraki .Molecular docking: a problem with thousands of degrees of freedom, *Proceedings 2001 ICRA. IEEE International Conference on Robotics and Automation (Cat. No.01CH37164).* 2001. 1: 960-965.
- [54] Z. Wang, H. Sun, X. Yao, D. Li, L. Xu, Y. Li, S. Tian and T. Hou. Comprehensive evaluation of ten docking programs on a diverse set of protein-ligand complexes: prediction accurate.
- [55] AutoDock. [ En ligne ]. <http://autodock.scripps.edu/>. Consulté le : [28/05/2020].
- [56] G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M. F. Sanner, R. K. Belew, D. S. Goodsell, A. J. Olson. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with S.
- [57] S. S. Mohamed, A. R. Tamer, S. M. Bensaber, M. I. Jaeda, N. B. Ermeli, A. A. Allafi, I. A. Mrema, M. Erhuma, A. Hermann, A. M. Gbaj. Design, synthesis, molecular modeling, and biological evaluation of sulfanilamide-imines derivatives as potential anticancer agents. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2013. 386: 813–822.

- [58] S. Gupta, D. Parihar, M. Shah, S. Yadav, H. Managori, S. Bhowmick, P.C. Patil, S.A. Alissa, S.M. Wabaidur, M.A. Islam, Computational screening of promising beta-secretase 1 inhibitors through multistep molecular docking and molecular dynamics simulations – Pharmacoinformatics approach. *Journal of Molecular Structure*. 2019.
- [59] G. M. Morris, D.S. Goodsell, R. S. Halliday, R. Huey, W. E. Hart, R. K. Belew, A. J. Olson. Automated Docking Using a Lamarckian Genetic Algorithm and an Empirical Binding Free Energy Function. *Journal of Computational Chemistry*. 1998. Vol. 19, No. 14, 1639-1662p.
- [60] <https://www.rcsb.org> [en ligne]. Consulté le [03/06/2020.]
- [61] Wikipedia. [En ligne].  
[https://fr.wikipedia.org/wiki/Wikip%C3%A9dia:Accueil\\_principal](https://fr.wikipedia.org/wiki/Wikip%C3%A9dia:Accueil_principal). Consulté le : [30/05/2020].
- [62] BIOVIA. Software. <https://www.3dsbiovia.com/products/collaborativescience/biovia-discovery-studio/>. Consulté le : [ 31/05 /2020].
- [63] software .VMD. [En ligne].  
<https://www.ks.uiuc.edu/Development/Download/download.cgi?PackageName=VMD>.  
Consulté le [ 31/05 /2020].
- [64] SIB. Swiss Institute of Bioinformatics. [En ligne]. <http://www.swissadme.ch/>.  
Consulté le : [ 31/05 /2020].
- [65] PreADMET. [En ligne]. <https://preadmet.bmdrc.kr/> . Consulté le : [16/05/2020].
- [66] E. Lopez-Camacho(B), M. J. Garcia-Godoy, J. Garcia-Nieto, A.J. Nebro, and J.F. Aldana-Montes. A New Multi-objective Approach for Molecular Docking Based on RMSD and Binding Energy. *AlCoB*. 2016, LNBI 9702, pp. 65–77.
- [67] D. Yusuf, A.M. Davis, G. J. Kleywegt, S. Schmitt\*. An Alternative Method for the Evaluation of Docking Performance: RSR vs RMSD. *J. Chem. Inf. Model*. 2008. 48: 1411– 1422.

- [68] IRDP. Institut de recherche et de documentation pédagogique. [En ligne]. <https://www.irdp.ch/institut/coefficient-bravais-pearson-2041.html>. Consulté le : [ 31/05 /2020].
- [69] A. Arrault. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. THÈSE de doctorat. Discipline: Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. Université d'Orléans. 2007. 189 p.
- [70] G. M. Morris, D.S. Goodsell, M.E. Pique, W.L. Lindstrom, R. Huey, S. Forli, W.E. Hart, S. Halliday, R. Belew and A.J. Olson. User Guide AutoDock Version 4.2.
- [71] Madame Curie Bioscience Database. Search in this book. Prediction of Drug-Like Properties. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5974/#\\_ncbi\\_dlg\\_citbx\\_NBK5974](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5974/#_ncbi_dlg_citbx_NBK5974) . [en ligne]. Consulté le [25/06/2020].
- [72] Berg J., Tymoczko J., Stryer L. Éditions Lavoisier. Biochimie (7e éd.). Chapitre 36. [en ligne]. Consulté le [25/06/2020].
- [73] Hazan C. Recherche d'inhibiteurs de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN. Thèse de doctorat. Biologie structurale. Toulouse, Université Toulouse III - Paul Sabatier. 2008. 249p.
- [74] Lipinski C, Lombardo A. F, Domini B. W, Feney P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997. **23**: 3-25.
- [75] D.F. Veber, S.R. Johnson, H-Y Cheng, B.R. Smith, K.W. Ward, K.D. Kopple. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *J. Med. Chem.* 2002. 45: 2615-2623.
- [76] Dossiers. Interactions médicamenteuses. Interactions médicamenteuses et cytochromes. [ En ligne ]. <https://www.ansm.sante.fr/>. Consulté le : [31/05/2020].
- [77] Mathis A. Rôle des cytochromes P450 dans les interactions médicamenteuses et environnementales rencontrées à l'officine. Thèse de doctorat. Pharmacie. Université de Lorraine. France. 2012. 128p.

- [78] O. Pelkonen, A.R. Boobis, U.G. Remy. In vitro prediction of gastrointestinal absorption and bioavailability:an experts' meeting report. Eur J Clin Pharmacol. 2001. 57: 621-629.
- [79] Z. Wang, H. Yang, Z. Wu, T. Wang, W. Li, Y. Tang, G. Liu. In silico prediction of chemical blood-brain barrier permeability with machine learning and re-sampling methods . ChemMedChem. 2018. 13: 1-14.
- [80] CNPM.Pharmacomédicale.org. [En ligne]. <https://pharmacomedicale.org/pharmacologie/developpement-et-suivi-desmedicaments/25-essais-pre-cliniques-des-futurs-medicaments/50-les-points-essentiels>. Consulté le : [ 31/05 /2020].
- [81] Y. Zhang, S. Forli, A. Omelchenko, and M.F. Sanner\*.AutoGridFR: Improvements on AutoDock Affinity Maps and Associated Software Tools. Journal of Computational Chemistry. 2019. 00; 1–5.
- [82] Services. Toxicology. hERG Safety Assay. [ En ligne ]. <https://www.cyprotex.com/> . Consulté le : [31/05/2020].
- [83] PHARMACOMédicale.org. Site du collège National de Pharmacologie Médicale. [En ligne]. <https://pharmacomedicale.org/>. Consulté le : [31/05/2020].
- [84] Chikhi A., Bensegueni A. Docking Efficiency Comparison of Surflex, a Commercial Package and Arguslab, a Licensable Freewar. Journal of Computer Science and Systems Biology. 2008. 1: 081-086.
- [85] Bensegueni A. Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking ( arrimage) moléculaire sur la lipoxygénase et la cyclooxygénase. Thèse de doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2007. 76p.
- [86] Andrew L. Hopkins .Predicting promiscuity. NATURE. 2009. VOL 462.
- [87] Michael R. Wester, Jason K. Yano, Guillaume A. Schoch, Christine Yang, Keith J. Griffin, C. David Stout, and Eric F. Johnson. The Structure of Human Cytochrome P450

2C9 Complexed with Flurbiprofen at 2.0-Å Resolution. *The journal of biological chemistry*. 2004. **279**: 35630-35637.

[88] Resources. Research Areas. Neuroscience. Blood-brain Barrier Permeability. [ En ligne ]. <https://www.rndsystems.com/>. Consulté le : [06/06/2020].

[89] Mathis A. Rôle des cytochromes P450 dans les interactions médicamenteuses et environnementales rencontrées à l'officine. Thèse de doctorat. Pharmacie. Université de Lorraine. France. 2012. 128p.



# **Annexes**

---

**Annexe N°1:** Valeurs du test RMSD des 100 complexes obtenus aléatoirement de la PDB.

Nom	Code PDB du complexe	Code PDB du ligand	RMSD
Code 1	5IH6	AUG	0.30
Code 2	2X8Z	X8Z	0.35
Code 3	3FUJ	00G	0.38
Code 4	6FMD	DUH	0.41
Code 5	3FUI	812	0.45
Code 6	3GHW	GHW	0.46
Code 7	3D4I	605	0.49
Code 8	3FUN	798	0.49
Code 9	2BK4	RAS	0.54
Code 10	3CHR	4BS	0.56
Code 11	4R51	PHT	0.56
Code 12	4DGN	LU2	0.56
Code 13	4OR7	25U	0.57
Code 14	4ZPG	4QF	0.61
Code 15	4GUB	0Y4	0.62
Code 16	4R5H	3JN	0.63
Code 17	4M0E	1YL	0.64
Code 18	4WKI	3PW	0.65
Code 19	5IH5	AUE	0.65
Code 20	2QC6	G12	0.67
Code 21	4WAF	3K6	0.69
Code 22	4RJ3	3QS	0.69
Code 23	3B7U	KEL	0.69
Code 24	1IA3	TQ5	0.71
Code 25	3FUM	80A	0.74
Code 26	6F0A	C82	0.74

*Annexes*

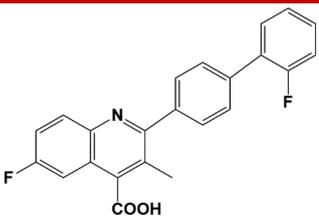
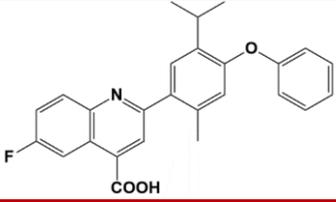
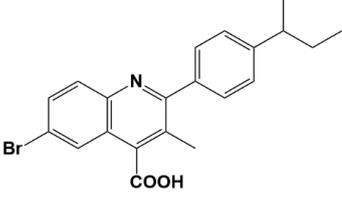
Code 27	4ZPE	4QA	0.75
Code 28	2IZT	23D	0.76
Code 29	4QHO	NKG	0.77
Code 30	6QS5	JGB	0.82
Code 31	6I55	DZB	0.83
Code 32	3FTW	11X	0.83
Code 33	5MAI	5U5	0.87
Code 34	4PM0	32V	0.86
Code 35	4ZPF	4QD	0.92
Code 36	2IZU	P01	0.95
Code 37	4GRB	0XG	0.99
Code 38	4WKE	3PU	1.00
Code 39	2QCM	JW5	1.02
Code 40	3U4U	LNH	1.02
Code 41	4M0F	1YK	1.04
Code 42	3CHS	4BU	1.05
Code 43	3WI2	P98	1.07
Code 44	1OJ9	1PB	1.08
Code 45	5BPP	4AZ	1.10
Code 46	2IZR	BRK	1.11
Code 47	3FTS	STL	1.16
Code 48	3ZWT	KFZ	1.15
Code 49	3FUK	58Z	1.17
Code 50	4DGM	AGI	1.19
Code 51	5C2E	4Y1	1.20
Code 52	3FTY	3IP	1.21
Code 53	1SNK	MYE	1.23
Code 54	3FU5	492	1.24
Code 55	5C29	4XY	1.24
Code 56	4WK7	3PQ	1.26

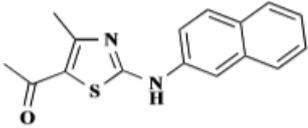
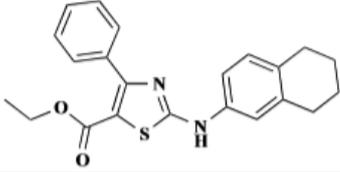
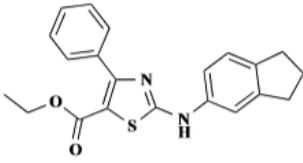
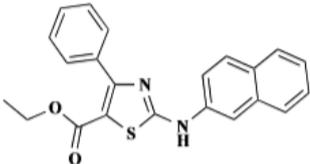
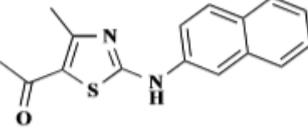
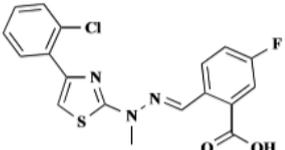
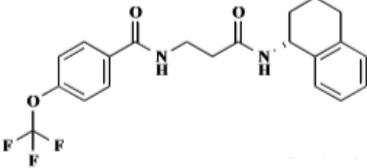
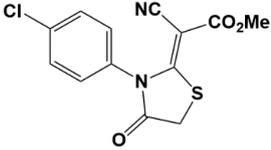
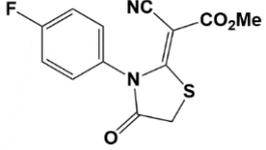
*Annexes*

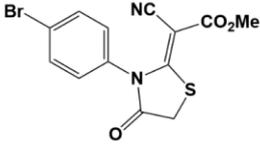
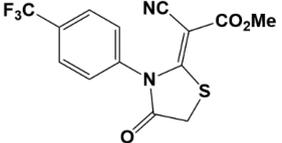
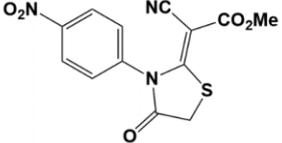
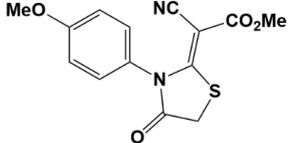
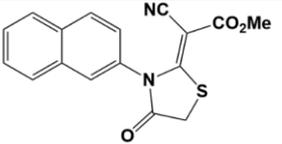
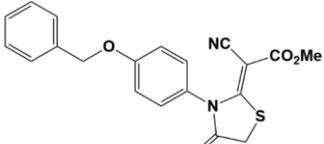
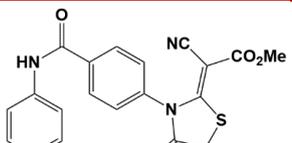
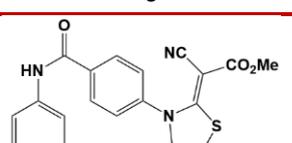
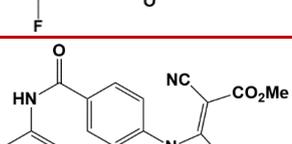
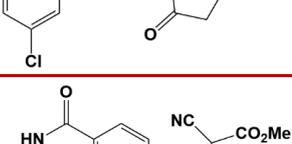
Code 57	3FU6	80G	1.26
Code 58	3V66	D3A	1.30
Code 59	2IZS	BRQ	1.33
Code 60	5C2A	4Y2	1.34
Code 61	2AUX	CT1	1.40
Code 62	4G16	0VM	1.40
Code 63	2AUZ	CT2	1.47
Code 64	4R5X	R5X	1.49
Code 65	4NFI	JD5	1.53
Code 66	4WN1	3SJ	1.55
Code 67	3FUD	692	1.66
Code 68	3CHQ	4BQ	1.67
Code 69	5UT3	IK1	1.67
Code 70	4R3W	3GQ	1.71
Code 71	3CHO	4BG	1.76
Code 72	3FU0	22F	1.76
Code 73	6I4B	E2N	1.81
Code 74	5C2H	4XU	1.84
Code 75	1YT7	3FC	1.93
Code 76	3CHP	4BO	1.96
Code 77	4PVX	YS1	1.97
Code 78	2BDL	4PR	2.11
Code 79	4DDR	MMV	2.12
Code 80	4KWP	EXX	2.12
Code 81	4PVY	JD1	2.18
Code 82	2AOW	THA	2.21
Code 83	1NQC	C4P	2.24
Code 84	4OQV	2V6	2.31
Code 85	1YK7	NBL	2.76
Code 86	5C1W	4XS	2.83

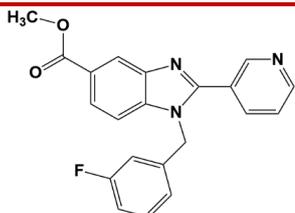
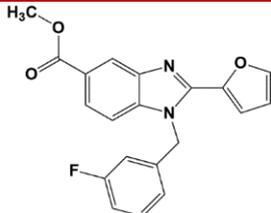
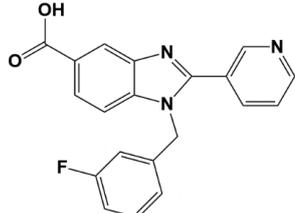
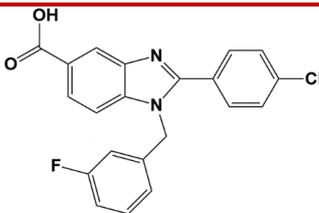
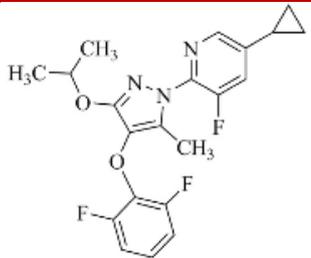
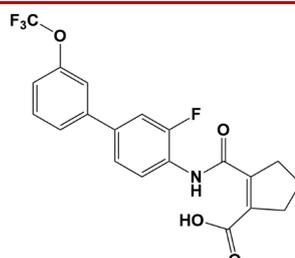
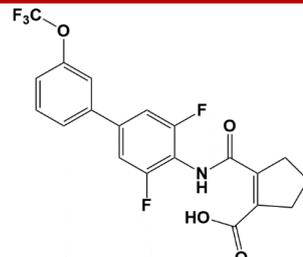
Code 87	3FUF	14O	3.00
Code 88	3PO7	ZON	3.01
Code 89	5C1W	4XS	3.02
Code 90	9EST	IBR	3.10
Code 91	1BGO	I10	3.51
Code 92	2QPM	246	3.80
Code 93	3OX2	79X	3.82
Code 94	3TEM	6A1	3.82
Code 95	3OVM	MZC	3.84
Code 96	3FUH	5H1	4.15
Code 97	2AOV	C2M	4.36
Code 98	1MS6	BLN	4.44
Code 99	3EQ7	X99	4,64
Code 100	4XRX	42V	4.98

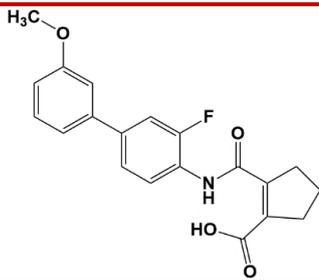
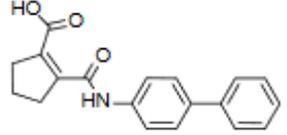
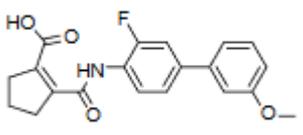
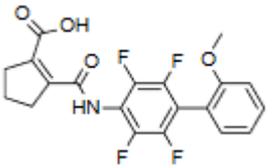
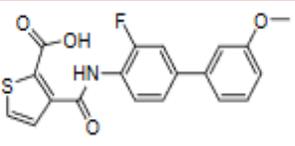
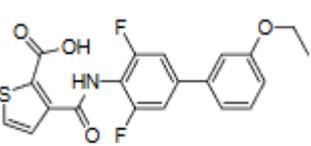
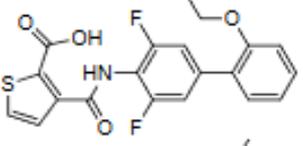
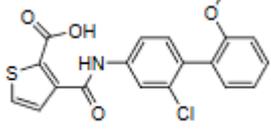
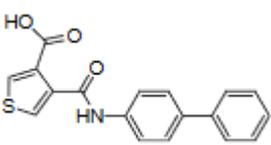
**Annexe N°2:** Tableau des 119 inhibiteurs issus de la littérature avec leurs IC<sub>50</sub>, Log IC<sub>50</sub>, Structures, et scores de docking.

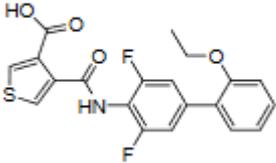
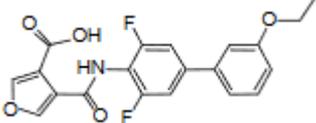
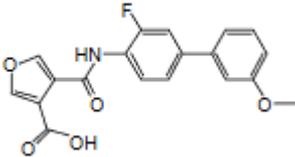
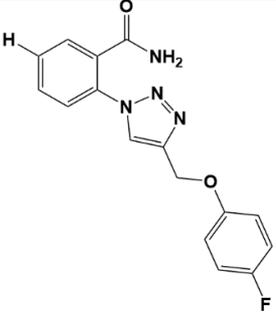
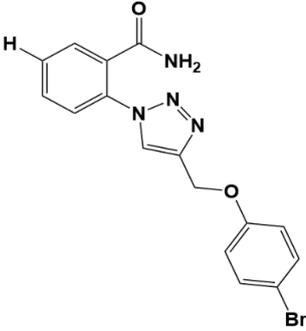
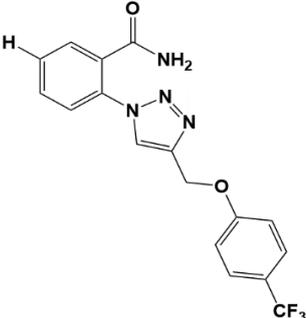
Nom	Structure	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ m)	Log IC <sub>50</sub>	$\Delta$ G
C1		0.018	-2.283	-10.29
C2		0.001	-3	-11.44
C3		0.97	-2.013	-10.83

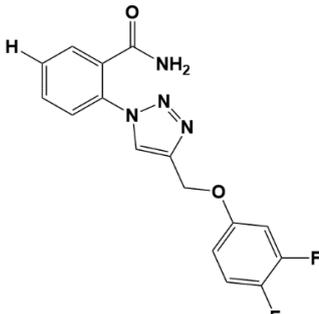
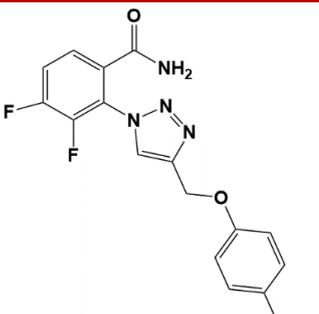
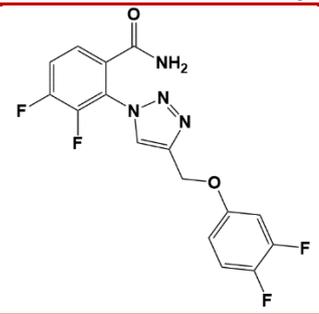
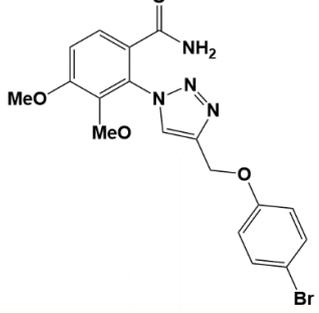
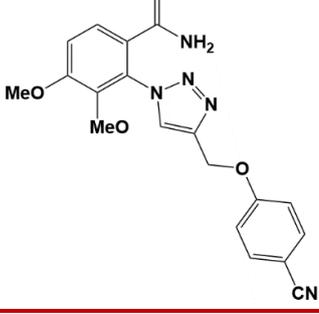
C 10		3.937	0.595	-8.37
C 11		0.562	-0.250	-8.69
C 12		0.018	-1.744	-10.74
C 13		0.026	-1.585	-10.47
C 14		0.029	-1.537	-10.57
C15		0,002	-2.698	-9.94
C21		0.56	-0.251	-9.09
C37		8.51	0.9299	-7.95
C38		10.64	1.0269	-7.68

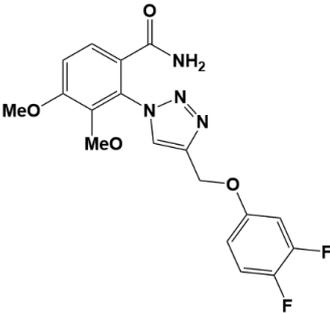
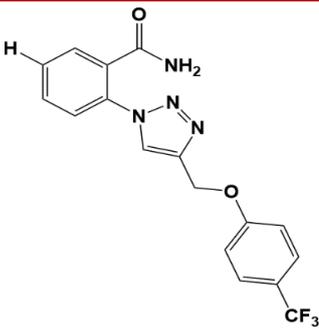
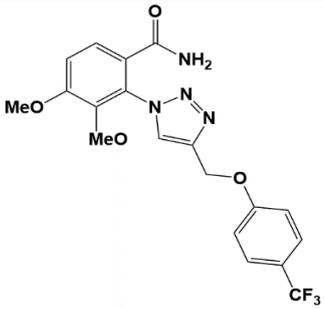
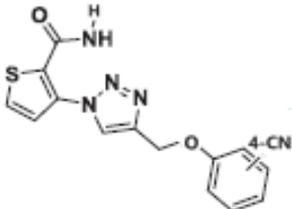
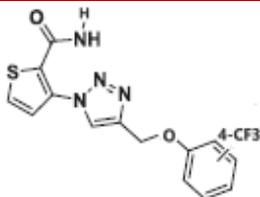
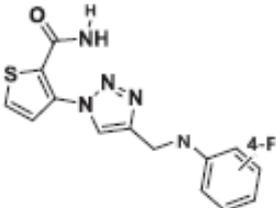
C39		2.68	0.4281	-8.40
C40		3.03	0.4814	-7.74
C41		4.41	0.6444	-7.54
C42		9.45	0.9754	-7.72
C49		1.12	0.0492	-9.43
C52		4.32	0.6354	-9.34
C53		2.98	0.4742	-9.29
C54		3.01	0.4785	-8.46
C56		7.50	0.8750	-8.28
C57		5.01	0.6998	-8.91

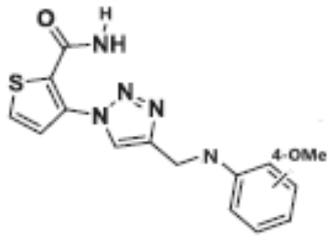
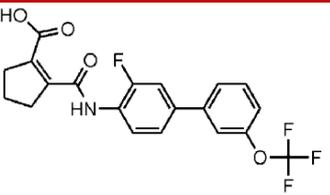
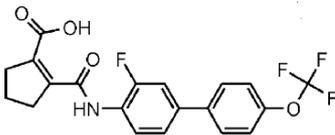
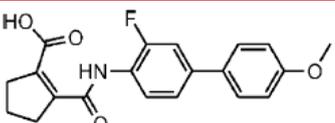
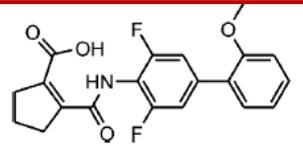
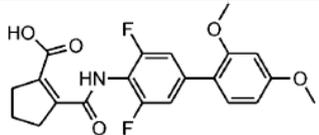
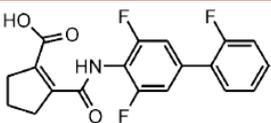
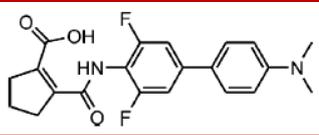
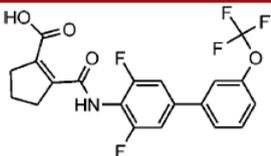
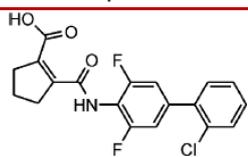
C59		0.227	-0.643	-9.50
C60		0.189	-0.723	-9.37
C61		0.081	-1.091	-9.09
C63		0.143	-0.844	-9.28
C67		0.025	-1.602	-9.98
C68		0.280	-0.552	-9.60
C69		0.033	-1.481	-9.87

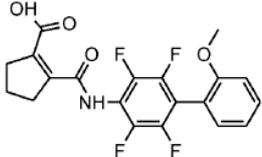
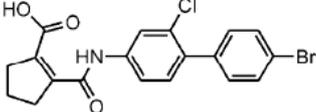
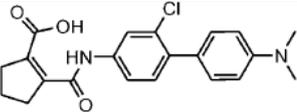
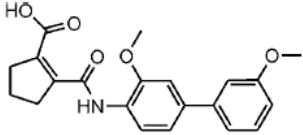
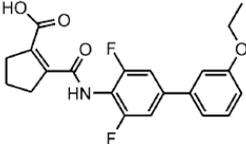
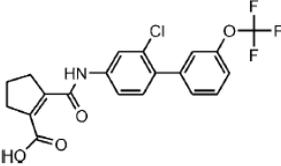
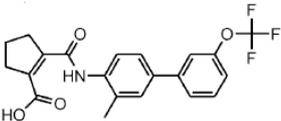
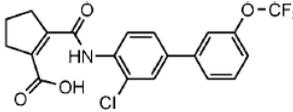
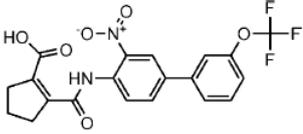
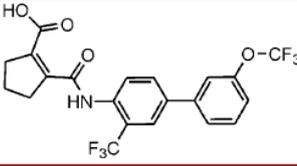
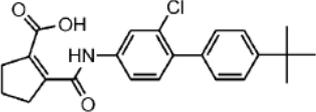
C71		0.044	-1.356	-9.84
C73		0.41	-0.387	-10.23
C74		0.134	-0.872	-10.18
C75		0.008	-2.096	-10.25
C77		0.044	-1.356	-9.92
C78		0.003	-2.522	-9.96
C79		0.009	-2.045	-10.02
C81		0.012	-1.920	-10.72
C82		1	0	-9.85

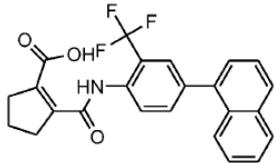
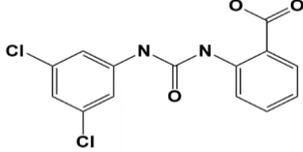
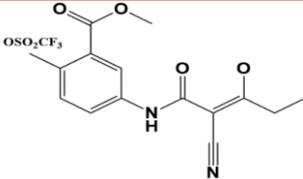
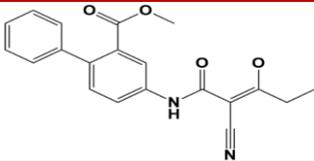
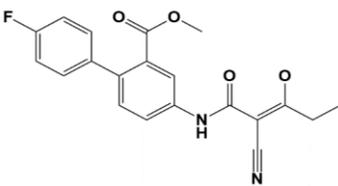
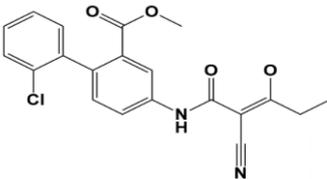
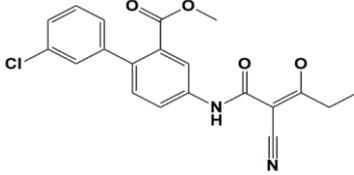
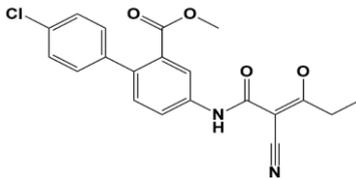
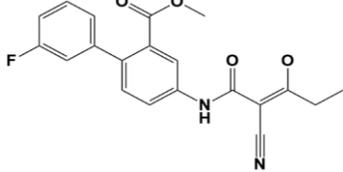
C83		0.01	-2	-10.35
C84		0.016	-1.795	-9.59
C85		0.34	-0.468	-9.29
C110		8,0	0.9030	-8.86
C111		2,1	0.3222	-9.07
C112		3,0	0.4771	-8.49

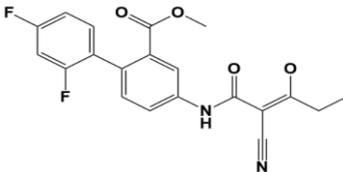
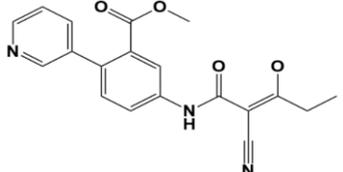
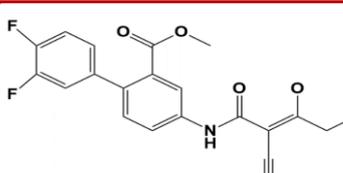
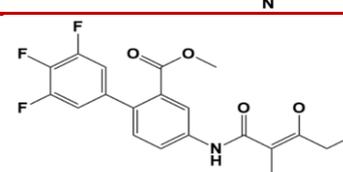
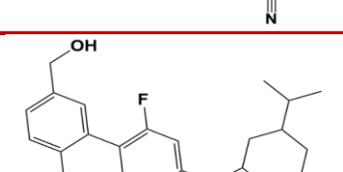
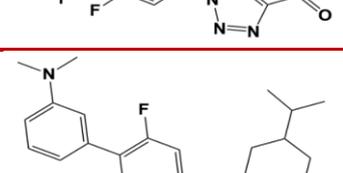
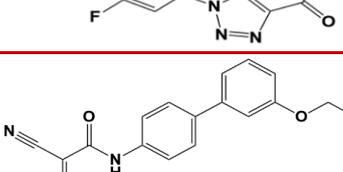
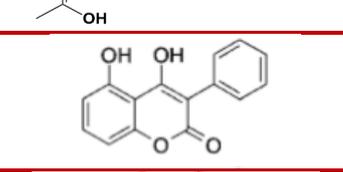
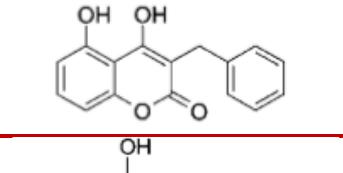
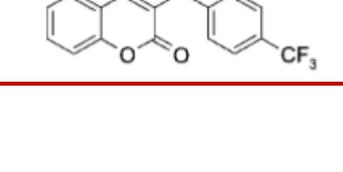
C113		5,1	0.7075	-8.86
C114		2,1	0.3222	-7.87
C115		5,1	0.7075	-7.91
C116		2,5	0.3979	-9.04
C117		2,3	0.3617	-8.74

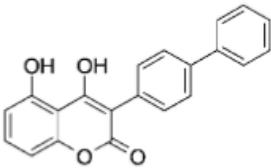
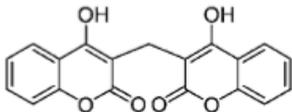
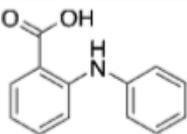
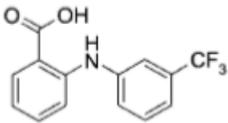
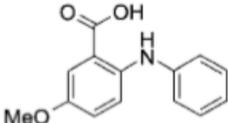
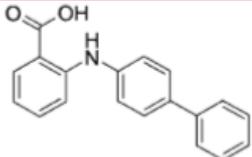
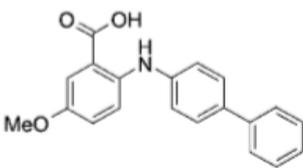
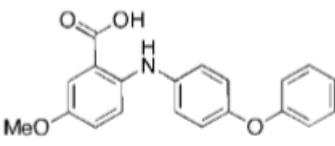
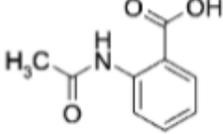
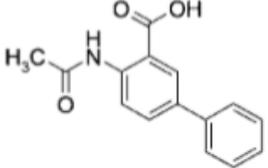
C118		5,7	0.7558	-7.80
C119		8,6	0.9345	-8.10
C120		1,5	0.1760	-7.93
C144		2,8	0.447	-8.61
C145		0,9	-0.045	-8.49
C146		4,6	0.662	-8.30

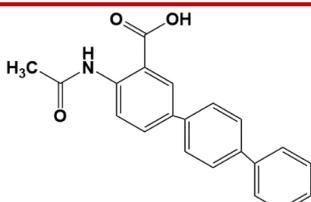
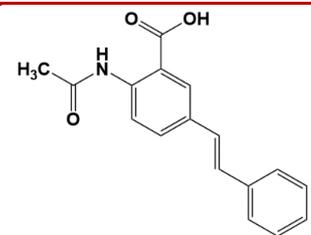
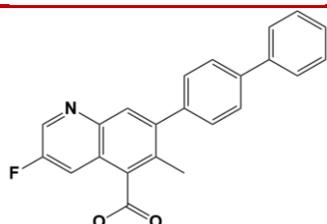
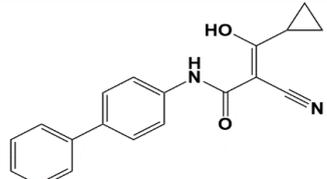
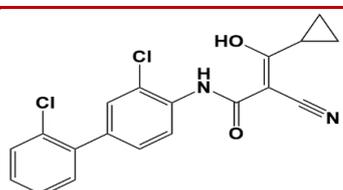
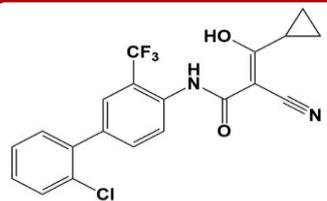
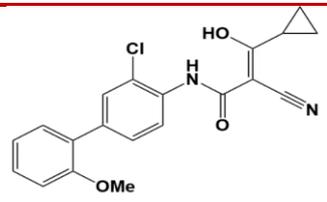
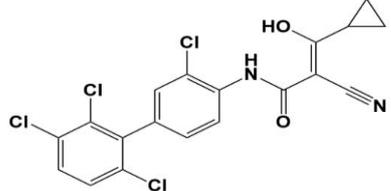
C147		2,7	0.431	-8.07
C149		0,28	-0.5528	-10.10
C150		5,7	0.7558	-9.18
C151		1,7	0.2304	-9.64
C153		0,042	-1.3767	-10.50
C154		0,090	-1.0457	-10.01
C155		0,045	-1.3467	-10.26
C156		0,610	-0.2146	-9.73
C157		0,033	-1.481	-9.65
C158		0,018	-1.477	-10.74

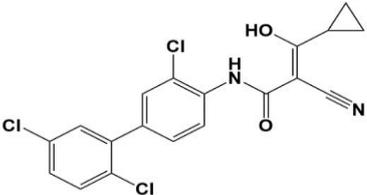
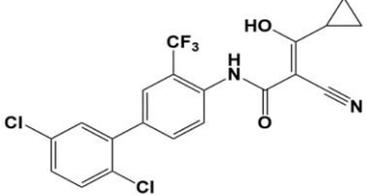
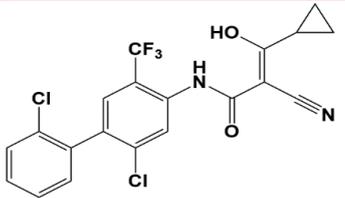
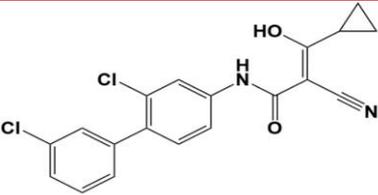
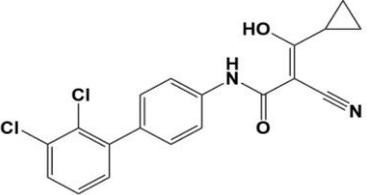
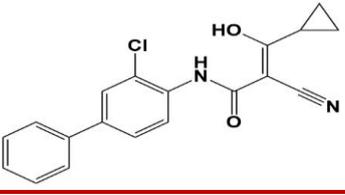
<b>C160</b>		0,008	-2.096	-10.16
<b>C163</b>		0,070	-1.154	-10.76
<b>C164</b>		0,050	-1.301	-10.15
<b>C166</b>		0,17	-0.7695	-10.74
<b>C168</b>		0,017	-1.7695	-10.03
<b>C170</b>		0,020	-1.6989	-10.58
<b>C171</b>		0,150	-0.8239	-9.93
<b>C172</b>		0,290	-0.5376	-9.87
<b>C174</b>		0,390	-0.4089	-9.73
<b>C175</b>		0,840	-0.0757	-9.60
<b>C176</b>		0,080	-1.0969	-10.61

C177		0,180	-0.7447	-10.48
C179		0,7	-0.154	-9.62
C183		0,093	-1.0315	-8.49
C184		0,073	-1.1366	-10.02
C185		0,110	-0.9586	-10.16
C186		0,052	-1.2839	-10.92
C187		0,031	-1.5086	-10.50
C188		0,045	-1.3467	-9.89
C190		0,198	-0.7033	-9.85

C191		0,031	-1.5086	-9.69
C192		0,040	-1.3979	-10.22
C195		0,097	-9,85	-1,013
C196		0,137	-9,72	-0,863
C204			-10,25	-0,767
C205			-10,19	-1,408
C206			-9,09	-0,886
C207		120	-7,45	2,079
C208		11	-8,9	1,041
C210		190	-8,68	2,278

C211		0.23	-9,04	-0,638
C212		6.6	-8,99	0,819
C213		38	-8,38	1,579
C214		19	-8,44	1,278
C215		25	-8,58	1,397
C216		0.19	-10,69	-0,721
C217		0.039	-10,17	-1,408
C218		0.081	-10,13	-1,091
C219		190	-6,56	2,278
C220		8.4	-8,75	0,924

C221		0.21	-9,55	-0,677
C222		0.033	-9,39	-0,481
C225		0.07	-10,7	-1,154
C229		0,053	-9,18	-1,275
C230		0,18	-9,56	-0,744
C231		0,17	-9,05	-0,769
C232		0,20	-9,26	-0,698
C233		0,33	-9,49	-0,481

C235		1,52	-9,34	0,181
C236		86,6	-8,84	1,937
C237		0,022	-9,71	-1,657
C238		0,19	-9,74	-0,721
C239		0,20	-8,98	-0,698
C241		0,32	-9	-0,494

**Annexe N°3 :** Les similaires ayant des scores  $\Delta G$  supérieurs à -11 parmi les 488 similaires obtenus suite au docking avec la DHODHh.

Nom	Num d'accesion CID	$\Delta G$ (Kcal/mole)
S10	71816636	-11.97
S21	67899519	-13.06
S26	23358354	-11.67
S27	53930164	-12.97
S28	54039464	-12.63
S32	19036874	-11.29
S33	19595381	-11.65

*Annexes*

<b>S43</b>	1734590	-11.64
<b>S44</b>	1739311	-11.04
<b>S47</b>	129751146	-11.14
<b>S48</b>	141860629	-11.29
<b>S55</b>	71660642	-11.55
<b>S61</b>	1738876	-11.14
<b>S80</b>	1738874	-12.05
<b>S81</b>	1738881	-11.28
<b>S82</b>	1738884	-12.22
<b>S84</b>	1738891	-11.53
<b>S85</b>	1739299	-11.62
<b>S86</b>	1739305	-12.33
<b>S87</b>	1739374	-12.24
<b>S89</b>	1921879	-11.39
<b>S90</b>	1939351	-12.34
<b>S103</b>	3516819	-12.84
<b>S105</b>	3570114	-12.76
<b>S113</b>	3774130	-12.32
<b>S116</b>	3894593	-12.41
<b>S127</b>	3995840	-11.37
<b>S132</b>	4023324	-12.33
<b>S139</b>	4234118	-12.91
<b>S150</b>	4334585	-12.09
<b>S171</b>	5144940	-12.78
<b>S177</b>	6217246	-11.72
<b>S179</b>	7139639	-11.12
<b>S181</b>	7139660	-11.46
<b>S186</b>	7139684	-11.18
<b>S197</b>	11732230	-12.99
<b>S201</b>	17261052	-11.98
<b>S207</b>	19648188	-11.54
<b>S211</b>	19648214	-11.68
<b>S249</b>	71816353	-11.61
<b>S254</b>	71816635	-11.28
<b>S271</b>	45051089	-11.18
<b>S273</b>	54094723	-11.85
<b>S274</b>	59810019	-12.67
<b>S277</b>	19036913	-11.72
<b>S278</b>	22241312	-11.38
<b>S279</b>	22241551	-12.62
<b>S280</b>	23358326	-11.54
<b>S282</b>	1925989	-11.39
<b>S288</b>	1734594	-11.81
<b>S289</b>	1739313	-11.46
<b>S293</b>	142024204	-12.33

*Annexes*

<b>S305</b>	69567406	-11.24
<b>S318</b>	1217234	-11.02
<b>S330</b>	1739302	-11.69
<b>S331</b>	1739319	-11.51
<b>S332</b>	1739376	-11.35
<b>S336</b>	2633521	-11.36
<b>S337</b>	3132007	-11.66
<b>S343</b>	3369652	-12.03
<b>S345</b>	3458448	-11.01
<b>S349</b>	3523434	-11.57
<b>S351</b>	3581794	-12.69
<b>S356</b>	3676877	-11.59
<b>S358</b>	3799281	-11.11
<b>S362</b>	3908233	-12.67
<b>S393</b>	4332104	-11.89
<b>S399</b>	4446232	-11.97
<b>S400</b>	4538276	-11.60
<b>S406</b>	4675873	-11.38
<b>S409</b>	4711646	-11.33
<b>S412</b>	4838839	-11.53
<b>S423</b>	7139621	-11.11
<b>S426</b>	7139662	-11.02
<b>S430</b>	7139680	-11.75
<b>S431</b>	7139695	-11.10
<b>S432</b>	7139715	-11.59
<b>S437</b>	7648388	-11.24
<b>S442</b>	15838956	-11.27
<b>S457</b>	19648223	-11.30
<b>S459</b>	19648230	-12.18
<b>S489</b>	142024205	-11.60
<b>S490</b>	145986592	-11.10

**Annexe N°4:** Groupements ajoutés aux composés de la mono-substitution et leurs scores de docking.

Nom	R1	R2	R3	R4	R6	R7	R9	R10	R11	Score
M1	OH									-13.27
M2		OH								-13.79
M3			OH							-12.47
M4				OH						-12.74
M5					OH					-13.01
M6						OH				-12.97
M7							Oh			-12.52
M8								oh		-13.33
M9									Oh	-13.73
M10	COO H									-11.01
M11		COO H								-14.09
M12			COO H							-11.57
M13				COO H						-10.05
M14					COO H					-14.24
M15						COO H				-14.18
M16							COO H			-11.60
M17								COO H		-12.78
M18									COO H	-11.94
M19	CH3									-12.20
M20		CH3								-14.20
M21			CH3							-12.51
M22				CH3						-13.84
M23					CH3					-13.26
M24						CH3				-13.32
M25							Ch3			-13.23
M26								CH3		-13.51
M27									Ch3	-12.89
M28	NH2									-12.65
M29		NH2								-13.33
M30			NH2							-11.94
M31				NH2						-11.74
M32					NH2					-12.90
M33						NH2				-13.18
M34							NH2			-11.67





## Annexes

<b>M83</b>		Benzène								-10.96
<b>M84</b>			Benzène							-8.91
<b>M85</b>				Benzène						-6.96
<b>M86</b>					Benzène					-11.81
<b>M87</b>						Benzène				-12.14
<b>M88</b>							Benzène			-8.76
<b>M89</b>								Benzène		-6.92
<b>M90</b>									Benzène	-12.10
<b>M91</b>	Br									-11.29
<b>M92</b>		Br								-14.29
<b>M93</b>			Br							-11.60
<b>M94</b>				Br						-12.04
<b>M95</b>					Br					-12.76
<b>M96</b>						Br				-12.70
<b>M97</b>							Br			-12.70
<b>M98</b>								Br		-13.35
<b>M99</b>									Br	-11.85
<b>M100</b>	Pyrimidine									-11.74
<b>M101</b>		Pyrimidine								-12.28
<b>M102</b>			Pyrimidine							-7.83
<b>M103</b>				Pyrimidine						-6.63
<b>M104</b>					Pyrimidine					-10.84
<b>M105</b>						Pyrimidine				-11.04
<b>M106</b>							Pyrimidine			-9.74
<b>M107</b>								Pyrimidine		-8.35
<b>M108</b>									pyrimidine	-10.64

**Annexe N°5:** Propriétés pharmacocinétiques des composés monosubstitués ayant un score supérieur à **-13,06** kcal/mol et du S21.

Nom	Abs	BBB	Inhibition des 5 CYT	Cancérogénicité	Score
S21	Elevée	Non	4	Non	-13.06
M1	Elevée	Non	4	Non	-13.27
M2	Elevée	Non	4	Non	-13.79
M7	Elevée	Non	4	Non	-13.73
M8	Elevée	Non	4	Non	-13.33
M11	Elevée	Non	4	Non	-14.09
M14	Faible	Non	2	Non	-14.24
M15	Faible	Non	2	Non	-14.18
M20	Faible	Non	4	Non	-14.20
M22	Elevée	Non	4	Non	-13.84
M23	Faible	Non	4	Non	-13.26
M24	Faible	Non	4	Non	-13.32
M26	Faible	Non	4	Non	-13.51
M25	Faible	Non	4	Non	-13.23
M29	Elevée	Non	4	Non	-13.33
M33	Elevée	Non	4	Non	-13.18
M36	Elevée	Non	4	Non	-13.18
M47	Faible	Non	4	Non	-14.08
M49	Faible	Non	4	Non	-13.18
M56	Faible	Non	4	Non	-13.48
M59	Faible	Non	4	Non	-13.33
M60	Faible	Non	4	Non	-13.37
M61	Faible	Non	4	Non	-13.19
M92	Faible	Non	4	Oui	-14.29
M98	Faible	Non	4	Oui	-13.35

**Annexe N°6:** Groupements ajoutés aux composés de la bi-substitution et leurs scores de docking.

Nom	R1	R2	R3	R4	R6	R7	R9	R10	R11	Score
B1	OH				COO H					-13.94
B2		OH			COO H					-10.49
B3			OH		COO H					-11.51
B4				OH	COO H					-10.49
B5					COO H	OH				-13.87
B6					COO H		OH			-12.87
B7					COO H			OH		-13.76
B8					COO H				OH	-11.53
B9	COO H				COO H					-10.87
B10		COO H			COO H					-10.38
B11			COO H		COO H					-8.16
B12				COO H	COO H					-11.08
B13					COO H	COO H				-12.33
B14					COO H		COO H			-13.91
B15					COO H			COO H		-12.08
B16					COO H				COO H	-11.67
B17	CH3				COO H					-13.59
B18		CH3			COO H					-11.47
B19			CH3		COO H					-10.38
B20				CH3	COO H					-11.89
B21					COO H	CH3				-14.00
B22					COO H		CH3			-14.11

B23					COO H			CH3		-12.17
B24					COO H				CH3	-14.82
B25	NH2				COO H					-12.53
B26		NH2			COO H					-12.93
B27			NH2		COO H					-10.39
B28				NH2	COO H					-11.47
B29					COO H	NH2				-12.54
B30					COO H		NH2			-12.80
B31					COO H			NH2		-12.83
B32					COO H				NH2	-13.17
B33	Cl				COO H					-12.25
B34		Cl			COO H					-11.44
B35			Cl		COO H					-9.34
B36				Cl	COO H					-9.50
B37					COO H	Cl				-14.32
B38					COO H		Cl			-14.31
B39					COO H			Cl		-13.63
B40					COO H				Cl	-14.59
B41	F				COO H					-12.05
B42		F			COO H					-13.40
B43			F		COO H					-9.64
B44				F	COO H					-11.17
B45					COO H	F				-13.26

<b>B46</b>					COO H		F			-14.05
<b>B47</b>					COO H			F		-13.20
<b>B48</b>					COO H				F	-13.14

**Annexe N°7:** Propriétés pharmacocinétiques des composés bi-substitués et du composé M14.

<b>Nom</b>	<b>Abs Gastro- Intestinale</b>	<b>BBB</b>	<b>Inhibition des 5 CYT</b>	<b>Cancérogénicité</b>	<b>Score</b>
<b>M14</b>	Faible	Non	2	Non	-14.24
<b>B1</b>	Faible	Non	1	Non	-13.94
<b>B2</b>	Faible	Non	1	Non	-10.49
<b>B3</b>	Faible	Non	1	Non	-11.51
<b>B4</b>	Faible	Non	1	Non	-10.49
<b>B5</b>	Faible	Non	1	Non	-13.87
<b>B6</b>	Faible	Non	1	Non	-12.87
<b>B7</b>	Faible	Non	1	Non	-13.76
<b>B8</b>	Faible	Non	1	Non	-11.53
<b>B9</b>	Faible	Non	1	Non	-10.87
<b>B10</b>	Faible	Non	1	Non	-10.38
<b>B11</b>	Faible	Non	1	Non	-8.16
<b>B12</b>	Faible	Non	2	Oui	-11.08
<b>B13</b>	Faible	Non	2	Non	-12.33
<b>B14</b>	Faible	Non	1	Non	-13.91
<b>B15</b>	Faible	Non	1	Non	-12.08
<b>B16</b>	Faible	Non	1	Non	-11.67
<b>B17</b>	Faible	Non	2	Non	-13.59
<b>B18</b>	Faible	Non	2	Non	-11.47
<b>B19</b>	Faible	Non	2	Non	-10.38
<b>B20</b>	Faible	non	3	Oui	-11.89
<b>B21</b>	Faible	Non	2	Non	-14.00
<b>B22</b>	Faible	Non	2	Non	-14.11
<b>B23</b>	Faible	Non	2	Non	-12.17
<b>B24</b>	Faible	Non	2	Non	-14.82
<b>B25</b>	Faible	Non	2	Non	-12.53
<b>B26</b>	Faible	Non	2	Non	-12.93
<b>B27</b>	Faible	Non	2	Non	-10.39
<b>B28</b>	Faible	Non	2	Oui	-11.47
<b>B29</b>	Faible	Non	2	Non	-12.54
<b>B30</b>	Faible	Non	1	Non	-12.80
<b>B31</b>	Faible	Non	1	Non	-12.83
<b>B32</b>	Faible	Non	1	Non	-13.17

*Annexes*

<b>B33</b>	Faible	Non	2	Non	-12.25
<b>B34</b>	Faible	non	1	Non	-11.44
<b>B35</b>	Faible	Non	1	Non	-9.34
<b>B36</b>	Faible	Non	2	Non	-9.50
<b>B37</b>	Faible	Non	1	Non	-14.32
<b>B38</b>	Faible	Non	1	Non	-14.31
<b>B39</b>	Faible	Non	1	Non	-13.63
<b>B40</b>	Faible	Non	1	Non	-14.59
<b>B41</b>	Faible	Non	1	Oui	-12.05
<b>B42</b>	Faible	Non	1	Non	-13.40
<b>B43</b>	Faible	Non	1	Oui	-9.64
<b>B44</b>	Faible	Non	1	Oui	-11.17
<b>B45</b>	Faible	Non	1	Oui	-13.26
<b>B46</b>	Faible	Non	1	Oui	-14.05
<b>B47</b>	Faible	Non	1	Non	-13.20
<b>B48</b>	Faible	Non	1	Oui	-13.14

**Annexe N°8:** Groupements ajoutés aux composés de la poly-substitution.

Nom	R1	R2	R3	R4	R5	chaîne carbonique (Position R6)
Poly 1		COOH			CH <sub>3</sub>	CO-C
Poly 2		COOH			CH <sub>3</sub>	C-CO
Poly 3		COOH			CH <sub>3</sub>	C-C
Poly 4	F	COOH			CH <sub>3</sub>	C-CO
Poly 5		COOH			CH <sub>3</sub>	CN-C
Poly 6		COOH		CH <sub>3</sub>		C-CO
Poly 7		COOH		CH <sub>3</sub>		CN-C
Poly 8		COOH	CH <sub>3</sub>			C-CO
Poly 9		COOH	CH <sub>3</sub>			CO-C
Poly10		COOH	CH <sub>3</sub>			CH <sub>3</sub>
Poly11		COOH	CH <sub>3</sub>			CO
Poly12		COOH	CH <sub>3</sub>			
Poly13		COOH			CH <sub>3</sub>	OH
Poly14		COOH			CH <sub>3</sub>	CO
Poly15		COOH			CH <sub>3</sub>	F
Poly16		COOH			CH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>
Poly17		COOH			CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>

**Annexe N°9:** Propriétés pharmacocinétiques des composés Poly-substitués et du composé B24 avec leurs scores.

Nom	Abs	BBB	Inhibition des 5 CYT	Cancérogénicité	Score
<b>B24</b>	Faible	Non	2	Non	-14.82
<b>Poly 1</b>	Elevée	Non	2	Non	-10.80
<b>Poly 2</b>	Elevée	Non	2	Non	-13,56
<b>Poly 3</b>	Elevée	Non	2	Non	-13.37
<b>Poly 4</b>	Elevée	Non	2	Non	-12.61
<b>Poly 5</b>	Elevée	Non	2	Non	-13.25
<b>Poly 6</b>	Elevée	Non	2	Non	-12.69
<b>Poly 7</b>	Elevée	Non	2	Non	-12.35
<b>Poly 8</b>	Elevée	Non	2	Non	-13,18
<b>Poly 9</b>	Elevée	Non	2	Non	-13,26
<b>Poly 10</b>	Elevée	Non	2	Non	-13.48
<b>Poly 11</b>	Elevée	Non	2	Non	-13.29
<b>Poly 12</b>	Elevée	Non	2	Non	-12.54
<b>Poly 13</b>	Elevée	Non	1	Non	-12.20
<b>Poly 14</b>	Faible	Non	2	Oui	-11.72

*Annexes*

<b>Poly 15</b>	Faible	Non	1	Non	-11.84
<b>Poly 16</b>	Faible	Non	1	Non	-11.74
<b>Poly 17</b>	Elevée	Non	1	Non	-12.88

---



# Résumé

---

## Résumé

Le docking moléculaire est un outil informatique de modélisation moléculaire utilisé dans le contexte de développement des médicaments. Dans notre travail du mémoire de master, le logiciel AutoDock a été utilisé en faisant appel à la modélisation par docking moléculaire *in silico*, afin de proposer un nouveau inhibiteur ayant des bons caractéristiques ADMET et plus puissant de la Dihydroorotate déshydrogénase *humaine* ; cible thérapeutique impliquée dans le traitement de plusieurs maladies auto-immunes tel que la sclérose en plaques, la polyarthrite rhumatoïde, et certains types de cancer comme la leucémie myéloïde aiguë. Dans le but d'effectuer un criblage virtuel, une collection de 488 molécules similaires du composé C2 issues de la *PubChem* a été testée envers la DHODH. le composé S21 issu de ce criblage ayant le meilleur score, a subi une série de modifications structurelles. Ce processus nous a permis de dévoiler le composé Poly2 comme un nouvel inhibiteur théoriquement plus actif envers la *h*DHODH avec une énergie d'interaction égale à -13.56 Kcal/Mol, inférieure à celle du composé de départ C2 égale à -11,44 Kcal/Mol. A la fin, l'évaluation des propriétés physico-chimiques, des paramètres pharmacocinétiques ainsi que les tests de toxicité potentielle, nous a renseignée positivement sur ce nouveau composé et ses propriétés ADME/tox.

**Mots clés :** Docking moléculaire, Dihydroorotate déshydrogénase, AutoDock, Inhibiteur, Criblage virtuel, Berquinar, Leflunomide, Maladies Autoimmunes.

## **Abstract**

Molecular docking is a computer tool for molecular modeling used in the context of drug development. In our current work of the master's thesis, the AutoDock software was used using molecular docking *in silico* modelling, in order to propose a new inhibitor with good and more powerful ADMET characteristics of *human* Dihydroorotate dehydrogenase : therapeutic target involved in the treatment of several autoimmune diseases such as multiple sclerosis, rheumatoid arthritis, and certain types of cancer such as acute myeloid leukemia. In order to perform a virtual screening, a collection of 488 similar molecules of compound C2 from *PubChem* was tested against *h*DHODH. The compound S21 resulting from this screening having the best score, underwent a series of structural modifications. This process allowed us to reveal the Poly2 compound as a new inhibitor theoretically more active towards *h*DHODH with an interaction energy equal to -13.56 Kcal / Mol, lower than the one of the starting compound C2 equal to -11.44 Kcal / Mol. At the end, the evaluation of the physicochemical properties, the pharmacokinetic parameters as well as the tests of potential toxicity, informed us positively about this new compound and its ADME / tox properties.

**Key words:** Molecular docking, Dihydroorotate dehydrogenase, AutoDock, Inhibitor, Virtual screening, Berquinar, Leflunomide, Autoimmune diseases.

## الملخص:

الإلتحام الجزيئي هو أداة كمبيوتر للنمذجة الجزيئية المستخدمة في سياق تطوير الأدوية. في عملنا الحالي لأطروحة الماجستير، تم استخدام برنامج AutoDock باستخدام نمذجة الإرساء الجزيئي *in silico*، من أجل اقتراح مثبط جديد له خصائص جيدة وأكثر قوة للإنزيم البشري Dihydroorotate deshydrogenase: مستهدف علاجي متضمن في علاج العديد من أمراض المناعة الذاتية مثل التصلب المتعدد والتهاب المفاصل الروماتويدي وأنواع معينة من السرطان مثل ابيضاض الدم النقوي الحاد. من أجل إجراء فحص افتراضي، مجموعة مكونة من 488 مركب كيميائي مشابه للمركب 2C و المتحصل عليها من PubChem تم اختبارها ضد الإنزيم DHODH.h. المركب 21S الناتج عن هذا الفحص تحصل على أفضل نتيجة، و خضع لسلسلة من التعديلات الهيكلية. سمحت لنا هذه العملية بالكشف عن المركب الكيميائي Poly 2 كمثبط جديد أكثر نشاطاً نظرياً ضد الإنزيم DHODH.h مع طاقة تفاعل تساوي - Mol/13,56Kcal أقل من طاقة تفاعل مركب البداية 2C التي تساوي -Mol/11,55Kcal. في النهاية، تقييم الخصائص الفيزيوكيميائية، ومعايير الحرائك الدوائية، وكذلك الاختبارات السمية المحتملة أخبرنا بشكل إيجابي عن هذا المركب الجديد وخصائصه ADMET/Tox.

## الكلمات المفتاحية:

الإلتحام الجزيئي، Dihydroorotate deshydrogenase، AutoDock، مثبط، فحص افتراضي، Berquinar، Leflunomide، الأمراض المناعية.

Année Universitaire  
2018/ 2019

Présenté par: Boudra Amira et Lemchenak  
Nourhane Malak

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biochimie  
Appliquée.

Thème: Conception et analyse *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la dihydroorotate  
déshydrogénase humaine pour le traitement de certaines maladies auto-immunes

### Résumé

Le docking moléculaire est un outil informatique de modélisation moléculaire utilisé dans le contexte de développement des médicaments. Dans notre travail du mémoire de master, le logiciel AutoDock a été utilisé en faisant appel à la modélisation par docking moléculaire *in silico*, afin de proposer un nouveau inhibiteur ayant des bons caractéristiques ADMET et plus puissant de la Dihydroorotate déshydrogénase *humaine* ; cible thérapeutique impliquée dans le traitement de plusieurs maladies auto-immunes tel que la sclérose en plaques, la polyarthrite rhumatoïde, et certains types de cancer comme la leucémie myéloïde aiguë. Dans le but d'effectuer un criblage virtuel, une collection de 488 molécules similaires du composé C2 issues de la *PubChem* a été testée envers la DHODHh. Le composé S21 issu de ce criblage ayant le meilleur score, a subi une série de modifications structurelles. Ce processus nous a permis de dévoiler le composé Poly2 comme un nouvel inhibiteur théoriquement plus actif envers la DHODHh avec une énergie d'interaction égale à -13.56 Kcal/Mol ; inférieure à celle du composé de départ C2 égale à -11,44 Kcal/Mol. A la fin, l'évaluation des propriétés physico-chimiques, des paramètres pharmacocinétiques ainsi que les tests de toxicité potentielle, nous a renseignée positivement sur ce nouveau composé et ses propriétés ADME/tox.

**Mots clés :** Docking moléculaire, Dihydroorotate déshydrogénase, AutoDock, Inhibiteur, Criblage virtuel, Berquinar, Leflunomide, Maladies Auto-immunes.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de Biochimie Appliquée.

Jury d'évaluation :

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

**Date de soutenance :** 10 / 09 / 2020