



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

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

**THÈME**

Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'Histone désacétylase  
pour le traitement des maladies associées  
à une dérégulation transcriptionnelle

**Présenté et soutenu Par :**

HAMLAOUI Malak

BOUAICHE Rayane

Le : 25/08/2020

**Devant le jury composé de :**

**Président du jury:** Mr. BENSEGUENI A. (Professeur -UFM Constantine 1).

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

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

Année Universitaire  
2019 -2020



## *Remerciements*

*Tout d'abord nous tenons à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la force et la patience pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement notre encadreur Mr. MOKRANI E. H. Maître assistant « A » à l'Université Frères Mentouri Constantine -1, sans lequel ce travail n'aurait pas été possible. Son attention exceptionnelle et sa disponibilité nous ont été d'une richesse très formatrice.*

*Toute notre gratitude s'adresse aussi à Mr. BENSEGUENI A. Professeur à l'Université Frères Mentouri Constantine-1 pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce jury ;*

*On exprime également toute notre reconnaissance à Mme TENIOU S. Maître assistante « A » à l'Université Frères Mentouri Constantine -1 pour avoir accepté de juger ce modeste travail.*

*Un grand merci à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

*Merci.*

## *Dédicaces*

*Je rends grâce à dieu le tout puissant qui m'a permis de mener à bien ce projet de fin d'études. Je dédie ce mémoire fruit de mon long chemin d'étude :*

*À ma très chère mère: **Hassiba***

*Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi maman. Tu m'as comblé avec ta tendresse et ton affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes ces années, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler et m'aider quand il fallait. Tes prières et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

*Tu es, et tu resteras pour toujours ma référence, la lumière qui illumine mon chemin.*

*En ce jour mémorable, reçoit ce travail modeste en signe de ma vive reconnaissance, ma profonde estime et mon grand amour. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.*

*À mon très cher père: **Chérif***

*Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soient-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Ta patience sans fin, ton affection, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain.*

*J'espère que tu trouveras dans ce travail les fruits de tes sacrifices et le témoignage de ma grande fierté de t'avoir comme père. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.*

*À Mes précieux frères : **Mohamed Djad El Hak** et **Ahmed Mejd Eddine***

*Mes repères, conseillers, et amis fidèles, qui m'ont assistés dans les moments difficiles de la vie et m'ont aidés à traverser les épreuves pénibles.*

*Cette humble dédicace est un témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

*À la mémoire de mon frère bien aimé : **Ahmed Hamd Errahman** et mes précieux cousins : **Mohamed El Houmam** et **Chakib***

*J'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde*

*À Mes très chères grand-mères : **Fatima -Zohra** et **Adra***

*Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.*

*À mes cher amies de toujours : **Aya, Hawa, Anfel, Sarah, Rayane** et **Hadjer**.*

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Par ces quelques mots d'amitié je tiens à vous exprimer ma gratitude et ma reconnaissance sans failles.*

*A ma très cher binôme et amie : **Rayane***

*Je ne sais point comment te rendre le trésor de sollicitude manifesté par ta personne pour me soutenir dans ces moments difficiles que j'ai traversés. Tes grandes attentions et ta disponibilité ont été une aide précieuse pour moi.*

*À Mes chers tantes, oncles, leurs époux et épouses,*

*A mes chers cousines et cousins*

*Ces quelques lignes, ne sauraient traduire le profond amour que je vous porte. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère. Que Dieu vous accorde santé et succès.*

*À toutes les personnes qui comptent pour moi, et pour qui je porte beaucoup de tendresse et de respect.*

*À toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

*À tous ceux que j'ai omis de citer.*

*Je vous suis à jamais reconnaissante.*

*Malak.*

## *Dédicaces*

Merci **ALLAH** de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire,  
la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur.

Je dédie ce travail à ma **chère famille**,

A ma très **chère mère Latra**

Celle qui m'a soutenu durant toute ma vie, qui n'a cessé de me donner l'espoir et le  
courage nécessaires pendant mon long trajet d'étude.

A mon père **Rabah**

Qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études, Celui qui s'est toujours sacrifié  
pour me voir réussir.

Aussi à mon fiancé **Bouhali Nassim**,

grâce à son amour, son soutien et ses sacrifices sans limite.

A mes chères frères **Youcef, Kassem, Bachir et Mohamed El Hadi**

A ma charmante sœur **Rofia**

Pour leur amour, leurs encouragements et leur soutien.

A mes neveux **Ilham, Soundous, loai, Mohamed El Habib**

Je leur dédie ce travail en témoignage des liens solides et intimes qui nous unissent,  
leur soutien et leurs encouragements, en leur souhaitant un avenir plein de succès et  
de bonheur.

A ma chère amie et binôme **Malak**

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

A mes chères amies **Chaima, Khoulod, Rayane, Warda, Wiam et Amira**

Qui m'ont toujours encouragé, vous êtes les meilleures, aucun mot ne pourra décrire  
votre

Dévouement, aide et support.

A mes camarades de la promotion de master en Biochimie Appliquée.

A tous ceux qui me sont chers.

*Rayane.*

## TABLE DES MATIERES

---

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

### *Partie bibliographique*

#### **Chapitre 1 : Histone désacétylase**

1. Introduction.....	3
2. Modifications post-traductionnelles : Acétylation/Désacétylation.....	3
3. Les Histone désacétylases.....	5
3.1.Les classes de l'HDAC.....	5
3.2Structure de l'HDAC.....	6
3.3.Le site actif.....	7
3.4. Le Rôle physiologique de l'HDAC.....	10
4. Les Inhibiteurs de l'Histone désacétylase.....	11
4.1. Les inhibiteurs naturels.....	12
4.1.1. Trichostatin A.....	12
4.1.2. La romidepsine.....	12
4.1.3. La Pomiférine.....	13
4.1.4. Le butyrate de sodium.....	13
4.1.5. L'apicidine.....	14
4.2. Les inhibiteurs synthétiques.....	14
4.2.1. Le Vorinostat (SAHA).....	14
4.2.2. Mocetinostat.....	15
4.2.3. Panobinostat.....	15

4.2.4. Belinostat.....	16
4.2.5. Entinostat.....	16

## ***Chapitre 2 : Docking moléculaire***

1. Introduction.....	18
2. Les types du docking moléculaire.....	18
3. Principes théoriques du docking moléculaire.....	19
4. Applications du docking moléculaire.....	20
5. Les étapes du docking moléculaire.....	21
6. Les outils du docking moléculaire.....	22
a. Protéine.....	22
b. Ligand.....	22
c. Les programmes du docking.....	23

## *Partie pratique*

## ***Chapitre 3 : Matériel et méthodes***

1. Matériels.....	24
1.1. Micro-ordinateur.....	24
1.2. Programmes.....	24
1.2.1. Titan.....	24
1.2.2. OpenBabel.....	24
1.2.3. VMD.....	25
1.2.4. AutoDock.....	26
1.2.5. Excel.....	26
1.2.6. PyMOL.....	26



1.2.7. Discovery studio visualizer.....	27
1.3. Banques de données.....	28
1.3.1. PDB.....	28
1.3.2. PubChem.....	28
1.4. Outils web.....	29
1.4.1. SwissADME.....	29
1.4.2. PreADMET.....	29
2. Méthodes.....	30
2.1. Le choix de la cible.....	30
2.2. Préparation de la cible.....	31
2.3. Construction des ligands.....	32
2.4. Protocole de docking par AutoDock.....	33
2.5. Tests de fiabilité du programme de docking.....	35
2.5.1. Test de corrélation linéaire.....	35
2.5.2. Test RMSD.....	35
2.5.3. L'analyse visuelle.....	36
2.6. Le criblage virtuel des similaires.....	36
2.7. Modification par substitution.....	36
2.8. Prédiction ADMET.....	37
2.8.1. Propriétés physico-chimiques.....	37
2.8.1.1. Règle de Lipinski.....	37
2.8.1.2. Règle de Veber.....	38
2.8.1.3. Solubilité dans l'eau.....	38

2.8.1.4. Accessibilité à la synthèse.....	38
2.8.2. Propriétés pharmacocinétiques.....	38
2.8.2.1. Absorption gastro-intestinal (GI).....	38
2.8.2.2. BBB perméabilité.....	39
2.8.2.3. Inhibition des cytochromes P450.....	39
2.8.3. Toxicité potentielle.....	39
2.8.3.1. Test d'Ames.....	39
2.8.3.2. Cancérogénicité.....	40
2.8.3.3. Inhibition de l'hERG.....	40
2.8.3.4. Tests de toxicité aigüe.....	40

#### ***Chapitre 4 : Résultats et discussion***

1. Tests de fiabilité du programme de docking.....	41
1.1. Le test RMSD.....	41
1.2. L'analyse visuelle.....	42
1.3. Test du coefficient de corrélation linéaire.....	45
Conclusion.....	46
2. Etude des interactions enzyme-inhibiteur.....	46
3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'HDAC.....	48
3.1. Criblage virtuel des similaires.....	48
3.2. Mono-substitution.....	50
3.3. Bi-substitution.....	54
4. Prédiction des propriétés ADMET.....	57
4.1. Propriétés physico-chimiques.....	57

4.2. Propriétés pharmacocinétiques.....	58
4.3. Les tests de toxicité.....	59
Conclusion et perspectives.....	60
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumés	

## Liste des figures

<b><u>Figure N°1</u></b> : Divers aspects du processus de la transcription et sa régulation par la modification des histones.....	04
<b><u>Figure N°2</u></b> : Le rôle de la désacétylation dans la régulation et le bon fonctionnement cellulaire et leurs implications dans différentes maladie.....	04
<b><u>Figure N°3</u></b> : La structure globale de l'HDAC 8 humain. (A) Les deux monomères, A et B, sont représentés respectivement en indigo et en jaune. (B) le monomère d'HDAC avec des hélices $\alpha$ et des feuillets $\beta$ marqués et colorés en jaune et indigo, respectivement.....	06
<b><u>Figure N°4</u></b> : Vue de côté (a) et vue de haut (b) de la structure globale de l'HDAC en complexe avec l'inhibiteur SAHA.....	07
<b><u>Figure N°5</u></b> : Représentation de la surface moléculaire et architecture du site actif de l'HDAC. Les résidus acides aminés du site actifs sont représentés en mode « Licorice » gris tandis que l'inhibiteur PTSB-hydroxamate est en mode « Licorice » vert.....	08
<b><u>Figure N°6</u></b> : Liaison du NAD + avec les résidus des sirtuines (dans le site des sirtuines)...	09
<b><u>Figure N°7</u></b> : Liaison du résidu acétyl-lysine au site actif de la sirtuine .....	10
<b><u>Figure N°8</u></b> : Acétylation de l'histone à la lysine N-terminale par l'histone acétyltransférase (HAT) et la désacétylation par l'histone désacétylase (HDAC).....	10
<b><u>Figure N°9</u></b> : Pharmacophore général pour les inhibiteurs de l'HDAC.....	11
<b><u>Figure N°10</u></b> : Structure de l'inhibiteur Trichostatin A.....	12
<b><u>Figure N°11</u></b> : Structure de l'inhibiteur romidepsine.....	13
<b><u>Figure N°12</u></b> : Structure de l'inhibiteur Pomiférine.....	13
<b><u>Figure N°13</u></b> : Structure de l'inhibiteur butyrate de sodium.....	14
<b><u>Figure N°14</u></b> : Structure de l'inhibiteur apicidine.....	14
<b><u>Figure N°15</u></b> : Structure de l'inhibiteur vorinostat.....	15
<b><u>Figure N°16</u></b> : Structure de l'inhibiteur Mocetinostat.....	15

<b><u>Figure N°17</u></b> : Structure de l'inhibiteur Panobinostat.....	16
<b><u>Figure N°18</u></b> : Structure de l'inhibiteur Belinostat.....	16
<b><u>Figure N°19</u></b> : Structure de l'inhibiteur Entinostat.....	17
<b><u>Figure N°20</u></b> : Schéma du protocole général de docking .....	19
<b><u>Figure N°21</u></b> : Les étapes clés du docking moléculaire.....	21
<b><u>Figure N°22</u></b> : Interface du programme Titan.....	24
<b><u>Figure N°23</u></b> : Interface du programme OpenBabel version 2.0.2.....	25
<b><u>Figure N°24</u></b> : Interface du programme VMD version1.8.7.....	25
<b><u>Figure N°25</u></b> : Interface graphique AutoDock Tools 1.5.6.....	26
<b><u>Figure N°26</u></b> : Interface du programme PyMol version 0.99rc6.....	27
<b><u>Figure N°27</u></b> : Interface du programme Biovia Discovery studio visualizer version 20.1.0...	27
<b><u>Figure N°28</u></b> : La page d'accueil de la banque PDB .....	28
<b><u>Figure N°29</u></b> : La page d'accueil de la banque PubChem.....	29
<b><u>Figure N°30</u></b> : La page d'accueil du serveur SwissADME.....	29
<b><u>Figure N°31</u></b> : La page d'accueil du serveur PreADMET .....	30
<b><u>Figure N°32</u></b> : Structures 3D du complexe 4LY1 issues de la PDB.....	31
<b><u>Figure N°33</u></b> : (A) Chaîne A de la protéine <b>4LY1</b> sans l'inhibiteur (B) Chaîne A de la protéine <b>4LY1</b> avec l'inhibiteur <b>20Y</b> .....	32
<b><u>Figure N°34</u></b> : (A) Chaîne A de la protéine <b>4LY1</b> avec l'inhibiteur <b>20Y</b> (B) Chaîne A de la protéine <b>4LY1</b> avec le site actif (C) L'inhibiteur <b>20Y</b> dans le site actif de la protéine <b>4LY1</b> .....	32
<b><u>Figure N°35</u></b> : La préparation de la protéine avec l'interface graphique AutoDock Tools.....	33

<b><u>Figure N°36</u></b> : La préparation du ligand avec l'interface graphique AutoDock Tools .....	34
<b><u>Figure N°37</u></b> : Positionnement de la boîte dans le site actif de l'enzyme 4LY1.....	34
<b><u>Figure N°38</u></b> : Les 15 groupements ajoutés pendant la mono-substitution et la bi-substitution.....	37
<b><u>Figure N°39</u></b> : Principes du test d'Ames.....	40
<b><u>Figure N°40</u></b> : Résultat en pourcentage du test RMSD.....	41
<b><u>Figure N°41</u></b> : Superposition de la pose de référence (vert) du <b>628</b> et celle calculée par AutoDock (Bleu) du complexe <b>1YKR</b> .....	42
<b><u>Figure N°42</u></b> : Superposition de la pose de référence (vert) du <b>TMJ</b> et celle calculée par AutoDock (Bleu) du complexe <b>2ONZ</b> .....	43
<b><u>Figure N°43</u></b> : Superposition de la pose de référence (vert) du <b>GW7</b> et celle calculée par AutoDock (Bleu) du complexe <b>2R4B</b> .....	43
<b><u>Figure N°44</u></b> : Superposition de la pose de référence (vert) du <b>6EZ</b> et celle calculée par AutoDock (Bleu) du complexe <b>5IX0</b> .....	44
<b><u>Figure N°45</u></b> : Superposition de la pose de référence (vert) du <b>93V</b> et celle calculée par AutoDock (Bleu) du complexe <b>5PZQ</b> .....	44
<b><u>Figure N°46</u></b> : Superposition de la pose de référence (vert) du <b>JED</b> et celle calculée par AutoDock (Bleu) du complexe <b>6MDA</b> .....	45
<b><u>Figure N°47</u></b> : La courbe de corrélation linéaire entre les Log IC <sub>50</sub> des inhibiteurs et leurs scores .....	46
<b><u>Figure N°48</u></b> : le positionnement de l'inhibiteur <b>X35</b> dans le site actif de l'HDAC .....	47
<b><u>Figure N°49</u></b> : Diagramme 2D des interactions du complexe : composé <b>X35</b> /HDAC.....	48
<b><u>Figure N°50</u></b> : Le positionnement du similaire <b>S86</b> dans le site actif de l'HDAC.....	49
<b><u>Figure N°51</u></b> : Diagramme 2D des interactions du complexe composé <b>S86</b> /HDAC.....	50

<b><u>Figure N°52</u></b> : Représentation des Radicaux R1, R2 et R3 de la structure de base du composé similaire <b>S86</b> .....	51
<b><u>Figure N°53</u></b> : le positionnement du composé <b>M27</b> dans le site actif de l'HDAC.....	52
<b><u>Figure N°54</u></b> : Diagramme 2D des interactions composé <b>M27</b> /HDAC.....	53
<b><u>Figure N°55</u></b> : Représentation des Radicaux R1, R2 du composé <b>M27</b> issus de la mono-substitution.....	54
<b><u>Figure N°56</u></b> : Le positionnement du composé <b>B21</b> dans le site actif de l'HDAC.....	55
<b><u>Figure N°57</u></b> : Diagramme 2D des interactions composé <b>B21</b> /HDAC.....	56

## Liste des tableaux

<b><u>Tableau N°1</u></b> : Les HDAC et leurs différentes classes.....	06
<b><u>Tableau N°2</u></b> : Les inhibiteurs d'HDAC approuvés par la FDA des États-Unis et en chine pour le traitement des différents cancers.....	17
<b><u>Tableau N°3</u></b> : Les principaux programmes de docking moléculaire, le nom de leur éditeur et le site Internet.....	23
<b><u>Tableau N°4</u></b> : Code PDB des complexes " l'HDAC /inhibiteur " avec leur résolution.....	30
<b><u>Tableau N°5</u></b> : Les valeurs RMSD des complexes protéine/ligand choisis.....	42
<b><u>Tableau N°6</u></b> : Les structures et le score des composés issus de la mono-substitution de <b>S86</b> .....	51
<b><u>Tableau N°7</u></b> : Les structures et le score des composés issus de la bi-substitution de <b>M27</b> .....	54
<b><u>Tableau N°8</u></b> : Les propriétés physicochimiques du composé <b>B21</b> et du chidamide.....	57
<b><u>Tableau N°9</u></b> : Les propriétés pharmaceutiques du composé <b>B21</b> et du chidamide.....	58
<b><u>Tableau N°10</u></b> : Toxicité potentielle du composé <b>B21</b> et du chidamide.....	59



## Liste des abréviations

**2D** : Deux dimensions.

**3D** : Trois dimensions.

**Å** : Angström.

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

**ADMET** : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité.

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**AGL** : Algorithme Génétique de Lamarckien.

**BBB** : Blood Brain Barrier.

**CTCL** : Lymphome cutané à cellules T.

**CYP P450** : Cytochrome P450.

**dlg** : Docking Log file.

**dpf** : docking parameter file.

**DS** : Discovery studio.

**FDA** : Food and Drug Administration

**GA** : Algorithme Génétique

**GI** : Gastro intestinal.

**glg** : Grid LoG file

**gpf** : grid parameter file

**HAT** : Histone acétyl transférase.

**HATs** : Les Histones acétyl transférases.

**HDAC** : Histone désacétylase.

**HDACi** : Les inhibiteurs des histones désacétylases.

**HDACs** : Les histones déacétylases.

**HdaI** : Histone Deacetylase-A1.

**HDLP** : HDAC Like Protein

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

**HIV** : Virus de l'immunodéficience humaine.

**Hsp90** : Heat shock protein 90

**IC50** : La concentration inhibitrice 50.

**LogP** : Le coefficient de partage octanol-eau

**MC** : L'algorithme de Monte Carlo

**NAD+** : Nicotinamide adénine dinucléotide.

**NCBI** : National Center for Biotechnology Information.

**NF- $\kappa$ B** : Nuclear factor-kappa B.

**nLF** : Nombre de liaisons flexibles.

**nM** : Nano molaire ;

**nOHNH** : Nombre de donneurs d'hydrogène.

**nON** : Nombre d'accepteur d'hydrogène.

**p53** : Tumor protein 53

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

**PM** : Poids moléculaire.

**PTCL** : Lymphome T périphérique

**r** : Coefficient de corrélation linéaire.

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire.

**RMSD** : Root Mean Square Deviation.

**Rpd3** : Reduced Potassium Dependency 3.

**SA** : accessibilité synthétique

**SAHA** : suberoyl+anilide+hydroxamic acid (Le Vorinostat).

**Sir2** : Silent Information Regulator 2.

**SIRT** : Sirtuines.

**TPSA** : Surface totale polaire.

**TSA** : Trichostatin A.

**VMD** : Visual Molecular Dynamics.

**Zn** : zinc.

**$\mu\text{M}$**  : Micro molaire.



# **Introduction**

## **générale**



# Introduction générale

---

La conception d'un nouveau médicament est un processus excessivement laborieux et dispendieux mais, qui a un rôle très important dans les sciences médicales actuelles pour la prévention et le traitement des maladies ainsi que la protection de la santé publique.

Les différentes approches pour la conception d'un médicament peuvent différer au niveau de la méthodologie utilisée pour parvenir à la conception d'un produit acceptable et commercialisable. Aujourd'hui, avec le développement de l'outil informatique, l'identification et la mise au point d'une molécule possédant l'activité biologique recherchée, se base, de plus en plus, sur des approches informatisées et plus précisément sur le docking moléculaire. Il s'agit d'une nouvelle approche permettant la prédiction de l'affinité d'un ligand à l'égard d'une cible thérapeutique d'intérêt. Les résultats les plus prometteurs seront vérifiés *in vitro* puis *in vivo*, dans des cellules voire des organismes modèles [1][2].

Dans le présent travail, nous nous sommes focalisés sur la recherche, par docking moléculaire, de nouveaux inhibiteurs de l'Histone désacétylase (HDAC) ; cible thérapeutique pour le traitement des différentes maladies liées à des dérégulations transcriptionnelles. [3]

Dans un premier temps, la performance du programme de docking moléculaire AutoDock a été évaluée via trois tests. Le premier test consiste à calculer l'écart quadratique moyen entre la position du ligand conçue par le logiciel et celle déterminée expérimentalement. Les résultats issus de ce test seront par la suite analysés visuellement afin de confirmer davantage leurs crédibilités. Le dernier test, quant à lui, consiste à calculer le degré de corrélation existant entre les scores ( $\Delta G$ ) des différents inhibiteurs de l'HDAC calculé par le logiciel et leur  $IC_{50}$  déterminée expérimentalement.

La molécule démontrant le meilleur pouvoir inhibiteur nous permettra dans un premier temps d'étudier les différentes interactions formées avec notre cible d'intérêt, et dans un deuxième temps d'identifier et développer d'autres inhibiteurs présentant des scores bien meilleurs.

Enfin, plusieurs critères physicochimiques, pharmacocinétiques et de toxicité potentielle du meilleur inhibiteur obtenu dans ce travail ont été simulés à l'aide des serveurs SwissADME et PreADMET.

Globalement, ce mémoire est divisé en deux grandes parties distinctes : une partie bibliographique, qui comprend deux chapitres dont le premier est consacré au traitement de notre cible d'intérêt et ses différents inhibiteurs, alors que le second aborde le docking

## Introduction générale

---

moléculaire et ses différents aspects. La deuxième partie, la partie pratique, contient également deux chapitres. Le premier regroupe le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude, et le deuxième décrit et traite les résultats obtenus. Au final, on achèvera ce mémoire avec une conclusion générale qui résume le travail effectué, les résultats obtenus ainsi que des perspectives.



# Partie bibliographique





# Chapitre 1





## 1. Introduction

L'étude des causes biologiques de plusieurs maladies s'est longtemps concentrée sur l'identification des altérations génétiques qui peuvent en être la source. Mais au cours de ces dernières années, il est devenu évident que l'initiation et la progression de ces maladies peuvent également dépendre d'autres facteurs qui ne s'accompagnent pas de changements des séquences nucléotidiques et qui sont qualifiées d'épigénétiques [4]. L'information épigénétique correspond aux modifications biochimiques qui vont cibler soit la molécule d'ADN, soit les protéines histones associées à cette dernière. [5].

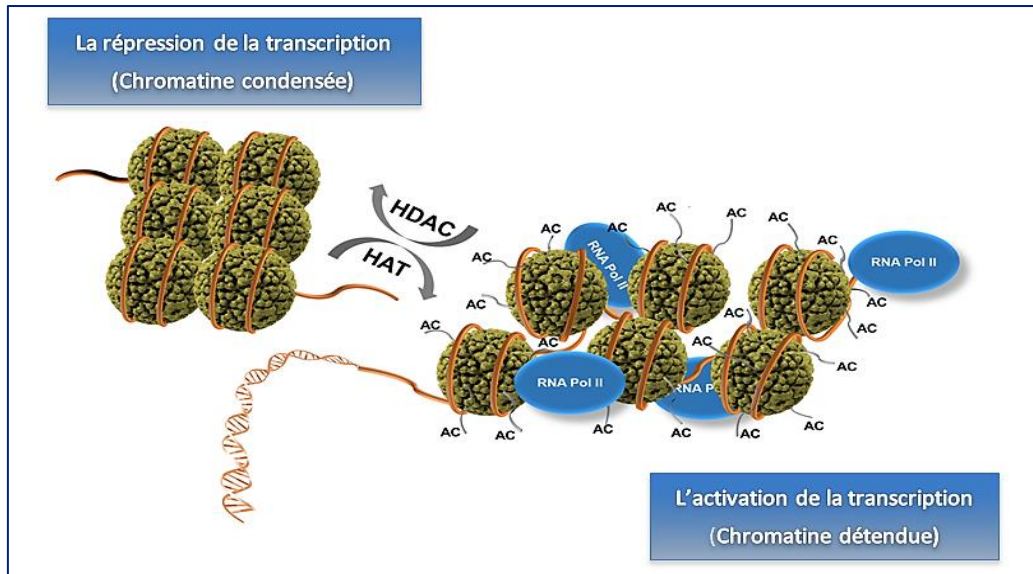
Parmi les modifications épigénétiques qui touchent les histones on a : la phosphorylation, la méthylation, l'ubiquitination et l'acétylation. Cette dernière, annulant les charges positives de la protéine, est en partie sous le contrôle de la désacétylase. [6] Ensemble, ils sont responsables de la régulation de diverses fonctions cellulaires, y compris l'expression des gènes suppresseurs de tumeurs, la réparation de l'ADN, la prolifération cellulaire et l'apoptose. [7]

Il a été démontré que la rupture de l'équilibre entre les niveaux d'acétylation et de désacétylation joue un rôle crucial dans l'acquisition d'une variété de tumeurs malignes, des maladies inflammatoires, cardiaques, pulmonaires, des troubles neurodégénératifs et des infections virales. Ainsi, moduler le taux d'acétylation des histones via des inhibiteurs de l'histone désacétylase (HDAC) pourrait permettre une reprogrammation génétique antiproliférative et pro-apoptotique des cellules anormales. [8,4]

## 2. Modifications post-traductionnelles : Acétylation/Désacétylation

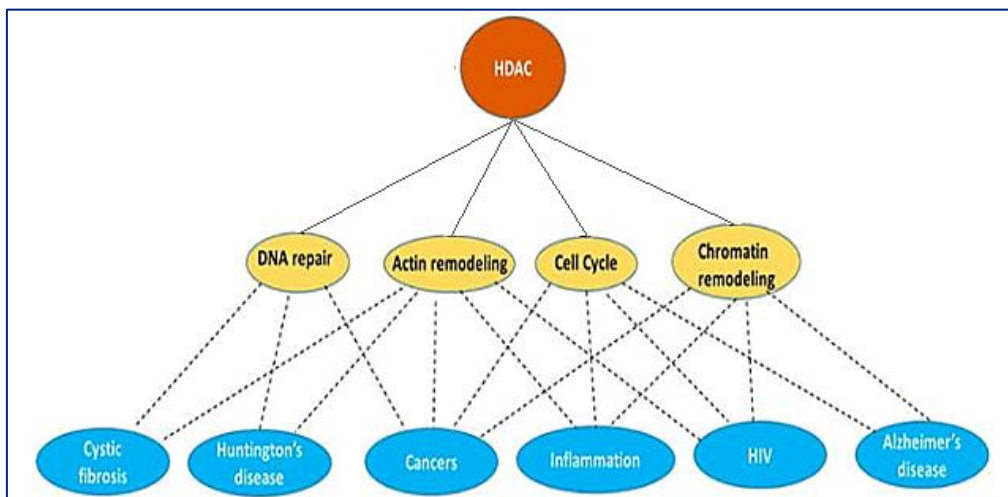
La transcription dans les cellules eucaryotes est influencée par la manière dont laquelle l'ADN est conditionnée [9] qui, à son tour est influencée par les modifications post-traductionnelles touchant les histones telles que : La désacétylation, modulée par l'histone désacétylase (HDAC). Elle modifie la forme de la chromatine d'une structure euchromatine active à gène ouvert à une structure hétérochromatine réduite au gène fermé ce qui empêche l'accessibilité des facteurs de transcription à l'ADN et l'expression des gènes. [10] En pratique, l'acétylation favorise la transcription des gènes alors qu'à l'inverse la désacétylation supprime cette même transcription. [11]

# Chapitre 1 : Histone désacétylase



**Figure 1 :** Divers aspects du processus de la transcription et sa régulation par la modification des histones

En plus du remodelage de la chromatine, les Histone désacétylases régulent d'autres processus cellulaire essentiels tels que : le remodelage de l'actine et des protéines qui servent de points de contrôle pendant le cycle cellulaire et la réparation de l'ADN [12]. Ceci qui explique pourquoi leurs activités et leurs expressions aberrantes sont impliquées dans une large pléthore de maladies.



**Figure 2:** Le rôle de la désacétylation dans la régulation et le bon fonctionnement cellulaire et leurs implications dans différentes maladies.

## 3. Les Histone désacétylases

Les histones déacétylases ou les HDACs (EC 3.5.1.98) sont des enzymes qui catalysent l'élimination des groupes fonctionnels acétyle des protéines histone et non histone. Ils font partie de la superfamille des métallo-enzymes et la famille des hydrolases, et sont classées en fonction de leur homologie avec les HDACs de la levure *Saccharomyces cerevisiae*. [3,13] La découverte de l'activité enzymatique d'HDAC a été signalée pour la première fois à la fin des années 60 du dernier siècle dans l'extrait de thymus de veau. Malgré une prédiction précoce de l'importance biologique potentielle de cette enzyme, la recherche sur la désacétylation des histones a été dormante pendant longtemps. Il a fallu encore 30 ans avant que la première histone désacétylase HDAC1 ne soit purifiée et clonée en 1996, provoquant une explosion du champ HDAC. [14,15]

### 3.1. Les classes de l'HDAC

A ce jour, il existe 18 isoformes des histones désacétylases réparties en quatre classes (I, II, III et IV) selon leur homologie de séquence avec les protéines de levure, leurs critères phylogénétiques et leurs dépendances au cofacteur. Seules les HDACs de la classe III, ou sirtuines, sont dépendantes du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD<sup>+</sup>), alors que ceux des autres classes sont dépendantes du zinc (Zn). [16]

Les quatre classes se différencient également par leurs localisations cellulaires et leurs activités enzymatiques. La classe I comprend HDAC1, 2, 3 et 8, qui sont homologues à la levure Rpd3 (*Reduced Potassium Dependency 3*). Elles sont exprimées de manière omniprésente et leur localisation sous-cellulaire est le noyau. La classe II comprend HDAC 4, 5, 6, 7, 9 et 10, qui sont homologues à la levure HdaI (*Histone Deacetylase-1*). Cette classe est principalement exprimée au niveau des tissus musculaires, des os, des neurones, de l'endothélium et des thymocytes. Sur la base des caractéristiques structurelles et fonctionnelles, la classe II a été divisée en deux sous-classes : les HDAC IIa (HDAC4, 5, 7, 9), qui comprennent les désacétylases enzymatiquement inactives, et les HDAC IIb (HDAC6 et 10), qui sont plutôt enzymatiquement actifs sur certains substrats tels que la tubuline et l'Hsp90. Les HDAC de classe III ou les Sirtuines (SIRT1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) sont homologues à la levure Sir2 (*Silent Information Regulator 2*). Ils sont pan-localisés dans les cellules, dans les compartiments : nucléaire, nucléolaire, cytoplasmique et mitochondrial. L'HDAC11, qui a

# Chapitre 1 : Histone désacétylase

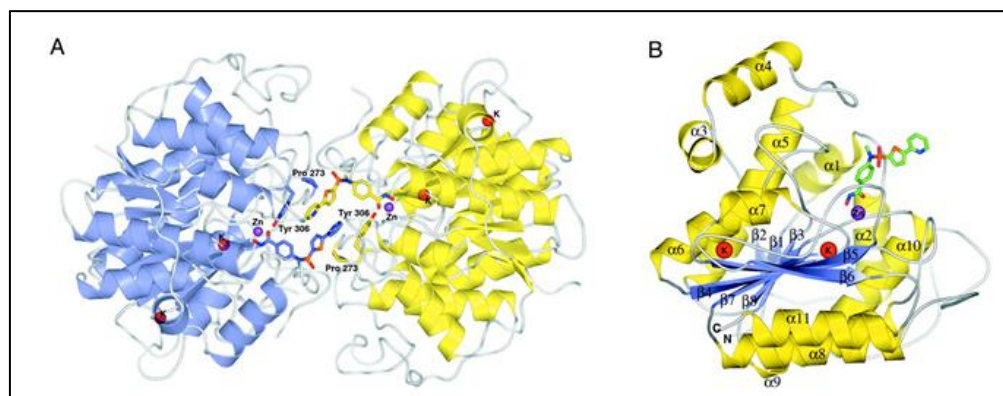
des caractéristiques intermédiaires entre les classes I et II, est considéré séparément comme une désacétylase de classe IV. [17,18]

**Tableau 1 :** Les HDAC et leurs différentes classes

Classe	HDAC	Homologue	Cofacteur	Localisation sous-cellulaire
1	1, 2, 3, 8	Rpd3	Zn <sup>2+</sup>	Noyau
2	4, 5, 6, 7, 9, 10	HdaI	Zn <sup>2+</sup>	Noyau et cytosol
3	Sirtuines : SIRT 1-7	Sir2	NAD <sup>+</sup>	Noyau, nucléole, cytosol, mitochondrie
4	11	HDAC de classe I et II	Zn <sup>2+</sup>	Noyau

## 3.2. Structure de l'HDAC

Les HDAC sont de longueurs hétérogènes, variant de 347 acides aminés pour le plus court (HDAC11) à 1215 acides aminés pour le plus long (HDAC6). [19] Leur structure globale se compose de deux molécules emballées sous forme de dimère tête-à-tête. Le monomère d'HDAC, semblable à celui de l'HDLP (HDAC-likeprotein) de la bactérie hyperthermophile *Aquifexaeolicus*, forme un domaine  $\alpha / \beta$  [20] composé de huit feuilles  $\beta$  parallèle flanquée de plusieurs hélices  $\alpha$  des deux côtés. Les éléments de structure secondaire sont partiellement conservés dans toute la famille des HDACs. [21]

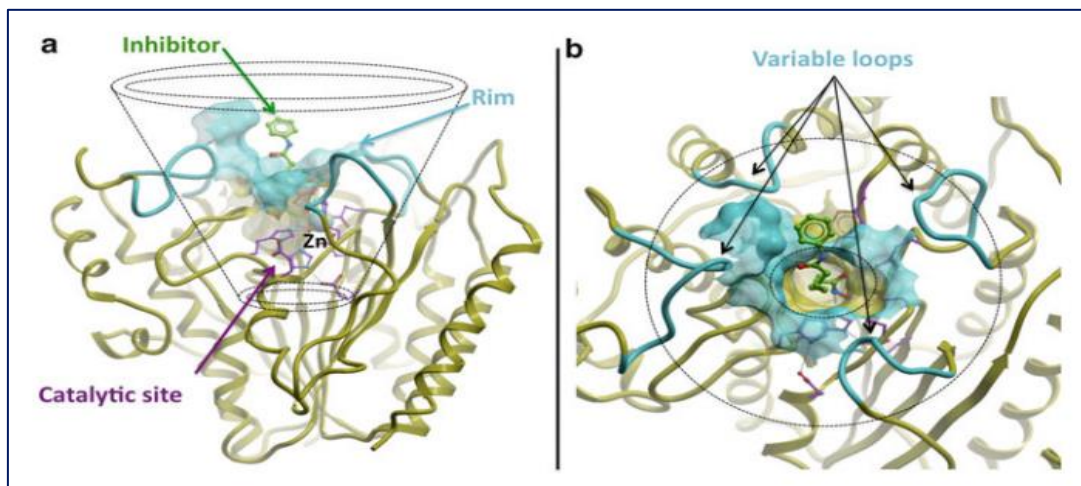


**Figure 3:** La structure globale de l'HDAC 8 humain. (A) Les deux monomères, A et B, sont représentés respectivement en indigo et en jaune. (B) le monomère d'HDAC avec des hélices  $\alpha$  et des feuilletts  $\beta$  marqués et colorés en jaune et indigo, respectivement.

# Chapitre 1 : Histone désacétylase

---

L'architecture générale de l'HDAC est composée d'un ensemble de caractéristiques canoniques à savoir : Un canal de liaison à la lysine en forme d'entonnoir situé au centre d'un pli global  $\alpha/\beta$ , une combinaison de résidus catalytiques conservés organisés autour de l'ion Zn au bas du canal, et enfin, un ensemble de boucles de longueur et flexibilité variables au bord du canal formant des interfaces d'interaction protéique. Ces caractéristiques jouent différents rôles dans la reconnaissance du substrat, le mécanisme catalytique et la spécificité des inhibiteurs [22]



**Figure 4:** Vue de côté (a) et vue de haut (b) de la structure globale de l'HDAC en complexe avec l'inhibiteur SAHA

### 3.3. Le site actif

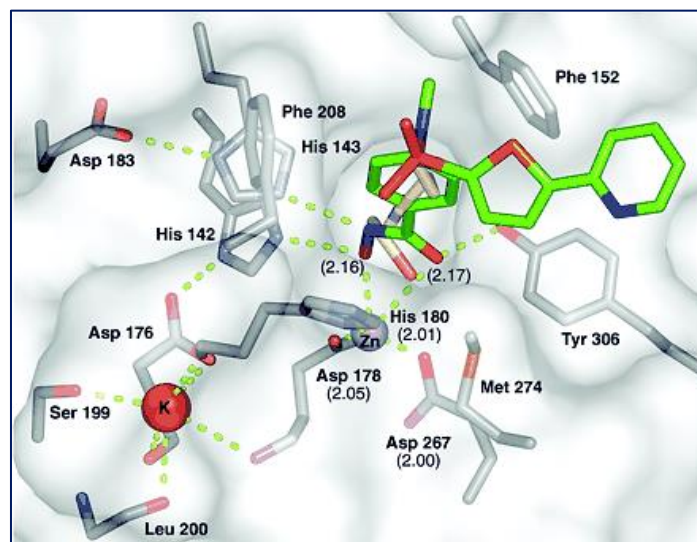
La structure des HDACs des classes I, II et IV, se caractérise par un site catalytique conservé[23] formé de 390 acides aminés comprenant une poche tubulaire légèrement incurvée avec un fond plus large et avec un site de liaison du zinc au bas de la poche. L'élimination d'un groupe acétyle se produit via un système de relais de charge composé de deux résidus histidines adjacents, deux résidus aspartiques (situés à environ 30 acides aminés des histidines et séparés par environ 6 acides aminés), et un résidu tyrosine (situé à environ 123 acides aminés en aval des résidus aspartiques). [9]

Le positionnement de l'ion zinc est coordonné par l'histidine (His-180), les deux aspartates (Asp-178, Asp-267) et deux molécules d'eau. En tant que substrat, le groupe acétamide carbonyle de la lysine acétylée remplace une molécule d'eau et interagit avec le groupement hydroxyle du résidu tyrosine via une liaison hydrogène. Le résidu de tyrosine peut subir une transition conformationnelle d'une conformation "sortante" à une conformation

## Chapitre 1 : Histone désacétylase

---

"entrante" pour s'adapter à la liaison du substrat. Ensuite, l'autre molécule d'eau est déprotonée par un nucléophile histidine à proximité via le réseau de relais de charge His-Asp, qui est un système typique pour la polarisation et l'activation d'une molécule d'eau. Il a été suggéré que la première histidine agisse comme un catalyseur électrostatique général pour activer la molécule d'eau, tandis que la seconde histidine fonctionne pour accepter un proton comme base générale. Après que l'oxygène de l'eau déprotonée ait attaqué le groupe lysine carbonyle, des oxyanions et des intermédiaires tétraédriques sont générés. Enfin, lorsque la seconde histidine sert de fragment proton-amine de l'intermédiaire, de l'acétate et de la lysine sont générés. [24,20]



**Figure 5:** Représentation de la surface moléculaire et architecture du site actif de l'HDAC.

Les résidus acides aminés du site actifs sont représentés en mode « Licorice » gris tandis que l'inhibiteur PTSB-hydroxamate est en mode « Licorice » vert.

En revanche, Les HDAC de classe III ou les sirtuines utilisent un mécanisme catalytique distinct qui est dépendant du  $\text{NAD}^+$  [25]. Leur domaine catalytique est très conservé. Il est formé d'environ 275 acides aminés. Ce site est flanqué des séquences N- et C-terminales de longueur variable. [26]

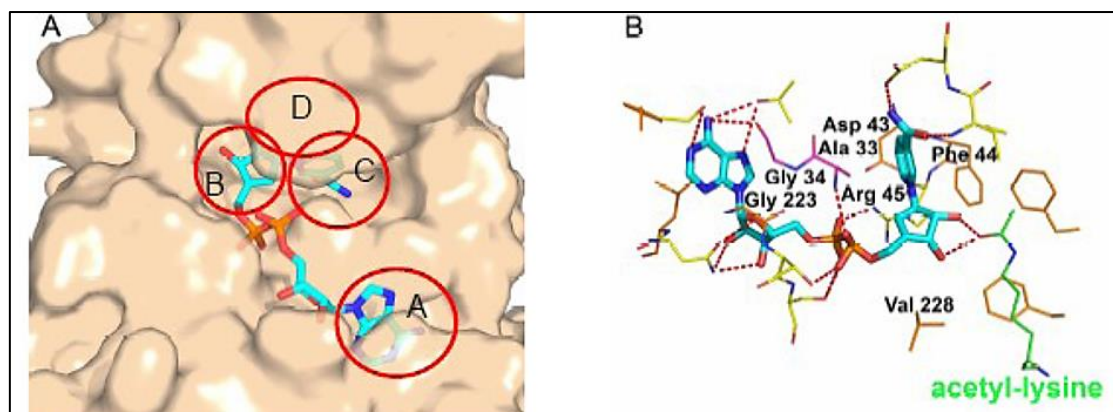
Le fond du domaine adopte un pli de forme ovale composé de deux sous-domaines globulaires liés par quatre boucles, qui contribuent à la fente du site actif où se fixent le  $\text{NAD}^+$  et les protéines lysine-acétylées. Le plus grand domaine contient un pli de *Rossmann* typique des protéines dépendantes du  $\text{NAD}^+$ . Tandis que le petit domaine a un site de fixation du zinc situé loin de la poche de liaison  $\text{NAD}^+$ , excluant la possibilité de la participation du zinc à la catalyse et mettent en évidence son rôle structural. Ce domaine est constitué de trois feuillettes

## Chapitre 1 : Histone désacétylase

$\beta$  antiparallèles et d'une hélice  $\alpha$ . Il contient deux motifs conservés Cys-X-X-Cys séparés par 15-20 résidus.[27,28]

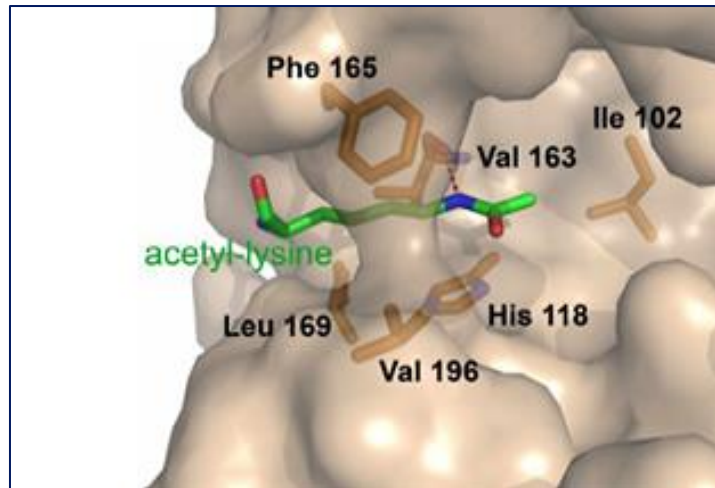
La boucle qui fixe le  $\text{NAD}^+$  est désordonnée en son absence et se structure quand elle le fixe. Le  $\text{NAD}^+$  adopte une conformation dite "étendue". Il se fixe en sens inverse du sens habituel des déshydrogénases à  $\text{NAD}^+$ : l'adénine se fixe sur la partie C-terminale du feuillet  $\beta$  dans la région "A" et le groupement nicotinamide se fixe sur la partie N-terminale dans la région "B". Le  $\text{NAD}^+$  établit des interactions directes ou médiées par des molécules d'eau avec : Ala33, Gly34, Ser36, Thr37, Ile41, Asp43, Phe40, Phe44, Tyr52, Trp58, Gln115, Asn116, Ile117, Asp118, His135, Gly223, Val228.

Les résidus Ala33, Gly34, Thr37, Phe44 et Asp43 forment une poche dite "C" où se fixe le noyau nicotinamide du  $\text{NAD}^+$ . Cette poche joue un rôle important dans le mécanisme catalytique.



**Figure 6:** liaison du  $\text{NAD}^+$  avec les résidus des sirtuines (dans le site des sirtuines)

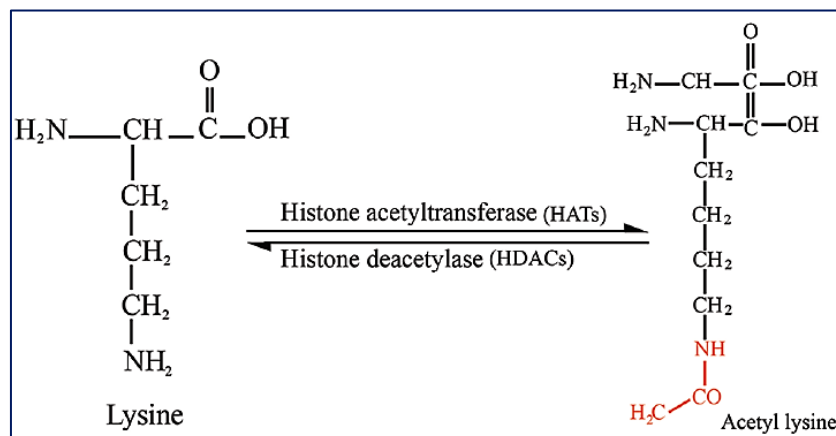
La fixation du substrat protéine lysine-acétylée induit un déplacement significatif du petit domaine par rapport au domaine *Rossmann*. Ces deux domaines adoptant alors une conformation dite en "agraphe  $\beta$ " qui forme le site de fixation de l'acétyl-Lysine. La partie aliphatique de la chaîne latérale de l'acétyl-Lysine établit de multiples contacts de *van der Waals* avec les acides aminés conservés His118, Phe165, Leu169 et Val196. Le groupement acétylé établit des interactions avec Ile102 et Val163.[28]



**Figure 7:** Liaison du résidu acétyl-lysine au site actif de la sirtuine

### 3.4. Le Rôle physiologique de l'HDAC

Les HDACs possèdent une fonction opposée à celle de HATs où ils catalysent la perte du groupement acétyle adjoint à la queue N-terminale des résidus lysine des protéines histones,[29] ce qui entraîne la reformation des interactions entre les lysines à charge positive et les groupements phosphates négativement chargés de l'ADN, entraînant ainsi une condensation de la structure de la chromatine et la répression génétique. [30]



**Figure 8:** Acétylation de l'histone à la lysine N-terminale par l'histone acétyltransférase (HAT) et la désacétylation par l'histone désacétylase (HDAC)

En plus de son effet sur la transcription, les HDACs possèdent la capacité de désacétyler les substrats protéiques non histones comme : l' $\alpha$ -tubuline, le récepteur de l'endothéline, le récepteur d'œstrogène, les protéines chaperonnes (HSP90) et les facteurs de transcription



# Chapitre 1 : Histone désacétylase

---

(p53, NF- $\kappa$ B), ce qui les rend donc impliqués dans plusieurs voies de transduction du signal.[31,32]

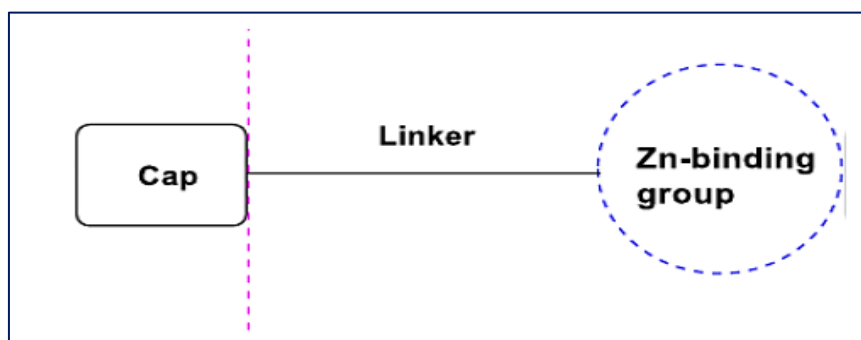
Grâce à leurs activités variables, les HDAC régulent également une variété de processus cellulaires, notamment la transcription, le cycle cellulaire, la différenciation cellulaire, le métabolisme, les réponses aux dommages à l'ADN et l'apoptose.[33,28]

## 4. Les Inhibiteurs de l'Histone désacétylase

Les activités des HDACs peuvent être supprimées par certaines molécules appelées inhibiteurs des désacétylases (HDACi). L'utilisation de tels inhibiteurs fait partie des nouveaux moyens thérapeutiques envisagés pour lutter contre de nombreuses maladies associées à une dérégulation transcriptionnelle. Ces inhibiteurs provoquent l'arrêt de la prolifération des cellules anormales, l'induction de leur différenciation et/ou leur mise en apoptose.[3]

Les HDACi appartiennent à une famille diversifiée de composés naturels et synthétiques [34] qui peuvent être classés en quatre groupes en fonction de leur structure : les acides gras à chaîne courte, les dérivés d'acide hydroxamique, les benzamides et les tétrapeptides cycliques. [4]À ce jour, plusieurs HDACi ont été déjà approuvés par la FDA (Food and Drug Administration) pour le traitement du cancer et d'autres sont en développement clinique.

Le pharmacophore général de l'HDACi se compose de trois parties distinctes: le groupe chélatant le zinc dans le site actif, le groupe cap de reconnaissance responsable de la sélectivité du sous-type HDAC et un lieu hydrophobe qui relie ces 2 groupes [31]



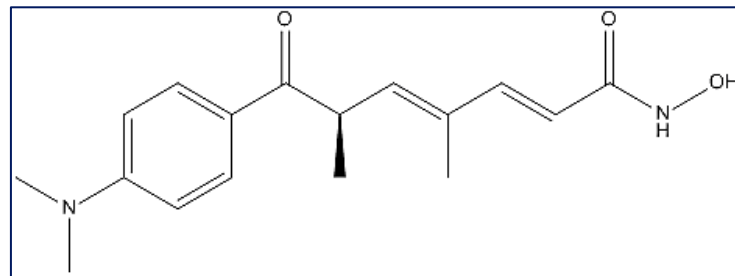
**Figure 9:** Pharmacophore général pour les inhibiteurs de l'HDAC

## 4.1. Les inhibiteurs naturels

Un grand nombre de HDACi provient de sources naturelles. Plusieurs ont été isolés de microbes, d'autres proviennent des champignons, d'organismes marins ou de plantes. [31]

### 4.1.1. Trichostatin A

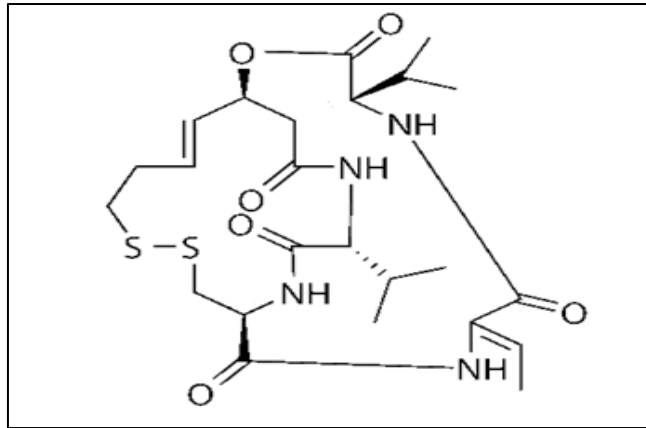
La trichostatin A (TSA) a été le premier inhibiteur d'HDAC découvert et l'un des premiers composés ayant passé les essais cliniques. Il a été isolé pour la première fois en 1976 à partir de la bactérie *Streptomyces hygroscopicus*, comme antibiotique antifongique contre la *Trichophyton*. [35] Il inhibe sélectivement les HDACs de classe I et II avec des valeurs  $IC_{50}$  d'environ 20 nM, mais pas les HDACs de classe III (les sirtuines). Cependant, il existe des rapports récents sur les interactions de cette molécule avec la protéine Sirt 6. [36]



**Figure 10:** Structure de l'inhibiteur Trichostatin A

### 4.1.2. La romidepsine

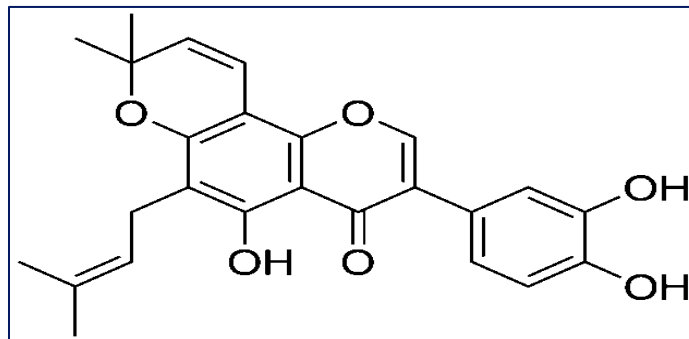
La romidepsine, également connue sous le nom d'Istodax est un produit naturel obtenu à partir de la bactérie *Chromobacterium violaceum*. C'est un agent anticancéreux utilisé dans le lymphome cutané à cellules T et d'autres lymphomes périphériques à cellules T. [37] Dans certaines lignées cellulaires cancéreuses humaines, la romidepsine inhibe les HDAC à des niveaux dix fois supérieurs à ceux du TSA [31] avec un  $IC_{50}$  de 1.5 nM. [38]



**Figure 11:** Structure de l'inhibiteur romidepsine

### 4.1.3. La Pomiférine

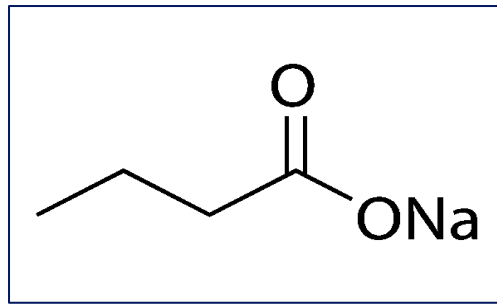
La pomiférine est un isoflavone prénylée, isolée à partir de L'Oranger des Osages (*Maclura Pomifera*). Il a des propriétés antioxydantes qui le diffère des autres inhibiteurs HDAC connus. Il inhibe la croissance des lignées cellulaires cancéreuses humaines pour le cancer du sein, du côlon, des reins, des poumons et de la prostate. Il a également démontré la capacité d'inhiber les HDAC à de faibles concentrations micromolaires ( $IC_{50} \approx 1 \mu M$ ). [31]



**Figure 12:** Structure de l'inhibiteur Pomiférine

### 4.1.4. Le butyrate de sodium

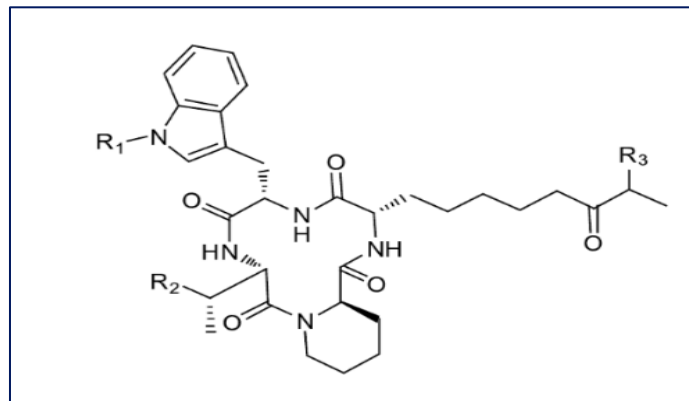
Le butyrate de sodium est un acide gras à chaîne courte produit par les bactéries endosymbiotiques lors de la fermentation des fibres alimentaires. Il inhibe l'HDAC [31] avec un  $IC_{50}$  de  $365 \mu M$ . [39]



**Figure 13:** Structure de l'inhibiteur butyrate de sodium

### 4.1.5. L'apicidine

L'apicidine a été isolée à partir du champignon *Fusarium pallido roseum* comme agent antiprotozoaire. Il inhibe l'HDAC avec un  $IC_{50}$  d'environ 1 nM.[31]

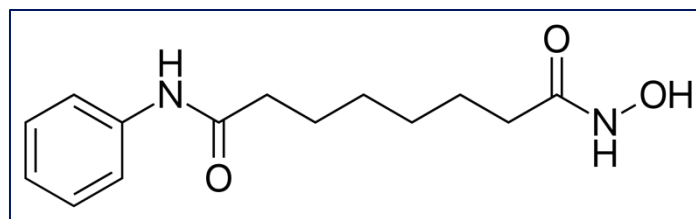


**Figure 14:** Structure de l'inhibiteur apicidine

## 4.2. Les inhibiteurs synthétiques

### 4.2.1. Le Vorinostat (SAHA)

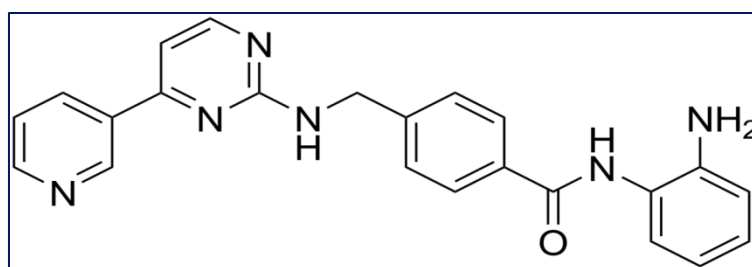
Le vorinostat (SAHA) commercialisé sous le nom de Zolinza est un inhibiteur d'histone désacétylase utilisé dans le traitement des lymphomes cutanés à cellules T. C'est le premier inhibiteur d'histone désacétylase approuvé aux États-Unis par la FDA. Il inhibe les HDAC de classe I et II pour une concentration d'environ 50 nM.[40]



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

### 4.2.2. Mocetinostat

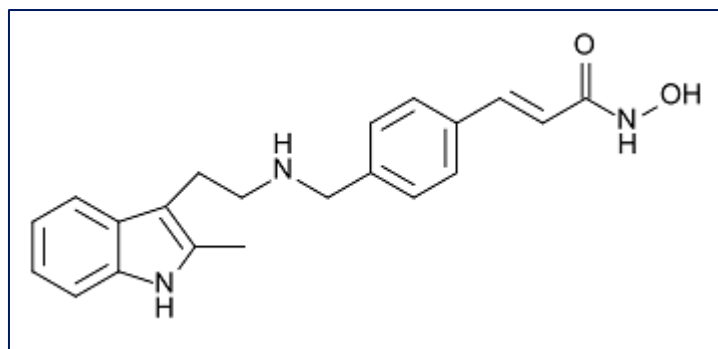
Le mocétinostat (MGCD0103) est un benzamide qui inhibe l'histone désacétylase. Il est soumis à des essais cliniques pour le traitement de divers cancers, notamment le lymphome folliculaire, le lymphome de Hodgkin et la leucémie myéloïde aiguë. Il inhibe l'histone désacétylases[41] avec un  $IC_{50}$  d'environ  $0.15 \mu\text{M}$ . [42]



**Figure 16:** Structure de l'inhibiteur Mocetinostat

### 4.2.3. Panobinostat

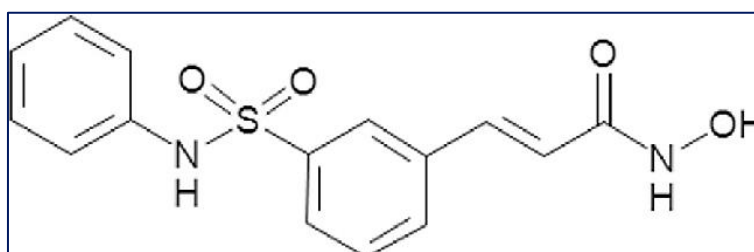
Le panobinostat est un médicament de Novartis pour le traitement de divers cancers. Il s'agit d'un acide hydroxamique agissant comme un inhibiteur non sélectif des histones désacétylases. En 2015, il a reçu l'approbation de la FDA et de l'Agence européenne des médicaments pour une utilisation chez les patients atteints de myélome multiple. [43] Il inhibe les HDACs de classe I, II et IV avec un  $IC_{50}$  d'environ  $13,2 \text{ nM}$ . [44]



**Figure 17:** Structure de l'inhibiteur Panobinostat

#### 4.2.4. Belinostat

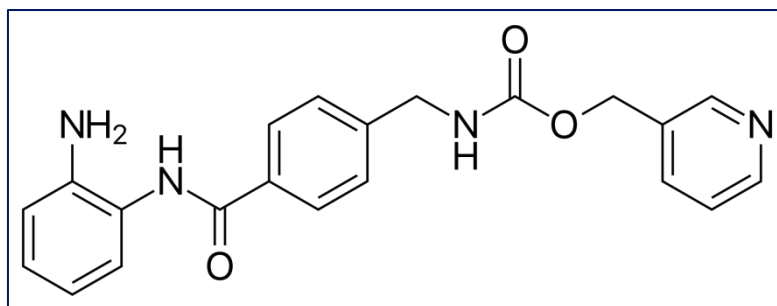
Belinostat (PXD101) est un dérivé d'acide hydroxamique [45] inhibant l'histone désacétylase avec un  $IC_{50}$  d'environ  $0,02\mu M$ . [46] Il a été développé par TopoTarget pour le traitement des tumeurs malignes hématologiques et des tumeurs solides. Il a été approuvé en juillet 2014 par la FDA américaine pour traiter le lymphome périphérique à cellules T. [47]



**Figure 18:** Structure de l'inhibiteur Belinostat

#### 4.2.5. Entinostat

L'Entinostat, également connu sous le nom de SNDX-275 et MS-275, est un benzamide qui inhibe les HDAC1 et HDAC3 de classe I avec un  $IC_{50}$  de  $0,51\mu M$  et  $1,7\mu M$ , respectivement. Il est en cours d'essais cliniques pour le traitement de divers cancers. [48]



**Figure 19:** Structure de l'inhibiteur Entinostat

**Tableau 2:** Les inhibiteurs d'HDAC approuvés par la FDA des États-Unis et en chine pour le traitement des différents cancers.

Composé	Approuvé	Traitement
Vorinostat (SAHA)	FDA (2006)	Lymphome cutané à cellules T (CTCL)
Belinostat (PXD 101)	FDA (2014)	Lymphome T périphérique (PTCL)
Panobinostat (LBH 589)	FDA (2015)	Lymphome cutané à cellules T (CTCL)
Romidepsin (FK288)	FDA (2009)	Lymphome cutané à cellules T (CTCL)
Chidamide (HBI-8000)	Chine (2015)	Lymphome T périphérique (PTCL)



# Chapitre2





# Chapitre 2 : Docking moléculaire

---

## 1. Introduction

L'interaction entre une protéine et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques.[49]Elle permet la régulation de certains processus, la transmission des signaux ou encore la catalyse de diverses réactions biochimiques.[50]Etudier les détails de ces interactions, à l'échelle moléculaire grâce au docking moléculaire, s'avère donc d'un très grand intérêt.[51]

Initié au début années 1980, [52]le docking moléculaire ou amarrage moléculaire *in silico*, vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées. Il consiste à trouver les modes de liaison les plus favorables d'un ligand à la cible d'intérêt, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales *in vitro*. Le docking a émergé au cours des trois dernières décennies, poussé par les besoins de la biologie moléculaire structurale et la découverte de médicaments structurels. Il a été grandement facilité par la croissance spectaculaire et la disponibilité des outils informatiques, et la facilité d'accès aux bases de données biomoléculaires.[53,2]

## 2. Les types du docking moléculaire

Il existe trois types de docking moléculaire : le premier est le Docking rigide qui est basé sur le modèle « clé-serrure ». Proposé en 1894 par Emile Fischer, ce docking considère la protéine et le ligand comme corps rigides. Cette procédure est la plus simple et la plus rapide à réaliser, car la taille de l'espace de recherche est beaucoup plus petite, mais si la conformation du ligand n'est pas correcte, la probabilité de trouver un ajustement complémentaire sera plus faible. Elle demeure toutefois encore souvent employée pour l'amarrage protéine-protéine.

Le deuxième type est le docking semi-flexible qui est souvent utilisé pour l'amarrage protéine-ligand. Le ligand étant considéré comme flexible et la protéine gardée rigide. Cependant, certaines protéines présentent naturellement des régions de grande flexibilité, subissant des réarrangements considérables en présence d'un ligand. Dans ce cas, négliger la flexibilité de la protéine peut mettre en péril la fiabilité des résultats du docking, et rend nécessaire l'utilisation d'approches capables de tenir compte de la flexibilité du système entier.

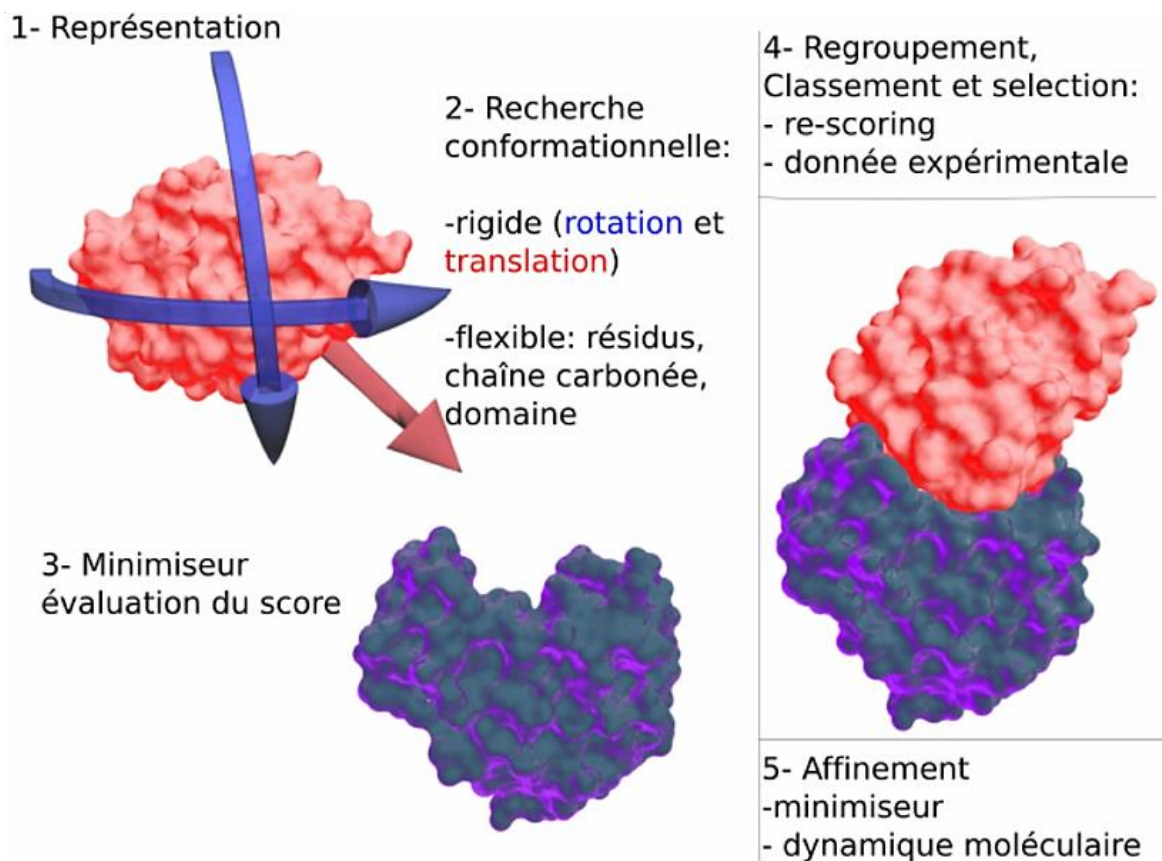
## Chapitre 2 : Docking moléculaire

En revanche, la troisième classe qui est le docking flexible traite la flexibilité des deux molécules, mais la flexibilité permise reste limitée. [54, 55, 51]

### 3. Principes théoriques du docking moléculaire

Le docking peut être réalisé en deux étapes complémentaires: la première consiste à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables. La deuxième étape est celle du classement (scoring). Elle consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine, et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposé.[54]

Idéalement, les algorithmes de docking devraient être capables de reproduire le mode de liaison expérimental et la fonction de scoring devrait également le classer le plus haut parmi toutes les conformations générées.[51]



**Figure 20:** Schéma du protocole général de docking

## Chapitre 2 : Docking moléculaire

---

Les fonctions de notation (scoring) prédisent des facteurs tels que : la force de van der Waals, l'énergie de liaison, les effets de solvation, les effets d'entropie, le nombre des liaisons hydrogènes formées entre la protéine cible et le ligand, et d'autres types d'interactions intermoléculaires (interactions hydrophobes et électrostatiques). [56,54]

Le score est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique est le suivant [57]:

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

Théoriquement, le complexe est favorable si la variation d'énergie libre globale de complexation est négative ( $\Delta G_{\text{complexation}} < 0$ ) [54]

Les fonctions de scoring peuvent être divisées en quatre classes principales: la première détient les fonctions basées sur le champ de force (force field-based) qui décident l'énergie de liaison en calculant la somme des interactions non-covalentes telles que les interactions électrostatique et les interactions de van der Waals.

La deuxième classe englobe les fonctions de scoring empiriques où les éléments tels que la liaison hydrogène, l'interaction ionique, l'effet hydrophobe et l'entropie de liaison sont pris individuellement et multipliés séparément par un coefficient pour donner un score individuel. Tous les scores sont ensuite résumés pour obtenir un score final.

La troisième classe quant à elle regroupe les fonctions basées sur les connaissances (knowledge-based). Ces fonctions utilisent une analyse statistique des interactions ligand-protéine. Elles sont basées sur la théorie selon laquelle s'il existe une interaction élevée entre une protéine particulière et un ligand, la probabilité de les combiner est très élevée.

La dernière classe est la plus récente, elle regroupe les fonctions de notation basées sur le consensus. Ces fonctions combinent les scores de tous les programmes de scoring et donnent un score final afin de minimiser les erreurs et trouver le ligand parfait pour une macromolécule cible donnée. [58,56]

### **4. Applications du docking moléculaire**

Le docking moléculaire peut démontrer la faisabilité de toute réaction biochimique telle qu'elle est effectuée avant la partie expérimentale. Dans certains domaines, le docking a

## Chapitre 2 : Docking moléculaire

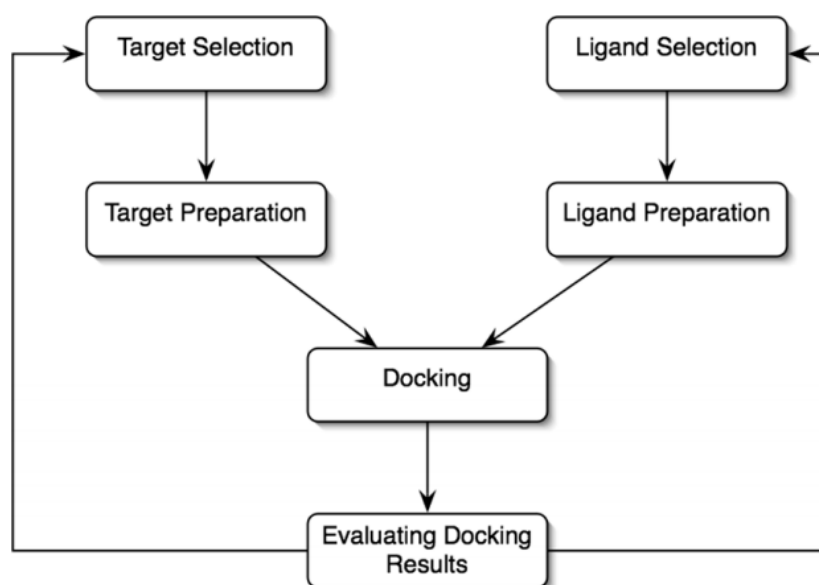
---

révolutionné les résultats. En particulier, quand il s'agit des études structure-activité où il peut prédire l'activation ou l'inhibition de la protéine cible.

En combinaison avec le scoring et grâce au criblage virtuel des différentes bases de données, le docking permet l'identification des molécules potentielles (hits) qui peuvent cibler la molécule d'intérêt, afin de découvrir des candidats médicaments. Il permet aussi l'optimisation des molécules identifiées pour développer des médicaments plus puissants, sélectifs et efficaces.[59,53] Il est aussi appliqué pour fournir des hypothèses des différentes interactions afin de faciliter les prédictions des études de mutagenèse, et aider la cristallographie aux rayons X dans l'adaptation des substrats et des inhibiteurs à la densité électronique. Le docking peut également être utilisé dans les études des mécanismes chimiques et la conception de la bibliothèque combinatoire.[53]

### 5. Les étapes du docking moléculaire

Les étapes clés communes à tous les protocoles de docking, commencent d'abord par le choix des structures 3D de la macromolécule cible et le ligand. Puis, chaque structure doit être préparée conformément aux exigences de la méthode utilisée. Après le docking, les résultats doivent être analysés.[53]



**Figure 21:** Les étapes clés du docking moléculaire

## Chapitre 2 : Docking moléculaire

---

### 6. Les outils du docking moléculaire

Comme chaque protocole expérimental, l'application pratique du docking moléculaire nécessite la disponibilité de plusieurs paramètres qui sont :

#### a. Protéine

L'application pratique du docking moléculaire nécessite avant tout la disponibilité de la structure tridimensionnelle (3D) de la cible d'intérêt (Enzyme dans notre cas), [59] qui peut être facilement acquise depuis les bases de données protéiques notamment la PDB « Protein Data Bank ».

La PDB est une collection mondiale de données sur la structure 3D de macromolécules biologiques : protéines essentiellement et acides nucléiques. Ces structures sont principalement déterminées par cristallographie aux rayons X, microscopie électronique ou par la résonance magnétique nucléaire (RMN). En plus des structures 3D, on y retrouve également des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes, la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée. [60]

Ces données expérimentales appartiennent au domaine public et peuvent être consulté gratuitement depuis les sites internet de la banque. [61] Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée. [54]

#### b. Ligand

L'acquisition des structures du (ou des) ligand(s) est une étape importante et indispensable dans le processus du docking moléculaire. Ces structures peuvent être obtenues à partir de diverses bases de données (ZINC, PubChem...etc), ou construits grâce aux programmes de modélisation moléculaire (Chemsketch, Titan...etc) où les différentes structures sont générées par optimisation de géométrie. Ces structures sont gouvernées par les lois de la chimie quantique. [62, 54]

## Chapitre 2 : Docking moléculaire

---

### c. Les programmes du docking

Les logiciels de docking moléculaire sont des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine.[49]A l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking moléculaires (Commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités sont : Surflex, GOLD, FlexX, DOCK et AutoDock. Ils permettent un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés. Ces programmes reposent le plus souvent sur des algorithmes spécifiques tel que : l'Algorithme génétique (GA), l'algorithme de Monte Carlo (MC) et l'Algorithme de construction incrémentale (IC)...etc,[63,64]

**Tableau 3:** les principaux programmes de docking moléculaire, le nom de leur éditeur et le site Internet

Principaux programmes de docking moléculaire	Nom de l'Editeur	Site Internet
AutoDock	Scripps	<a href="http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/">http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/</a>
Dock	UCSF	<a href="http://dock.compbio.ucsf.edu/">http://dock.compbio.ucsf.edu/</a>
FlexX	BioSolveIT	<a href="http://www.biosolveit.de/FlexX/">http://www.biosolveit.de/FlexX/</a>
Fred	OpenEyes	<a href="http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html">http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html</a>
Glide	Schrödinger	<a href="http://www.schrodinger.com/Products/glide.html">http://www.schrodinger.com/Products/glide.html</a>
Gold	CCDC	<a href="http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/">http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/</a>
ICM	Molsoft	<a href="http://www.molsoft.com/products.html">http://www.molsoft.com/products.html</a>
LigandFit	Accelrys	<a href="http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html">http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html</a>
Surflex	Biopharmics	<a href="http://www.biopharmics.com/products.html">http://www.biopharmics.com/products.html</a>

Dans ce travail, nous avons utilisé le programme AutoDock qui est une suite de logiciels libres et gratuits utilisés pour le docking moléculaire. [64]



# Partie Pratique





# Chapitre 3





### 5. Matériels

Le travail que nous avons réalisé fait appel à plusieurs programmes et outils informatiques :

#### 5.1. Micro-ordinateur

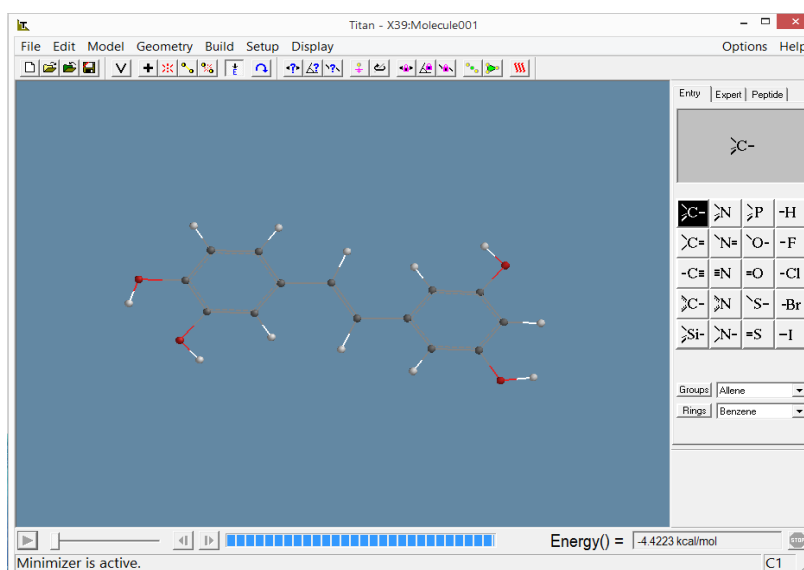
Dans cette étude, nous avons utilisé un Laptop avec un processeur Intel® 1.60GHz, 2 Go de RAM et un système d'exploitation Windows 8.1 Professionnel (64 bits).

#### 5.2. Programmes

Plusieurs programmes ont aidé à mettre en œuvre notre travail:

##### 5.2.1. Titan

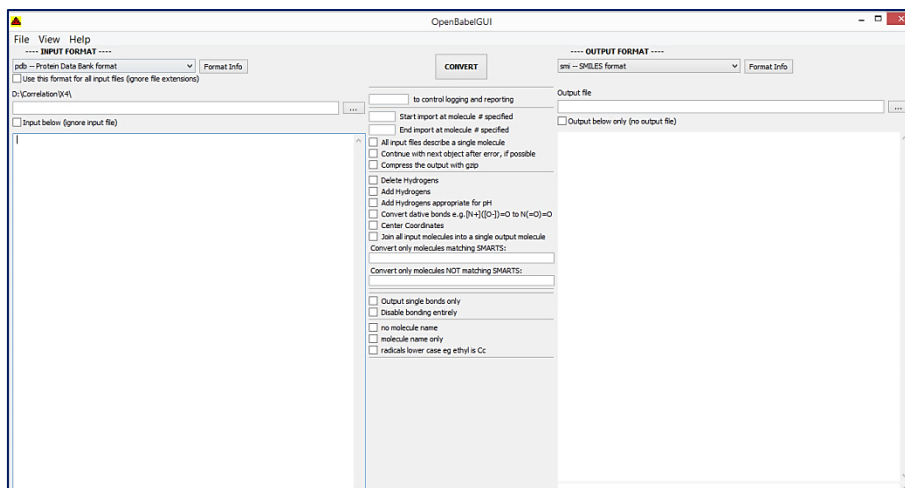
Titan (1.0.1) est un logiciel de modélisation moléculaire qui nous a permis de faire la construction des structures des différents inhibiteurs issue de la littérature.



**Figure 22:** Interface du programme Titan.

##### 5.2.2. OpenBabel

Le logiciel libre OpenBabel est principalement utilisé dans des applications de chimio-informatique. [65] La version 2.0.2 d'OpenBabel nous a été utile pour la conversion des différents fichiers d'un format à un autre.

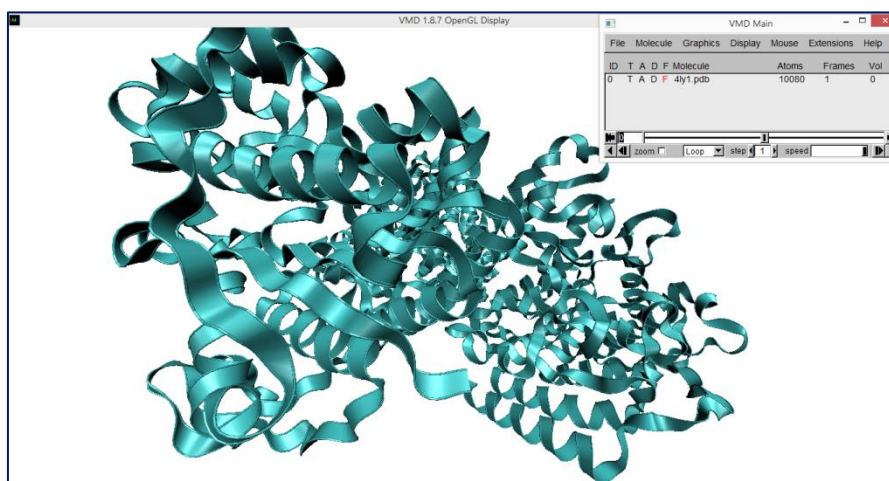


**Figure 23:** Interface du programme OpenBabel version 2.0.2

### 5.2.3. VMD

VMD (Visual Molecular Dynamics) est un programme de graphique moléculaire conçu pour l'affichage et l'analyse des assemblages moléculaires, en particulier les biopolymères tels que les protéines et les acides nucléiques. [66]

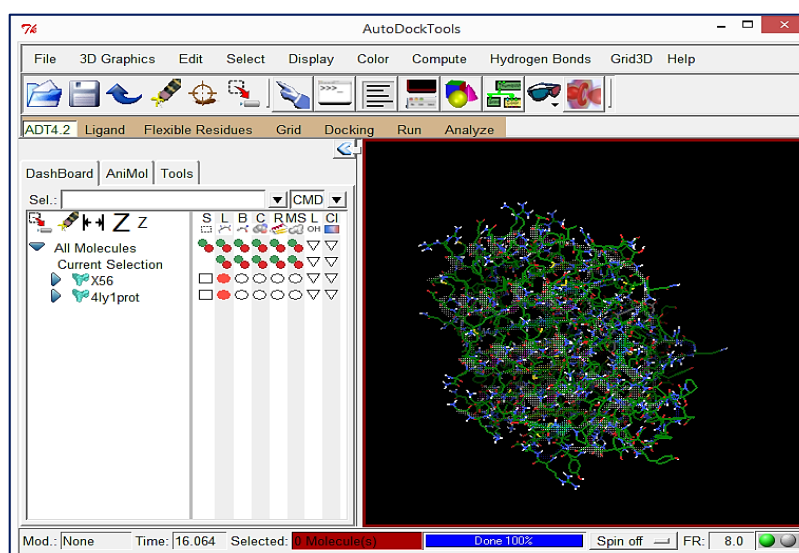
Dans notre travail, nous avons utilisé la version 1.8.7 de VMD pour la visualisation et la préparation des différents complexes protéine-ligand.



**Figure 24:** Interface du programme VMD version 1.8.7

### 5.2.4. AutoDock

Le docking des différents complexes a été réalisé grâce au programme AutoDock. Il s'agit d'une suite de logiciels libres qui se compose de deux sous programmes: AutoDock et AutoGrid. [53] Dans le présent travail, la version 4.2.6 d'AutoDock a été utilisée avec son interface graphique AutoDock Tools version 1.5.6.



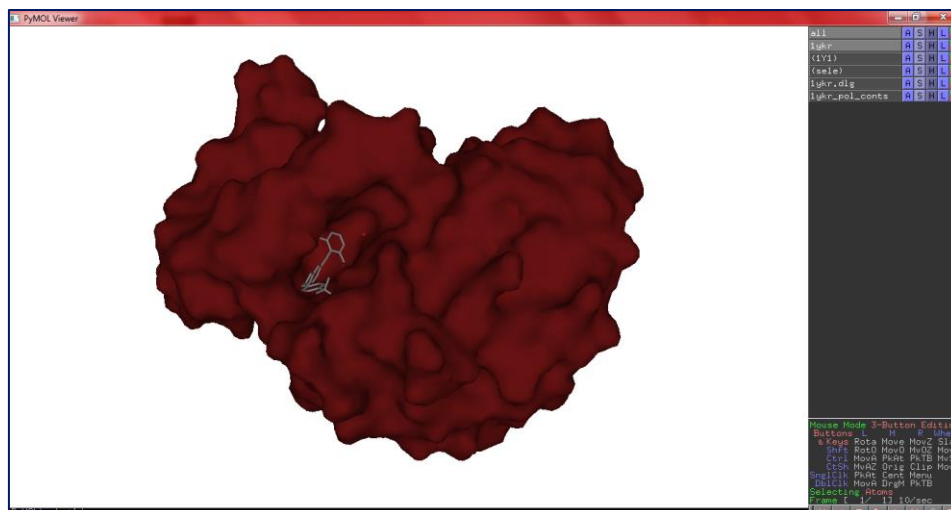
**Figure 25:** Interface graphique AutoDock Tools 1.5.6

### 5.2.5. Excel

Microsoft Excel est un logiciel tableur de la suite bureautique Microsoft Office développé et distribué par l'éditeur Microsoft. Il intègre des fonctions de calcul numérique, de représentation graphique, d'analyse de données et de programmation.[67] Nous avons utilisé Excel pour dessiner la courbe de corrélation linéaire et calculer le coefficient de corrélation « r ».

### 5.2.6. PyMOL

PyMOL est un système de visualisation moléculaire maintenu et distribué par Schrödinger.[68] La version 0.99rc6 de PyMol a été utilisée pour la visualisation des résultats obtenus.

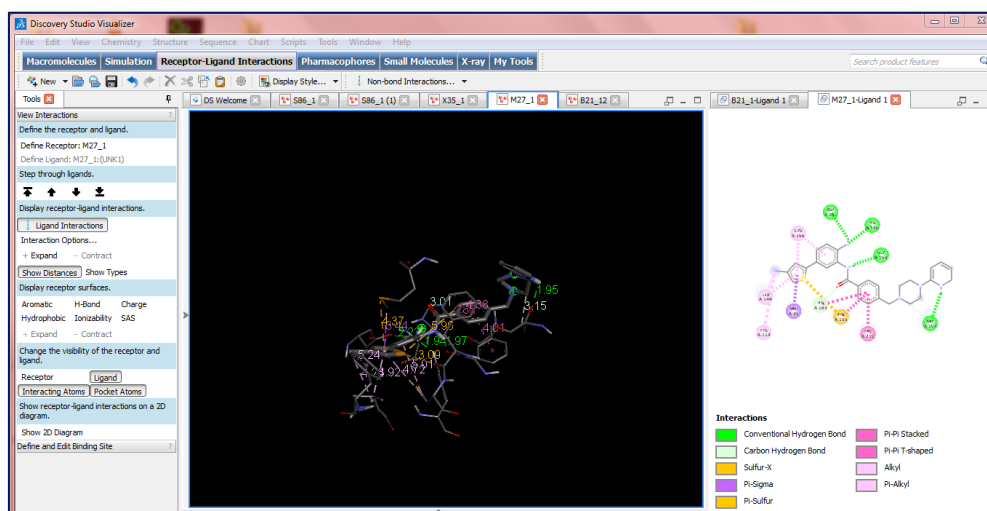


**Figure 26:** Interface du programme PyMol version 0.99rc6

### 5.2.7. Discovery studio visualizer

Biovia Discovery Studio Visualizer est une suite de produits fournissant des fonctionnalités pour visualiser, analyser et partager des données biologiques et chimiques. [69]

La version 20.1.0 de DS visualizer a été utilisée pour la visualisation des résultats obtenus et la génération des diagrammes 2D des interactions ligand-Cible.



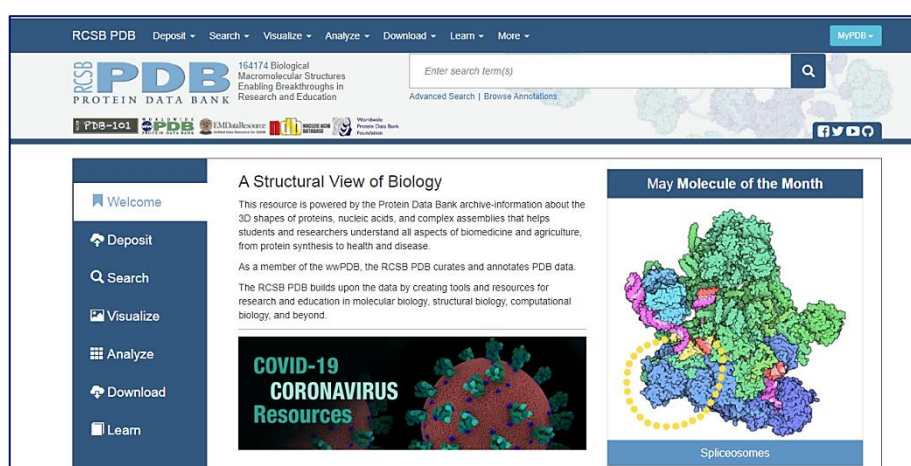
**Figure 27:** Interface du programme Biovia Discovery studio visualizer version 20.1.0

### 5.3. Banques de données

#### 5.3.1. PDB

La PDB est une collection mondiale de données des structures tridimensionnelles des macromolécules biologiques [70]. En 2020, la PDB répertorie plus de 165 000 structures macromoléculaires issues de différents organismes.

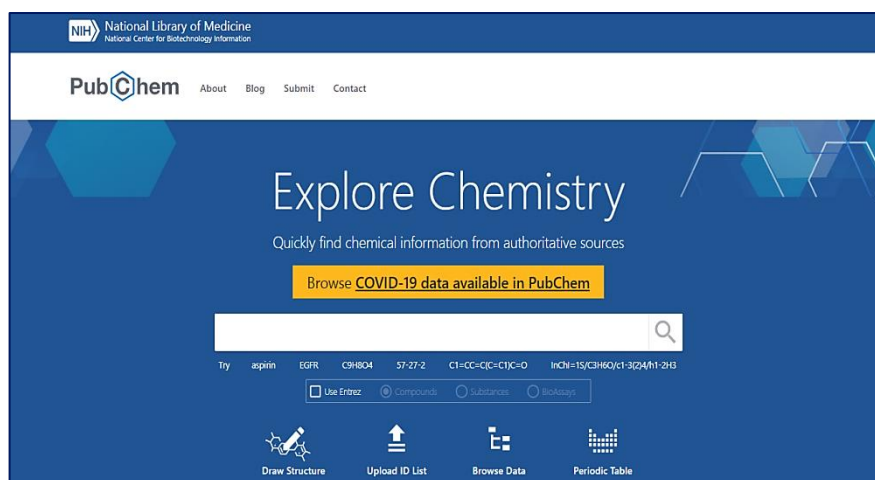
Cette banque nous a permis d'obtenir la structure 3D de notre molécule cible ainsi que les structures des différents complexes protéine-ligand utilisés pour le test de fiabilité par RMSD.



**Figure 28:** La page d'accueil de la banque PDB

#### 5.3.2. PubChem

PubChem est une banque de données américaine de molécules chimiques gérée par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Elle répertorie plusieurs millions de composés avec une grande quantité de données de divers ordres : chimique, biochimique, pharmacologique, production, toxicologie, environnemental, etc. [71] Elle a été utilisée pour le téléchargement des similaires de l'inhibiteur de la protéine cible.

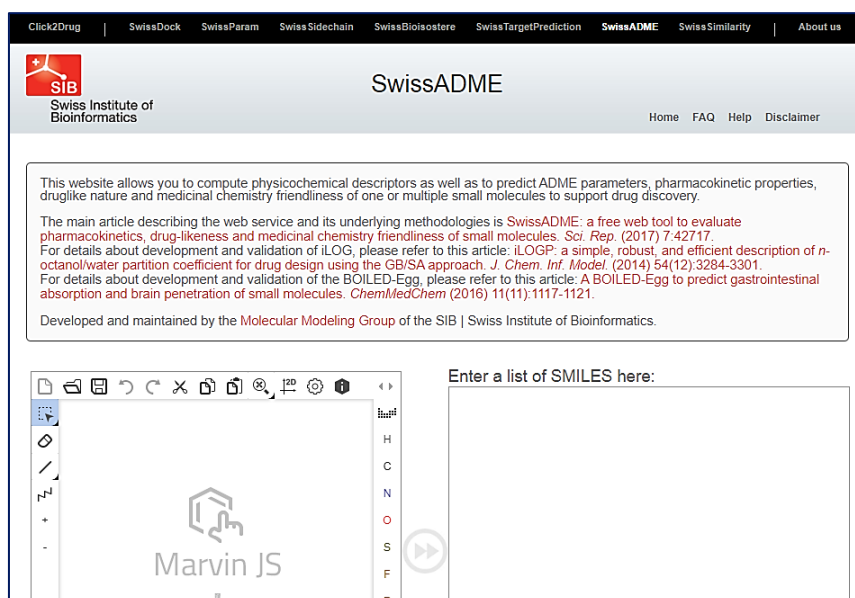


**Figure 29:** La page d'accueil de la banque PubChem

### 5.4. Outils web

#### 5.4.1. SwissADME

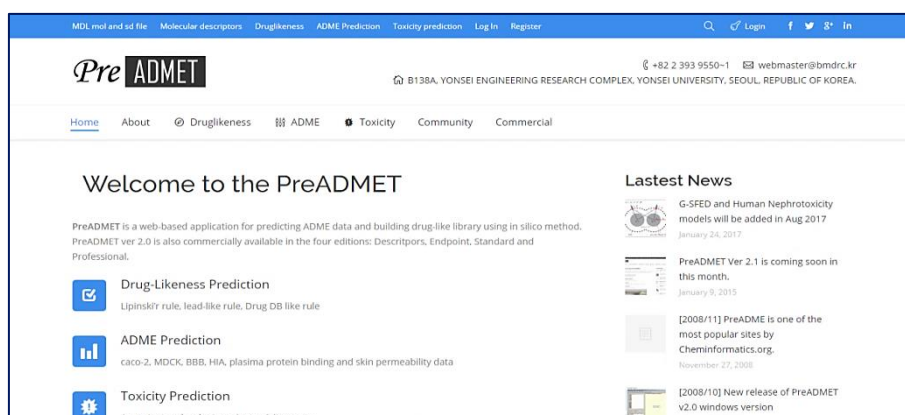
SwissADME est un outil Web qui donne accès gratuitement à un ensemble de modèles prédictifs rapides mais robustes pour les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques d'un composé.[72] Nous avons utilisé ce serveur pour la prédiction des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des inhibiteurs développés.



**Figure 30:** La page d'accueil du serveur SwissADME

### 5.4.2. PreADMET

PreADMET est une application web qui permet une prédiction rapide des propriétés physico-chimiques et des propriétés médicamenteuses. Elle fournit des informations numériques utiles concernant l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité (ADMET) d'un composé chimique.[73] Dans le présent travail, ce serveur nous a été utile pour la prédiction de la toxicité potentielle de nos inhibiteurs d'intérêt.



**Figure 31:** La page d'accueil du serveur PreADMET

## 6. Méthodes

### 6.1. Le choix de la cible

La structure 3D de notre cible l'Histone désacétylase (l'HDAC) est disponible via la banque de données PDB. Cette dernière nous a proposé 183 complexes de structures cristallographiques de l'HDAC humaine dont les 11 meilleurs sont représentés dans le tableau N°4.

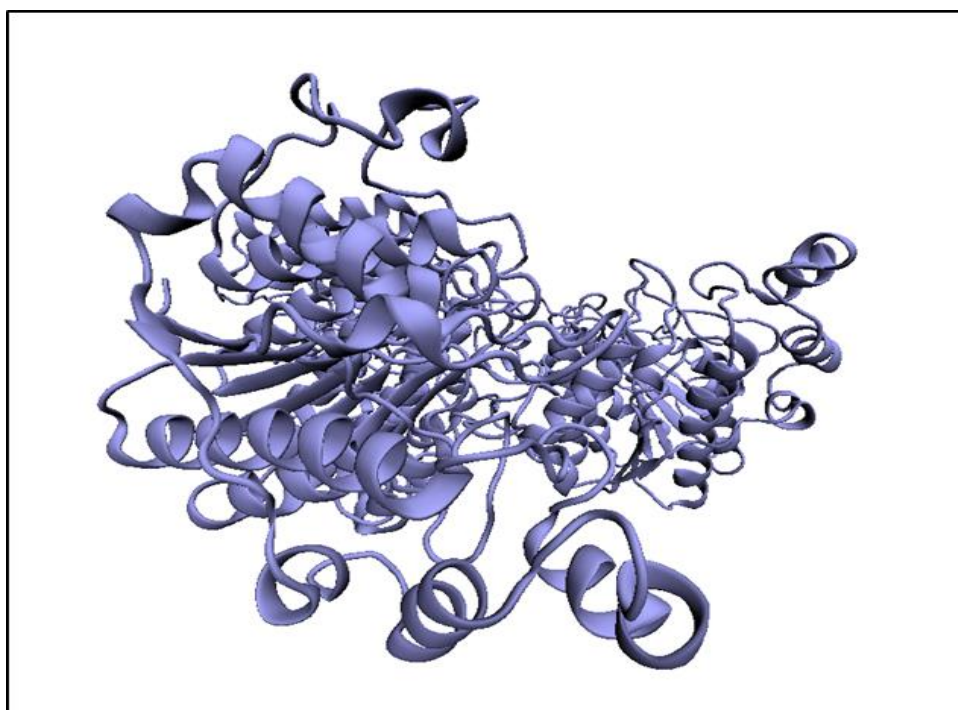
**Tableau N° 4 :** Code PDB des complexes " l'HDAC/inhibiteur " avec leur résolution.

Code PDB	Code ligand	Résolution (Å)
4ly1	20Y	1.57
5BWZ	XCH	1.59
5IWG	IWX	1.66
5IX0	6EZ	1.72
3EW8	B3N	1.8
2VQM	HA3	1.8
4LXZ	SHH	1.85
1T64	TSN	1.9
2VQQ	TFG	1.9
5DC5	B3N	1.94

5FCW	5YA	1.979
------	-----	-------

La résolution de la protéine est une des données reflétant la qualité des structures ayant permis de construire le modèle cristallographique. Une résolution proche de 1Å permet de distinguer tous les atomes y compris les hydrogènes. [74]

C'est en se basant sur ce critère qu'on a choisi de mener notre étude sur le complexe **4LY1** de l'HDAC 2 humaine, Co-cristallisé avec l'inhibiteur 2-Thiophenyl biaryl (20Y) ayant la plus petite résolution (1.57 Å) parmi toutes celles proposées par la PDB. La protéine a été ensuite téléchargée sous format *pdb* et préparée grâce au programme VMD.

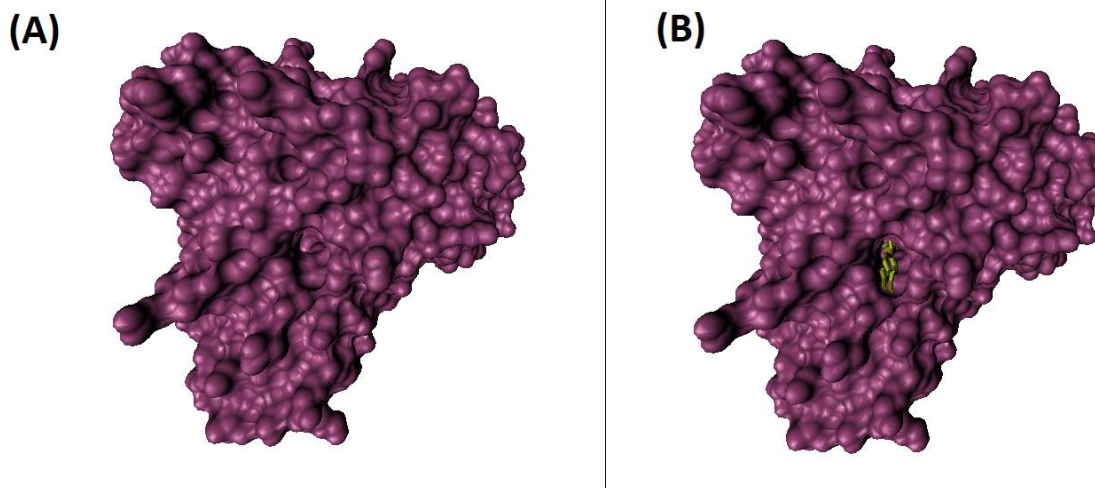


**Figure 32:** Structures 3D du complexe **4LY1** issues de la PDB.

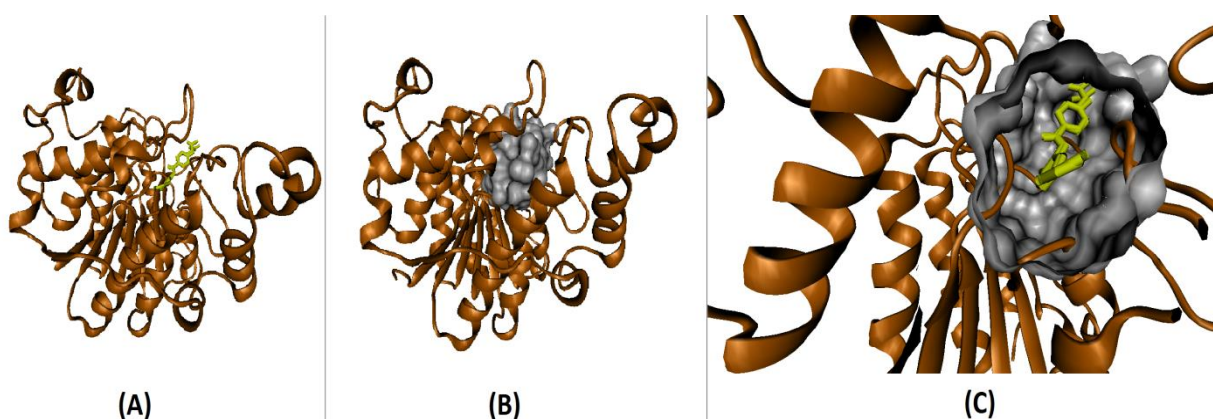
### 6.2. Préparation de la cible

Un fichier de structure PDB typique n'est pas adapté pour une utilisation immédiate. Une préparation précoce de la structure protéique à l'aide de VMD est indispensable avant de passer au docking moléculaire. La préparation de la cible consiste à éliminer les molécules d'eau, le ligand de la Co-cristallisation ainsi que les autres chaînes de l'enzyme pour ne laisser qu'une seule chaîne (chaîne A) avec un site actif libre. La cible est ensuite enregistrée dans un fichier au format *pdb*.





**Figure 33:**(A) Chaîne A de la protéine 4LY1 sans l'inhibiteur (B) Chaîne A de la protéine 4LY1 avec l'inhibiteur 20Y



**Figure 34:**(A) Chaîne A de la protéine 4LY1 avec l'inhibiteur 20Y (B) Chaîne A de la protéine 4LY1 avec le site actif (C) L'inhibiteur 20Y dans le site actif de la protéine 4LY1

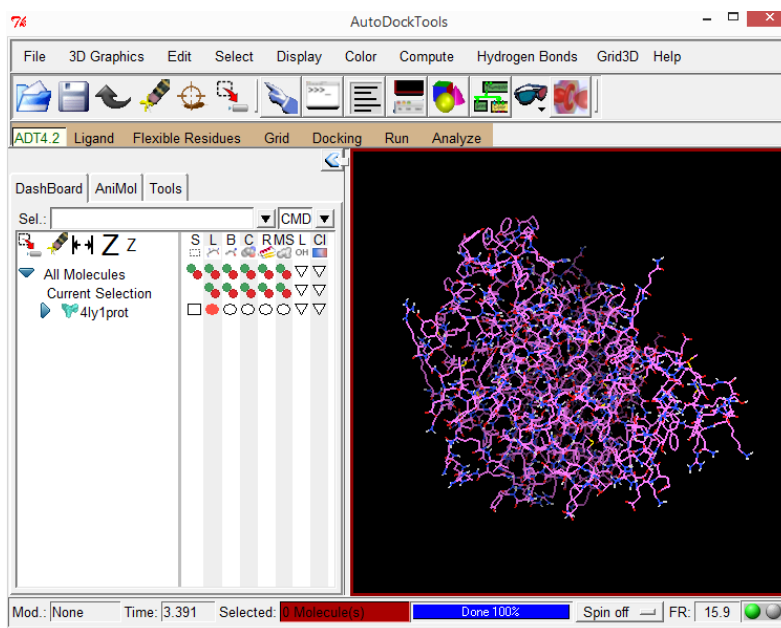
### 6.3. Construction des ligands

Les ligands utilisés dans ce travail ont été construits grâce au programme Titan. Ce dernier nous a permis de faire la construction de 42 inhibiteurs de l'HDAC issus de la littérature. Chaque inhibiteur a subi par la suite une optimisation de sa géométrie grâce à la fonction de minimisation d'énergie avant de l'enregistrer sous format *pdb*.

### 6.4. Protocole de docking par AutoDock

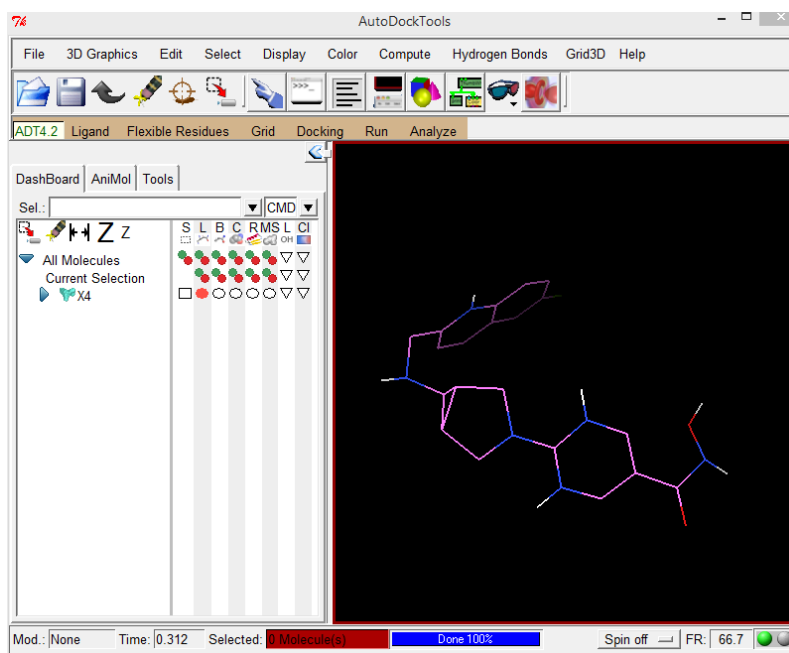
Plusieurs étapes de préparation sont nécessaires avant de pouvoir effectuer un docking moléculaire avec AutoDock. Ces étapes consistent en la préparation de la protéine et du ligand à l'aide d'AutoDockTools, la préparation du site actif et le docking proprement dit.

L'étape de la préparation de la cible commence par l'addition des hydrogènes polaires liés aux atomes électronégatifs (comme l'oxygène et le nitrogène). Puis, les charges de *Kollman* sont attribuées à tous les atomes de la protéine avant que celle-ci ne soit exportée dans un fichier sous format *pdbqt*.



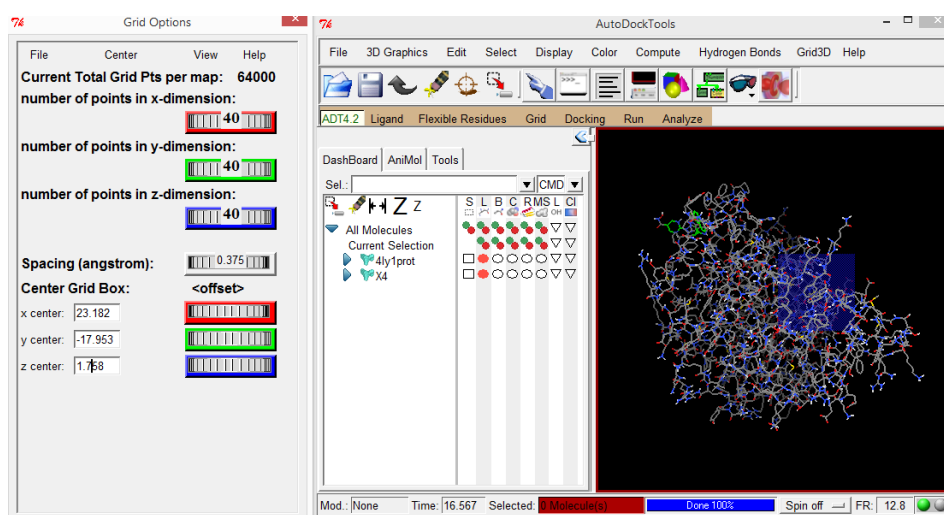
**Figure 35:** La préparation de la protéine avec l'interface graphique AutoDock Tools

La deuxième étape consiste à préparer les ligands préalablement construits avec Titan en ajoutant les hydrogènes polaires. Les ligands seront ensuite exportés à leurs tours dans des fichiers sous format *pdbqt*.



**Figure 36:** La préparation du ligand avec l'interface graphique AutoDock Tools

La troisième étape quant à elle implique la préparation du site actif de l'enzyme par la définition d'une zone de recherche appelée "la grille". Cette grille est déterminée grâce à une boîte tridimensionnelle dénommée « *Grid box* » qui doit être centrée sur le ligand de référence au sein du site actif suivant les coordonnées  $x = 23.182$ ,  $y = -17.953$ , et  $z = 1.758$  avec les dimensions  $40 \times 40 \times 40$ . Elle doit également être suffisamment grande pour inclure entièrement n'importe quel autre ligand.



**Figure 37:** Positionnement de la boîte dans le site actif de l'enzyme 4LY1

Les données extraites de cette étape seront ensuite enregistrées dans un fichier sous format *gpf* (*grid parameter file*) exécutable par le sous-programme AutoGrid4 afin de calculer des énergies d'interaction potentielles entre les différents types d'atomes de la macromolécule

## Chapitre 3 : Matériels et méthodes

---

envers le ligand en générant un fichier *output* sous format *glg* (*Grid LoG file*) indispensable pour le docking moléculaire.

La dernière étape consiste à préparer un fichier de paramétrage sous le format *dpf* (*docking parameter file*) indispensable pour le docking avec AutoDock. Ce fichier de paramétrage contient le nom des fichiers du ligand et de la cible, les coordonnées du site actif de la cible, l'algorithme à utiliser et le nombre d'exécutions à effectuer. Dans notre travail, nous avons choisi d'utiliser l'Algorithme Génétique de Lamarkian (AGL) avec ses paramètres par défaut.

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

### **6.5. Tests de fiabilité du programme de docking**

Avant d'aborder l'étude de docking moléculaire, il était indispensable de vérifier la fiabilité du programme AutoDock au moyen de 3 tests : le test par RMSD, l'analyse visuelle et le test de corrélation linéaire.

#### **6.5.1. Test de corrélation linéaire**

Le coefficient de corrélation linéaire «*r*» est un coefficient statistique permettant de mettre en évidence, une liaison entre deux types de séries de données. [75] Plus le coefficient est proche de 1, plus la relation linéaire positive entre les variables est forte et évolue dans le même sens. [76]

Dans ce travail, ce test a été utilisé pour mesurer l'intensité et le sens de la relation linéaire entre le score de 42 inhibiteurs de l'HDAC calculé par le logiciel AutoDock et leur IC<sub>50</sub> (la concentration inhibitrice 50) déterminée expérimentalement.

#### **6.5.2. Test RMSD**

Le RMSD (*Root Mean Square Deviation*) est la mesure de la distance moyenne entre les atomes des molécules superposées. Il est souvent utilisé pour valider le protocole du docking en comparant la conformation d'un complexe protéine-ligand conçu par le logiciel du docking

## Chapitre 3 : Matériels et méthodes

---

vis-à-vis de la conformation cristallographique de référence (observée expérimentalement). Si le protocole utilisé est capable de produire une pose similaire à la configuration expérimentale, cela signifie que le docking est validé.

Il est considéré que les meilleurs protocoles du docking génèrent des valeurs RMSD inférieure à 2 Å. Cette valeur est un seuil au-dessus duquel la précision du positionnement est jugée mauvaise, entraînant l'invalidation du protocole. [77, 78]

Pour cette étude, le calcul de la valeur RMSD a été effectué sur 100 complexes protéine-ligand tirés arbitrairement de la PDB.

### 6.5.3. Analyse visuelle

Une inspection visuelle des structures co-cristallisées et prédites est une étape indispensable pour la confirmation des résultats obtenus avec AutoDock, le calcul du RMSD, ainsi que la précision du positionnement.

Le docking de la pose prédite est jugé fiable si la conformation et son orientation ainsi que toutes les interactions clés sont similaires à celles de la structure originale du ligand de référence. Dans le cas contraire, le positionnement est déclaré incorrect. [78]

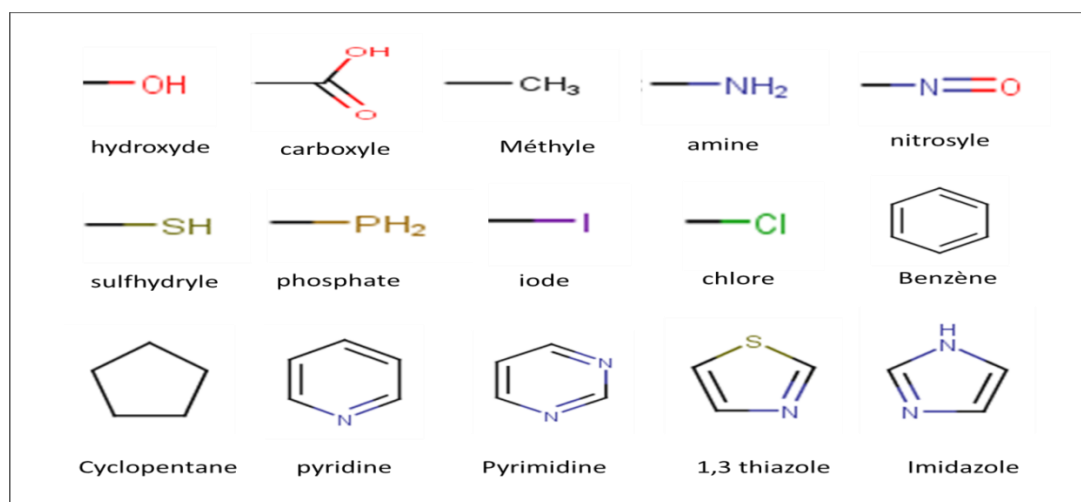
### 6.6. Le criblage virtuel des similaires

Le test de corrélation linéaire nous a permis de faire ressortir le meilleur inhibiteur de l'HDAC parmi les 42 étudiés. Ce composé a été pris comme structure de départ pour la recherche d'une collection de similaires chimiques via la banque de données *PubChem*. Ces similaires chimiques ont été par la suite téléchargés sous format *sdf* puis convertis en *pdb* avant de faire le docking.

### 6.7. Modification par substitution

La structure du meilleur composé similaire ayant présenté le meilleur score a subi par la suite des modifications structurales par mono-substitution en ajoutant un seul groupement fonctionnel au niveau d'une seule position par rapport à la structure de départ.

Le meilleur composé issu de la mono-substitution a fait l'objet d'une bi-substitution afin d'améliorer davantage son score.



**Figure 38:** Les 15 groupements ajoutés pendant la mono-substitution et la bi-substitution

### 6.8. Prédiction ADMET

Outre une affinité qui lui confère une activité biologique, un candidat médicament doit être facile à administrer et doit atteindre sa cible en concentration suffisante pour être efficace. C'est pourquoi la prédiction des propriétés ADMET joue un rôle crucial dans le processus de la conception des médicaments. [79]

ADME est une abréviation pour « Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion », elle décrit la disposition d'un composé pharmaceutique au sein d'un organisme. [80] Alors que le « T » représente la toxicité potentielle de ce composé.

Dans ce travail, nous avons calculé et simulé les propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques des composés issus de la substitution en utilisant le serveur SwissADME, alors que la toxicité potentielle a été prédite en utilisant le serveur PreADMET.

#### 6.8.1. Propriétés physico-chimiques

##### 6.8.1.1. Règle de Lipinski

Christopher A. Lipinski a défini un ensemble de critères permettant de déterminer si un composé chimique possède des propriétés physico-chimiques qui en feraient de lui un médicament oralement actif chez l'homme. Il observe que les molécules ayant le plus de chances d'être absorbées par voie orale doivent satisfaire au moins trois des caractéristiques suivantes [81] :

- 1) Le poids moléculaire doit être inférieur à 500 Dalton.
- 2) Le coefficient de partage octanol-eau (LogP) doit être inférieur à 5.
- 3) Le nombre d'accepteurs de liaison hydrogène doit être inférieur ou égal à 10
- 4) Le nombre de donneurs de liaison hydrogène doit être inférieur ou égal à 5.
- 5) Le nombre de liaisons flexibles doit être inférieur à 15.

### **6.8.1.2. Règle de Veber**

Avec un objectif similaire, Veber et al. étendent la règle de Lipinski en ajoutant deux contraintes sur la surface polaire (TPSA) qui doit être inférieure à 140 Å<sup>2</sup>, et le nombre de liaisons de rotation qui doit être inférieur ou égal à 10.[82]

### **6.8.1.3. 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 les plus importants pour atteindre la concentration souhaitée d'un médicament dans la circulation systémique pour avoir la réponse pharmacologique anticipée.[83] La possession d'une molécule soluble facilite grandement de nombreuses activités de développement de médicaments, surtout pour les projets de découverte ciblant l'administration orale. [72]

### **6.8.1.4. Accessibilité à la synthèse**

L'évaluation de l'accessibilité synthétique (SA) d'un candidat médicament est un processus permettant de déterminer la facilité de synthèse des composés chimiques. Cette tâche joue un rôle important dans la découverte et le développement des molécules thérapeutiques, quelle que soit la méthode avec laquelle elles étaient identifiées.[84] Dans notre cas, l'accessibilité synthétique des molécules a été évaluée avec un score entre 1 (facile à synthétiser) et 10 (très difficile à synthétiser).

## **6.8.2. Propriétés pharmacocinétiques**

### **6.8.2.1. Absorption gastro-intestinal (GI)**

La voie d'administration orale impose au médicament un passage à travers de la barrière digestive. Ce passage peut se faire par simple diffusion passive ou fait intervenir des phénomènes plus complexes avec la mise en jeu d'un système de transporteurs favorisant ou au contraire limitant l'absorption.[85]

### 6.8.2.2. BBB perméabilité

La capacité de nos meilleurs inhibiteurs à traverser la barrière hémato-encéphalique a été simulé à l'aide du serveur SwissADME. Ce critère est important tant pour les médicaments psychotropes, qui doivent exercer leur action dans le système nerveux central, que pour les médicaments destinés aux organes périphériques, et qui ne doivent surtout pas y pénétrer. [86]

### 6.8.2.3. Inhibition des cytochromes P450

Les cytochromes P450 (CYP) sont des enzymes hépatiques intervenant dans le métabolisme des substrats endogènes ou exogènes, notamment médicamenteux. Les principaux CYP impliqués dans le métabolisme des médicaments sont: CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4. Toutefois, en fonction de leur degré d'affinité pour ces enzymes, certains médicaments peuvent inhiber le métabolisme. C'est pourquoi il vaut mieux choisir ceux qui ne sont pas inhibiteurs des cytochromes P450. [87]

### 6.8.3. Toxicité potentielle

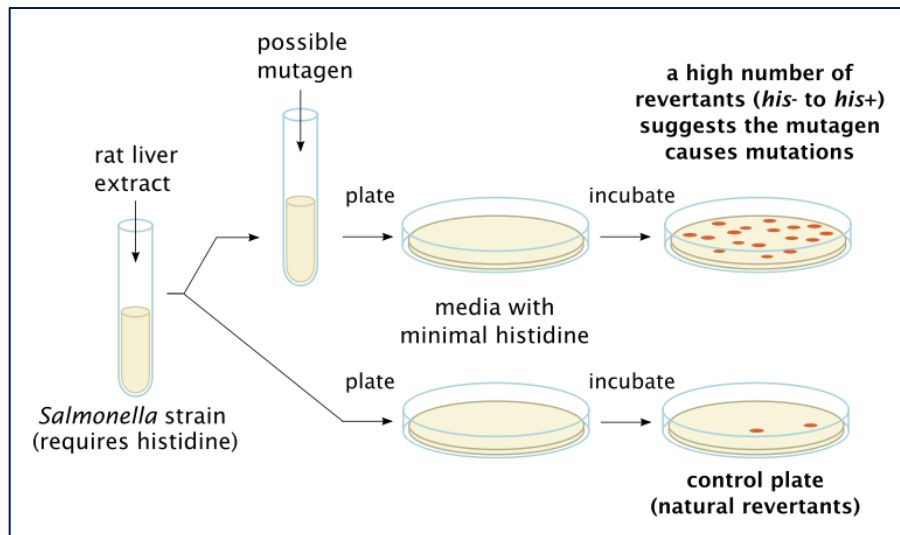
Pendant le développement d'un candidat-médicament, la sécurité est toujours le problème le plus important, y compris une variété de toxicités et d'effets indésirables. [88]

L'évaluation de la toxicité d'un composé s'appuie sur des études qualitatives ou quantitatives adéquates. Dans cette étude, le serveur PreADMET a été utilisé pour simuler certains critères de toxicité selon les tests suivants :

#### 6.8.3.1. Test d'Ames

Le test d'Ames permet de déterminer le potentiel mutagène d'un composé chimique. [89] Les souches de *Salmonella typhimurium* utilisées dans ce test sont des souches porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine, ce qui rend ces souches incapables de pousser. Avec une fréquence très faible, ces mutations His- reversent spontanément vers His+ et donc les cellules retrouvent leur capacité à pousser sur un milieu dépourvu d'histidine. Cette fréquence de réversion peut augmenter en exposant les bactéries His- à des agents mutagènes. Ainsi, le test d'Ames permet de quantifier l'induction de ces mutations réverses His+. [90]





**Figure 39:**Principes du test d'Ames

### 6.8.3.2. Cancérogénicité

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

### 6.8.3.3. Inhibition de l'hERG

L'hERG (human Ether-à-go-go-Related Gene) est un gène qui code pour un canal potassique à tension variable, un élément clé dans la formation du potentiel d'action cardiaque.[91] Le blocage pharmacologique de ce canal entraîne des fibrillations en cardiologie, c'est-à-dire une modification de l'onde QT sur l'électrocardiogramme ce qui peut entraîner un arrêt cardiaque.[92]

### 6.8.3.4. Tests de toxicité aiguë

La toxicité aiguë résulte d'une exposition de courte durée suite à une absorption rapide du toxique, par dose unique ou multiple, ne dépassant pas 24 heures. Les manifestations cliniques se développent rapidement, en général, la mort ou la guérison surviennent sans retard.[93]

Dans notre travail, la simulation de la toxicité aiguë s'est faite sur quatre espèces marines qui sont : les algues (*algae*), les daphnies (*Daphnia*), les Medaka et les Minnow.



# Chapitre 4



## Chapitre 4 : Résultats et discussion

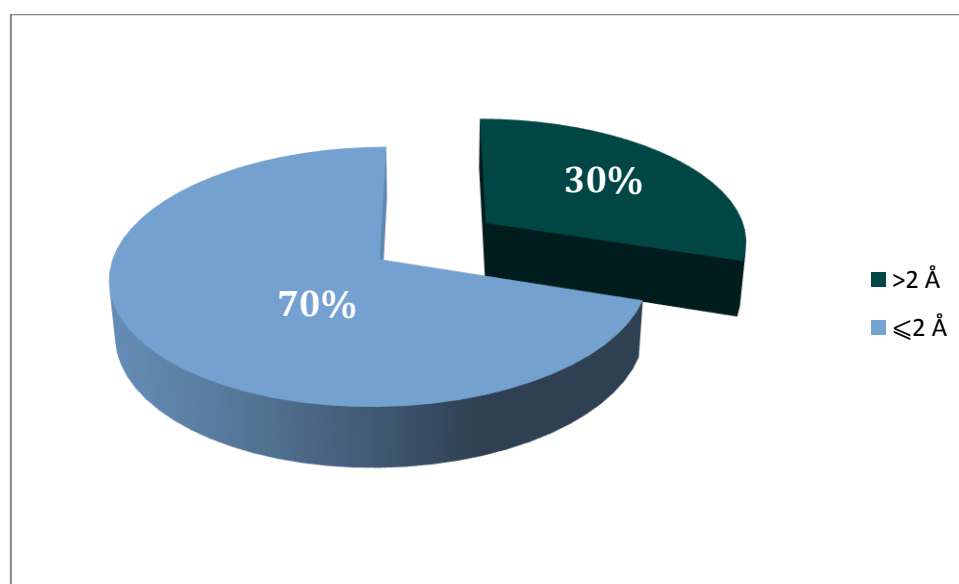
---

Le travail qu'on a réalisé peut être réparti en quatre parties. La première, traite la performance d'AutoDock afin de valider le protocole du docking qu'on cherche à employer. La deuxième est consacrée à l'étude des interactions intervenant dans l'inhibition de l'HDAC. La troisième quant à elle est destinée à la proposition de nouveaux inhibiteurs plus puissants, Alors que la dernière partie consiste à prédire les propriétés ADMET des inhibiteurs proposés

### 1. Tests de fiabilité du programme de docking

#### 1.1. Le test RMSD

Dans notre cas, le test de fiabilité RMSD a été réalisé sur 100 complexes protéine-ligand arbitrairement tirés de la PDB. Les codes PDB des complexes utilisés et de leurs ligands ainsi que les valeurs de leurs RMSD obtenues avec AutoDock sont démontrés dans l'Annexe N°1. Les résultats de ce test sont représentés dans la figure N°40.



**Figure 40:** Résultat en pourcentage du test RMSD

La figure N°40 montre que 70% des valeurs RMSD obtenues avec le logiciel sont inférieures à 2Å alors que seulement 30% sont supérieures à cette valeur seuil. Conformément à la littérature [94], un programme de docking moléculaire n'est considéré fiable que si la valeur RMSD du modèle conçu par le programme vis-à-vis de la structure cristallographique ne dépasse pas 2Å. Dans notre cas, le programme AutoDock peut être utilisé sans trop risque d'erreurs pour prédire le positionnement correct d'un ligand au sein du son site actif.

### 1.2. Analyse visuelle

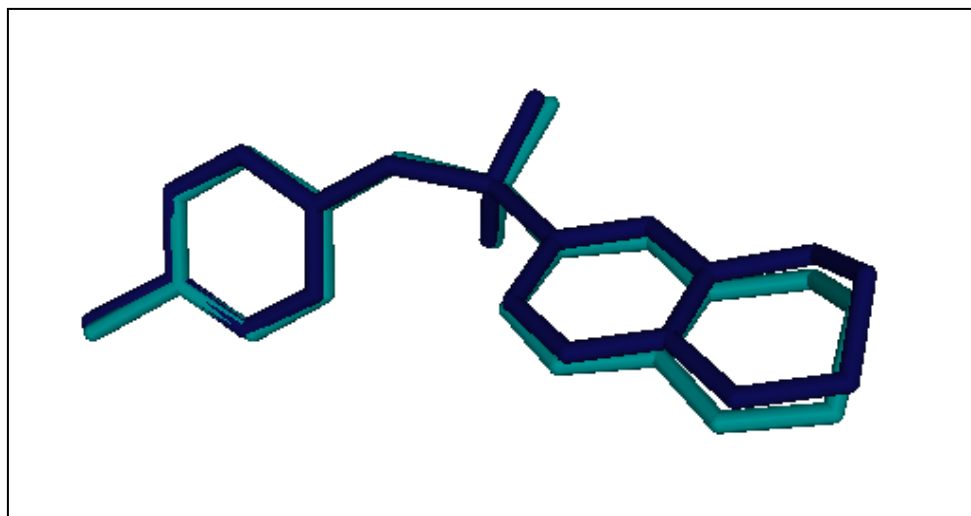
Toutefois, les résultats obtenus à partir du test RMSD restent insuffisants pour assurer la fiabilité du programme de docking moléculaire. C'est pour quoi, une analyse visuelle reste indispensable pour confirmer ces résultats. Elle, consiste à comparer le positionnement d'un ligand généré par le programme du docking vis-à-vis de celui de référence obtenu à partir de l'expérimentation. Dans notre travail, cette analyse a été réalisée sur 6 complexes présentant une valeur de RMSD inférieure à 2Å. Les codes PDB des complexes choisis, les codes de leur ligand ainsi que les valeurs de leurs RMSD respectifs sont représentés dans le tableau N° 5.

**Tableau N°5 :** Les valeurs RMSD des complexes protéine/ligand choisis.

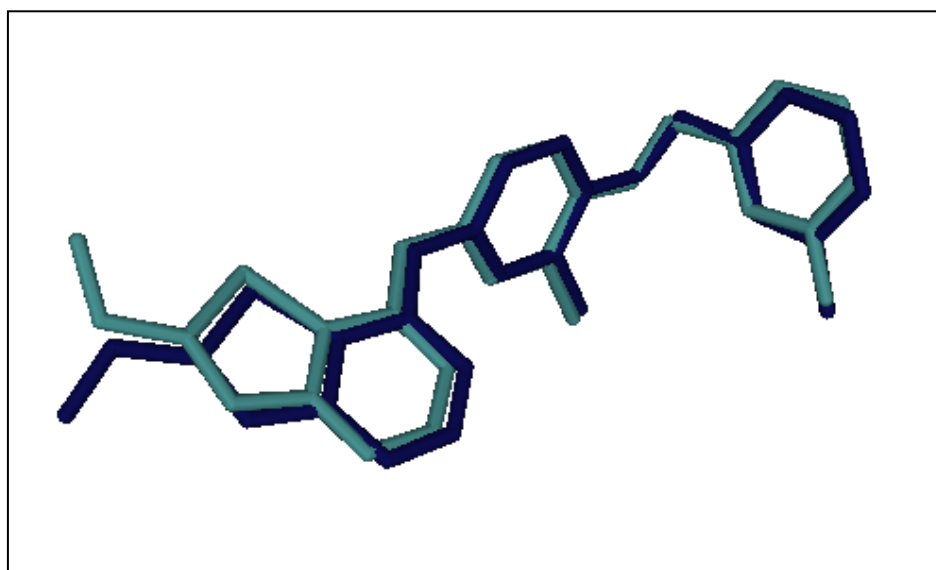
Code PDB	Code ligand	RMSD (Å)
1YKR	628	0.40
2ONZ	TMJ	0.24
2R4B	GW7	0.44
5IX0	6EZ	0.13
5PZQ	93V	0.45
6MDA	JED	0.35



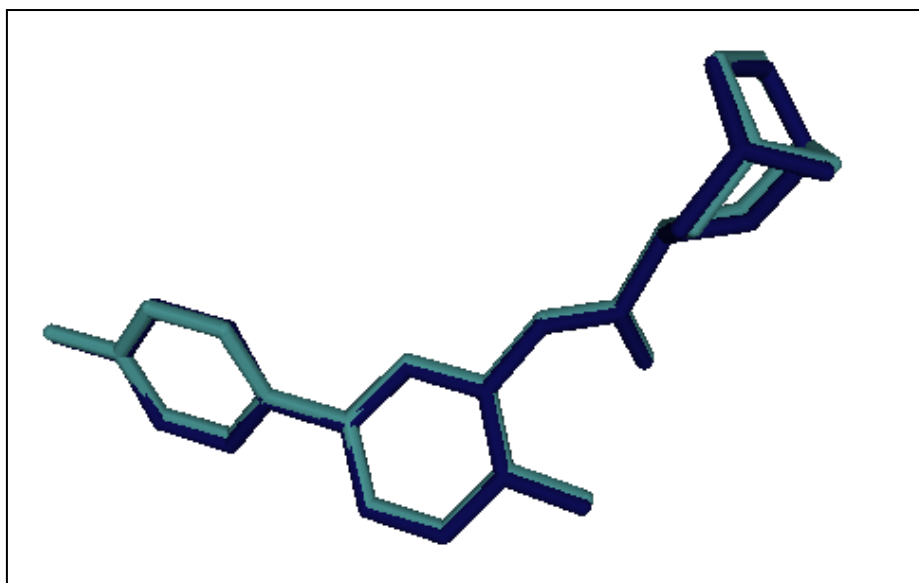
**Figure 41:** Superposition de la pose de référence (Vert) du ligand **628** et celle calculée par AutoDock (Bleu) du complexe **1YKR**



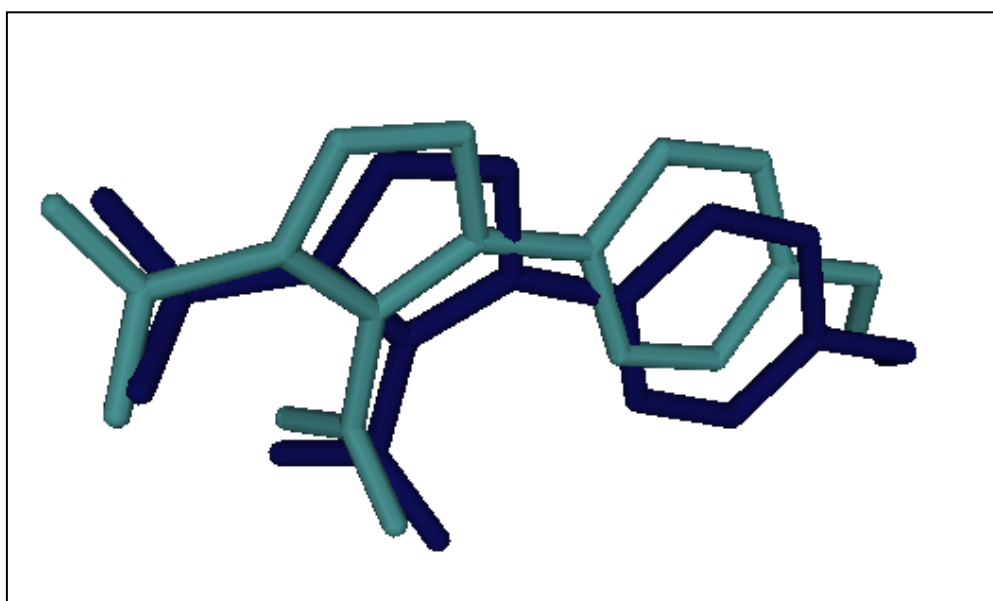
**Figure 42 :** Superposition de la pose de référence (Vert) du ligand **TMJ** et celle calculée par AutoDock (Bleu) du complexe **2ONZ**



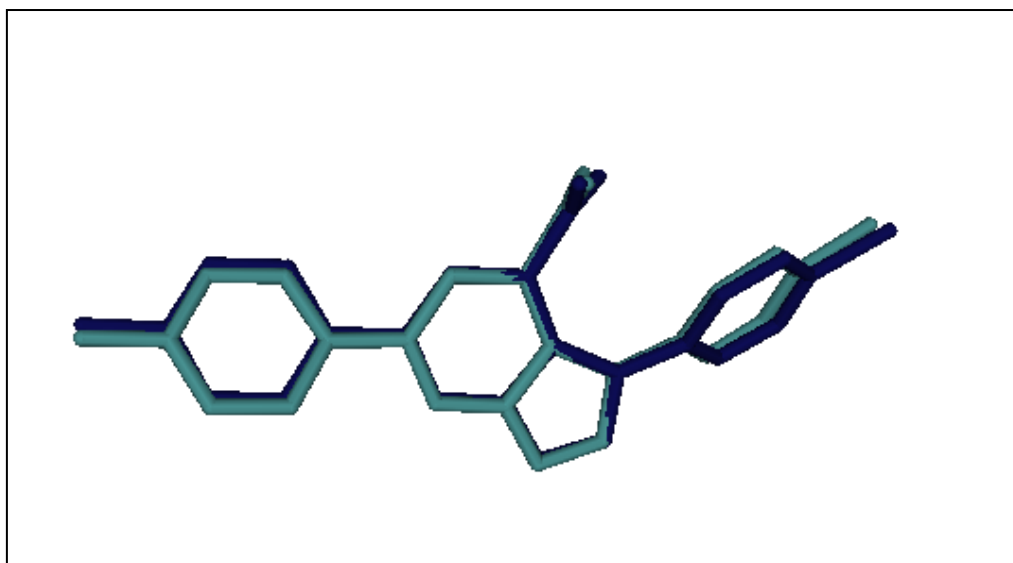
**Figure 43 :** Superposition de la pose de référence (Vert) du ligand **GW7** et celle calculée par AutoDock (Bleu) du complexe **2R4B**



**Figure 44:** Superposition de la pose de référence (Vert) du ligand **6EZ** et celle calculée par AutoDock (Bleu) du complexe **5IX0**



**Figure 45:** Superposition de la pose de référence (Vert) du ligand **93V** et celle calculée par AutoDock (Bleu) du complexe **5PZQ**

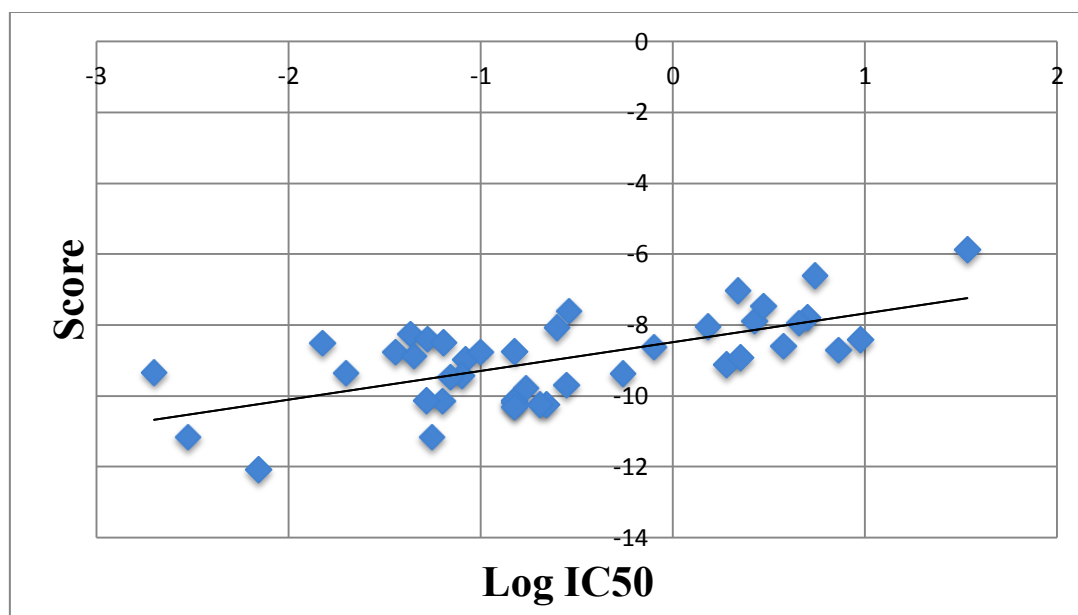


**Figure 46:** Superposition de la pose de référence (Vert) du ligand **JED** et celle calculée par AutoDock (Bleu) du complexe **6MDA**

L'analyse visuelle des six composés choisis révèle à chaque fois une superposition des modèles de ligands simulés par AutoDock vis-à-vis de ceux de référence. Ce qui renforce la conclusion tirée du test RMSD et confirme davantage la performance d'AutoDock.

### **1.3. Test du coefficient de corrélation linéaire**

Afin d'évaluer le degré de corrélation existant entre les scores des inhibiteurs calculés par le logiciel AutoDock et leur concentration inhibitrice 50 ( $IC_{50}$ ) obtenues expérimentalement, le test de corrélation linéaire a été réalisé sur 42 inhibiteurs d'HDAC issus de la littérature. Le score ( $\Delta G$ ) de ces inhibiteurs, leur structure, leur  $IC_{50}$  ainsi que leur  $\text{Log } IC_{50}$  sont représentés dans l'Annexe N°2. Excel nous a été utile pour le traçage de la courbe de régression linéaire (Figure N°47) ainsi que pour le calcul du coefficient de corrélation linéaire. Il est à noter que les valeurs  $\text{Log } IC_{50}$  ont été utilisées afin de réduire la dispersion de l'ensemble de données.



**Figure 47 :** La courbe de corrélation linéaire entre les Log IC<sub>50</sub> des inhibiteurs et leurs scores.

Avec un coefficient de corrélation égal à 0.647, il existe une certaine relation linéaire positive entre l'énergie d'interaction des inhibiteurs obtenus par AutoDock et leur activité biologique et qu'ils évaluent dans le même sens.

Selon les travaux de Bensegueni A., (2007) [95] et Mokrani. E.H., (2012)[96] qui démontrent qu'un programme de docking moléculaire est performant quand la valeur du coefficient de corrélation linéaire dépasse 0.5 on peut affirmer davantage la performance d'Autodock .

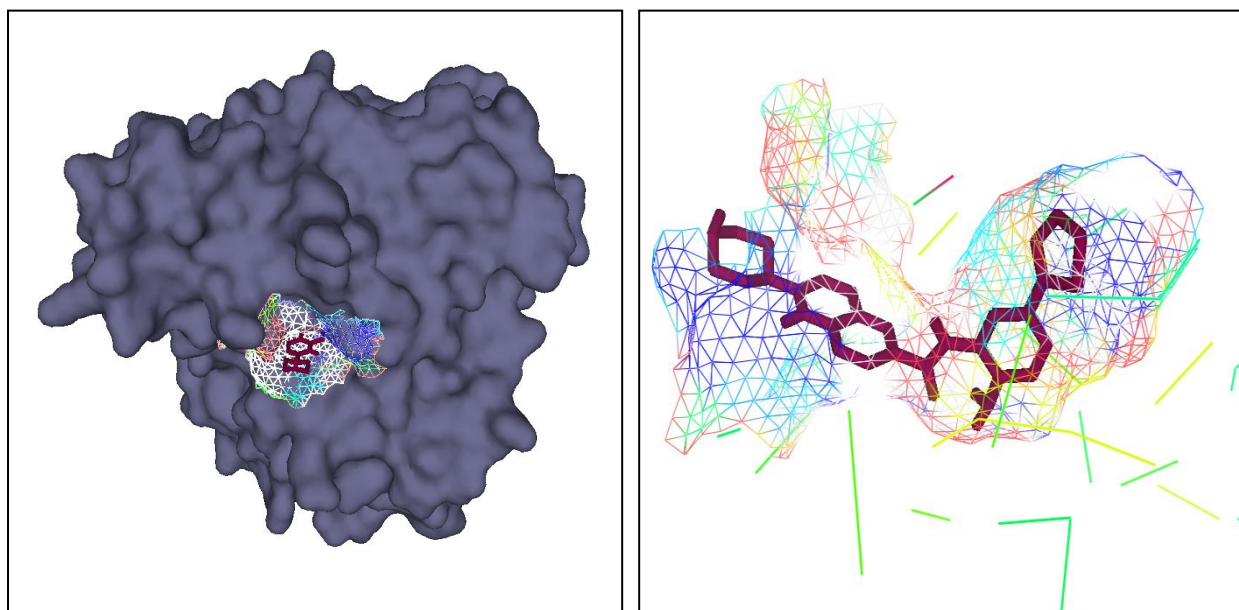
## 2. Conclusion

Les résultats obtenus avec les tests de fiabilité : RMSD, l'analyse visuelle et la corrélation linéaire nous ont permis de prouver la performance du programme AutoDock qui peut être utilisé par la suite pour l'étude *in silico* des interactions HDAC-inhibiteur.



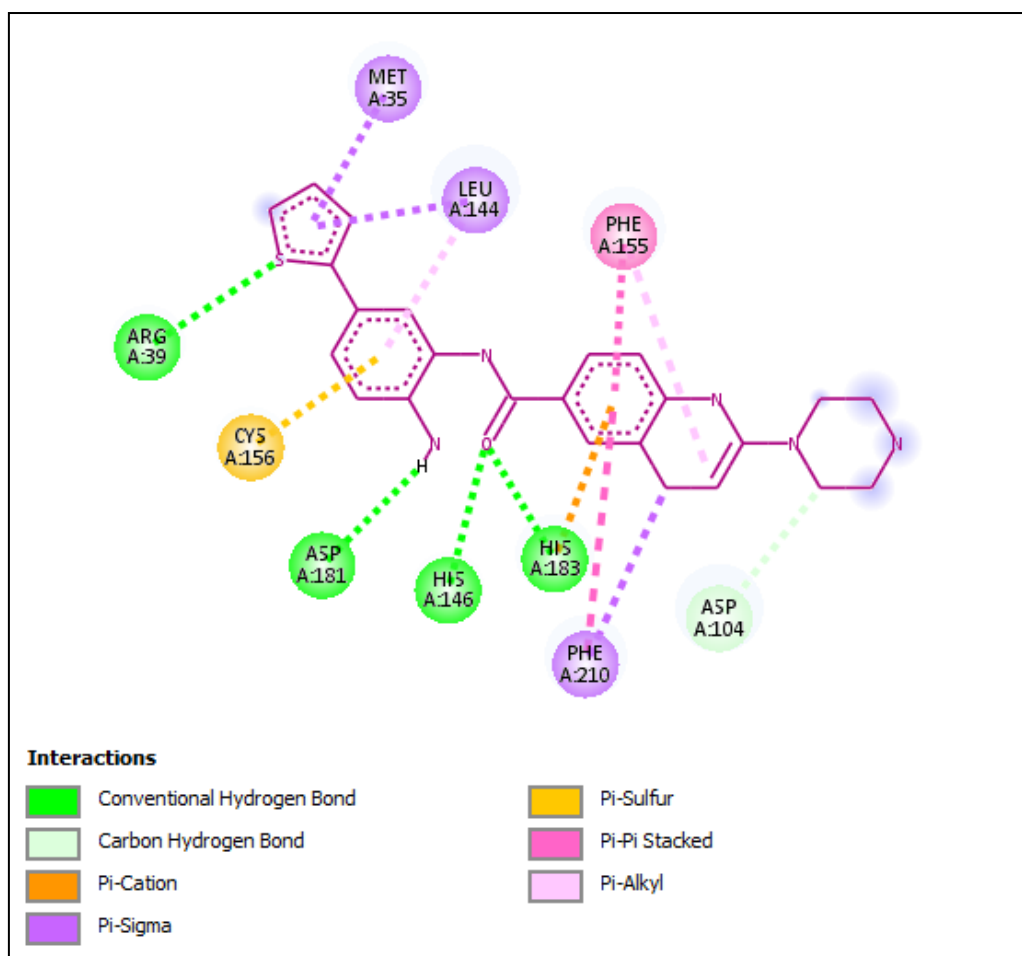
### 3. Etude des interactions enzyme-inhibiteur

Le test de corrélation linéaire fait ressortir le composé **X35** (ACY-957) comme le meilleur inhibiteur de l'HDAC parmi les 42 étudiés et ce avec un score de -12.08 kcal/mol et un IC<sub>50</sub> de 0,007 $\mu$ M [97].



**Figure 48:** Le positionnement de l'inhibiteur **X35** dans le site actif de l'HDAC

L'analyse visuelle montre que le composé **X35** est bien placé dans la cavité de l'HDAC où il est stabilisé par cinq liaisons hydrogènes. La première est formée entre le carbone du cycle pipérazine de l'inhibiteur et le résidu Asp-104 du site actif avec une distance de 3 Å. La deuxième et la troisième sont formées entre l'oxygène du groupement amide de l'inhibiteur **X35** et les résidus His-183 et His-146 avec une distance de 2.27 Å et 2.08Å respectivement. La quatrième est formée entre l'azote du groupement amine de l'inhibiteur et le résidu Asp-181 avec une distance de 2.20 Å. La dernière liaison quant à elle est formée entre le sulfure du thiophène de l'inhibiteur et le résidu Arg-39 avec une distance de 3.01 Å. Le composé **X35** établit également plusieurs interactions hydrophobiques avec les résidus : Met-35, Leu-144, Phe-155, Phe-210 et Cys-156 de l'enzyme participant ainsi à sa stabilité au sein de la cavité.



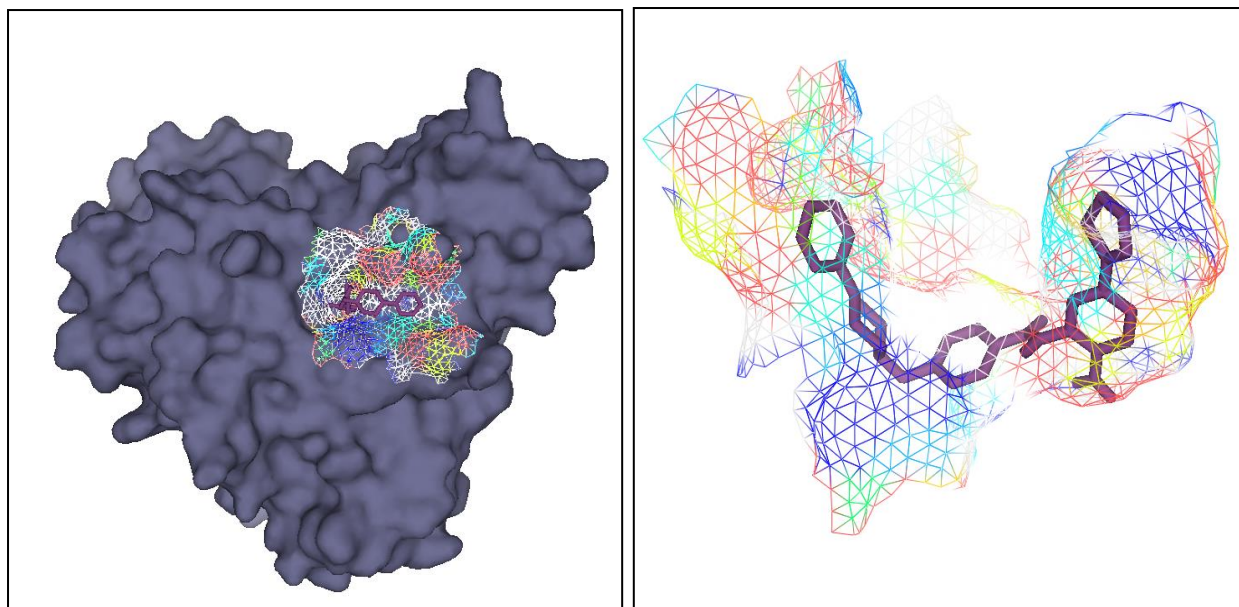
**Figure 49 :**Diagramme 2D des interactions du complexe : composé **X35**/HDAC

## 4. Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'HDAC

### 4.1. Criblage virtuel des similaires

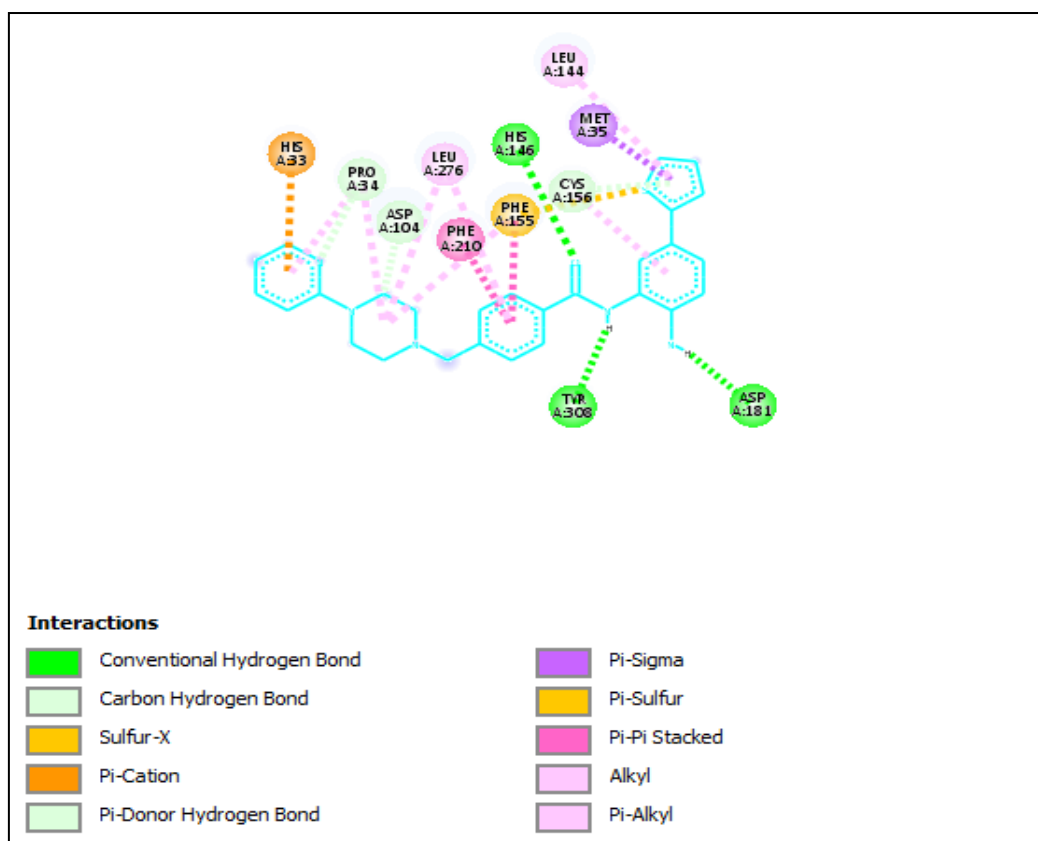
Afin d'améliorer l'activité inhibitrice de l'ACY-957 et de proposer de nouveaux inhibiteurs plus puissants et sélectifs de l'HDAC, le composé **X35** a été pris comme structure de départ pour le criblage d'une collection de similaires chimiques via la banque de données *PubChem*. Avec un taux de similarité de 85%, cette dernière nous a proposé 250 composés similaires. Le numéro d'accèsion de ces composés similaires et leur score sont illustrés dans l'Annexe 3.

Le docking moléculaire des composés similaires avec le site actif de la cible révèle le composé **S86** comme meilleur inhibiteur parmi les 250 criblés avec un score égal à -12.13 Kcal/mol.



**Figure 50:** Le positionnement du similaire **S86** dans le site actif de L'HDAC

La légère amélioration du score observé dans le cas du composé **S86** (-12.13 Kcal/mol) par rapport au composé de départ **X35** (-12.08Kcal/mol) peut être expliquée par la mise en place de six liaisons hydrogènes dans le cas du composé **S86** au lieu de cinq dans le cas du composé **X35**. La première est formée entre le résidu Asp-181 et l'azote du groupement amine du composé **S86** avec une distance de 1.97 Å. La deuxième liaison est formée entre l'azote de la fonction amide du composé similaire et le résidu Tyr-308 avec une distance égal à 2.16 Å. La troisième est formée entre l'oxygène de la fonction amide du composé et l'hydrogène du résidu His-146. La quatrième quant à elle distante de 3.06Å, est formée entre le carbone du cycle pipérazine et le résidu Asp-104. La cinquième est formée entre l'azote du cycle pyridine du composé **S86** et le résidu Pro-34 avec une distance de 3.08Å. La dernière est formée entre le résidu Cys-156 et le cycle thiophène du composé **S86** avec une distance de 4.10Å. De nombreuses interactions hydrophobiques participent également à la stabilité du composé **S86** au sein du site actif de l'enzyme faisant intervenir les résidus His-33, Pro-34, Leu-276, Phe-210, Phe-155, Cys-156, Met-35 et Leu-144.



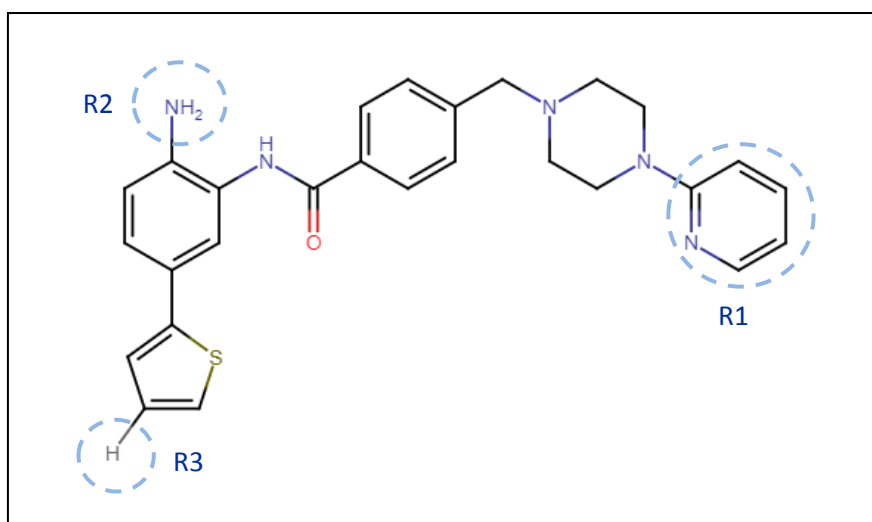
**Figure 51:** Diagramme 2D des interactions du complexe composé **S86**/HDAC

### 4.2. Mono-substitution

En tenant en compte la marge d'erreur du logiciel de 2Kcal/mol, l'amélioration du score obtenu dans le cas du composé **S86** est insuffisante. De ce fait, la structure chimique de ce dernier a subi une série de mono-substitution qui consiste à ajouter un seul groupement fonctionnel sur les radicaux R1 (pyridine), R2 (amine) et R3 (l'hydrogène du cycle Thiophène) de la structure initial (Figure N°52).

La mono-substitution du similaire **S86** a généré 45 composés qui ont par la suite fait l'objet d'un docking moléculaire avec AutoDock. Les structures de ces composés ainsi que leur score sont représentés dans le tableau N°6.

## Chapitre 4 : Résultats et discussion



**Figure N°52 :** Représentation des Radicaux R1, R2 et R3 de la Structure de base du composé similaire S86

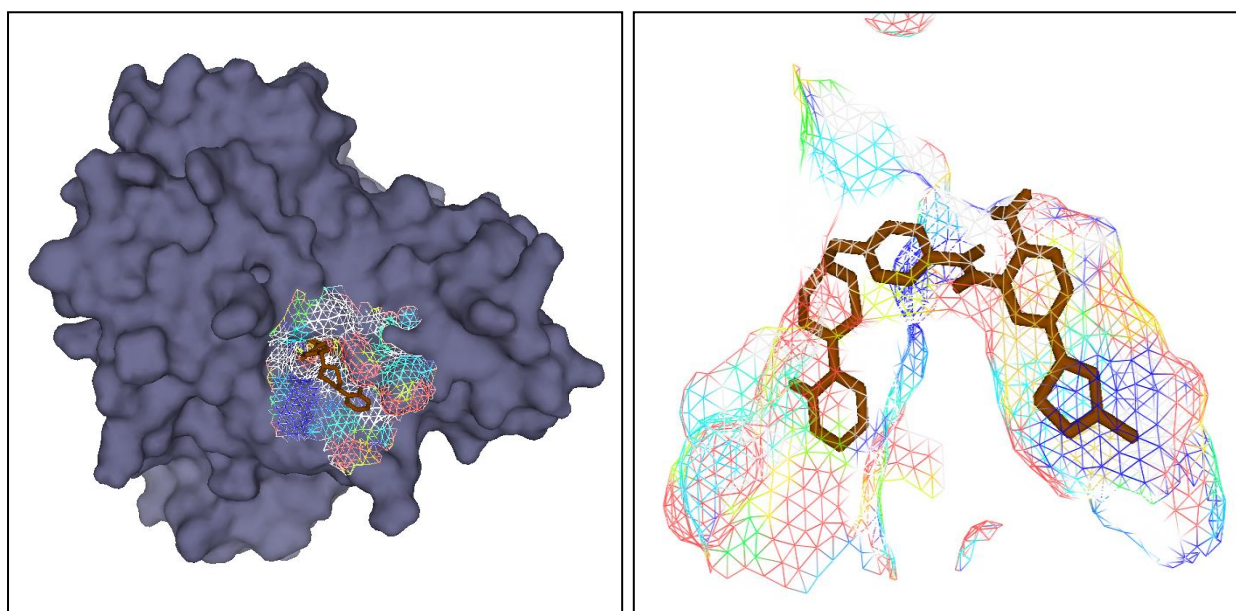
**Tableau N°6 :** Les structures et le score des composés issus de la mono-substitution de S86

Composé monosubstitué	R1	R2	R3	Score
M1	OH			-12.62
M2		OH		-13.30
M3			OH	-13.41
M4	COOH			-11.60
M5		COOH		-9.53
M6			COOH	-12.37
M7	CH3			-11.60
M8		CH3		-13.08
M9			CH3	-13.74
M10	NH2			-12.86
M11		NH2		-12.75
M12			NH2	-12.74
M13	NO			-12.64
M14		NO		-12.25
M15			NO	-11.40
M16	SH			-12.33
M17		SH		-13.09
M18			SH	-11.84
M19	PH2			-12.52
M20		PH2		-12.93
M21			PH2	-12.58
M22	I			-12.71
M23		I		-10.10
M24			I	-13.51
M25	Cl			-12.40

## Chapitre 4 : Résultats et discussion

M26		Cl		-12.56
M27			Cl	-13.95
M28	Benzène			-13.17
M29		Benzène		-12.47
M30			Benzène	-11.40
M31	Cyclopentane			-13.67
M32		Cyclopentane		-12.40
M33			Cyclopentane	-11.57
M34	Pyridine			-12.51
M35		Pyridine		-12.00
M36			Pyridine	-11.39
M37	Pyrimidine			-12.73
M38		Pyrimidine		-11.88
M39			Pyrimidine	-10.55
M40	1,3 thiazole			-12.83
M41		1,3 thiazole		-11.70
M42			1,3 thiazole	-10.89
M43	Imidazole			-12.48
M44		Imidazole		-11.68
M45			Imidazole	-9.89

Le tableau N°6 révèle le composé **M27** qui présente un groupement chlore (Cl) au niveau de R3 comme meilleur inhibiteur avec un score de -13.95Kcal/mol.

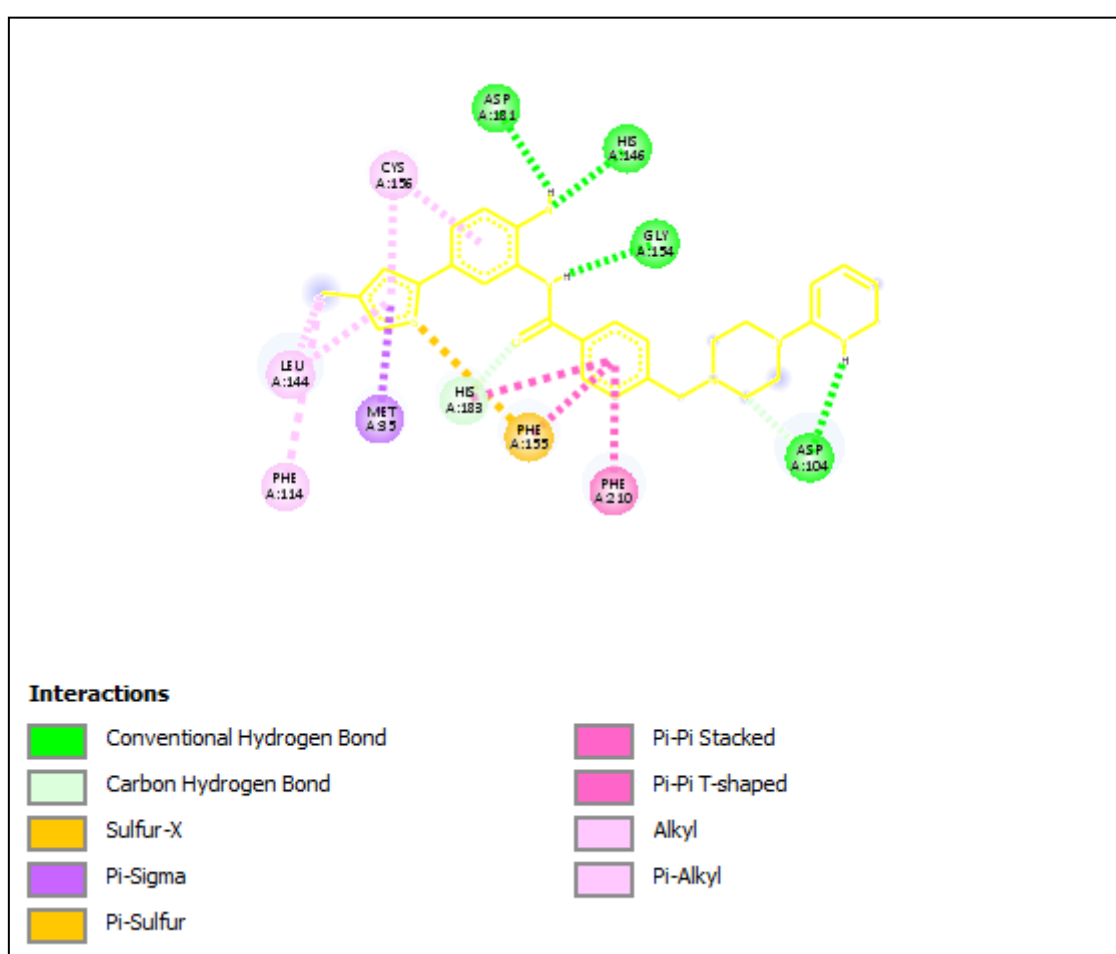


**Figure 53:** Le positionnement du composé **M27** dans le site actif de L'HDAC

L'analyse visuelle montre la présence de six liaisons hydrogène. La première est formée entre le cycle pyridine du composé **M27** et le résidu Asp-104 du site actif avec une distance

## Chapitre 4 : Résultats et discussion

de 1.95Å. La deuxième est formée entre le cycle pipérazine de **M27** et le résidu Asp-104 avec une distance de 3.15Å, alors que la troisième est formée entre le résidu Gly-154 et l'azote de la fonction amide du composé **M27** avec une distance de 1.97Å. La quatrième et la cinquième liaison sont formées entre l'azote du groupement amine de **M27** et les résidus His-146 et Asp-181 avec des distances de 1.94Å et 2.23 Å respectivement. La sixième quant à elle est formée entre l'oxygène du groupement amide de **M27** et l'His-183 du site actif avec une distance de 3.01Å. Il existe également plusieurs liaisons hydrophobiques formées avec les résidus : Cys-156, Leu-144, Phe-114, Met-35, His-183, Phe-155 et Phe-210 qui participent dans la stabilité de l'inhibiteur au site actif de l'HDAC.

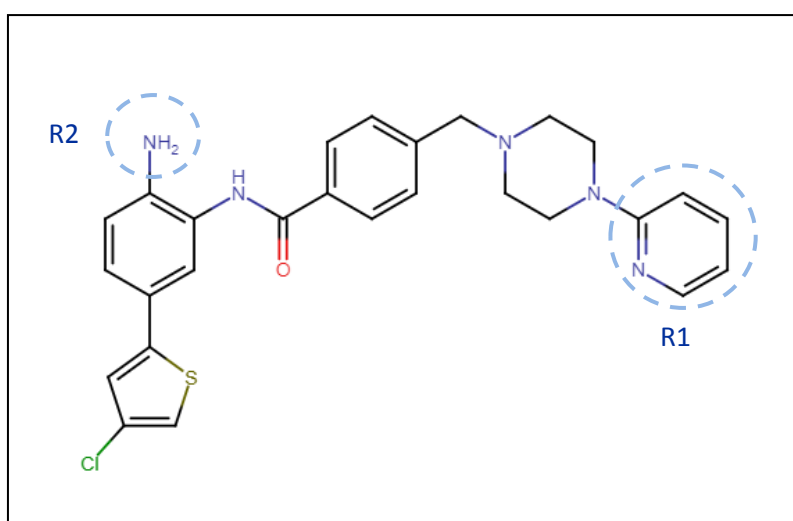


**Figure 54:** Diagramme 2D des interactions composé **M27**/HDAC

### 4.3. Bi-substitution

Le meilleur composé issu de la mono-substitution (**M27**) a, par la suite, subi une série de bi-substitution consistant à ajouter un seul groupement fonctionnel au niveau des radicaux R1 (pyridine) et R2 (amine) (Figure N°55) afin d'améliorer davantage son score.

La bi-substitution a généré 30 composés qui ont fait l'objet d'une étude de docking moléculaire par AutoDock. Les structures de ces composés et leur énergie d'interaction sont représentés dans le tableau N°7.



**Figure N°55:** Représentation des Radicaux R1, R2 du composé **M27** issu de la mono-substitution

**Tableau N°7:** Les structures et les scores des composés issus de la bi-substitution de **M27**

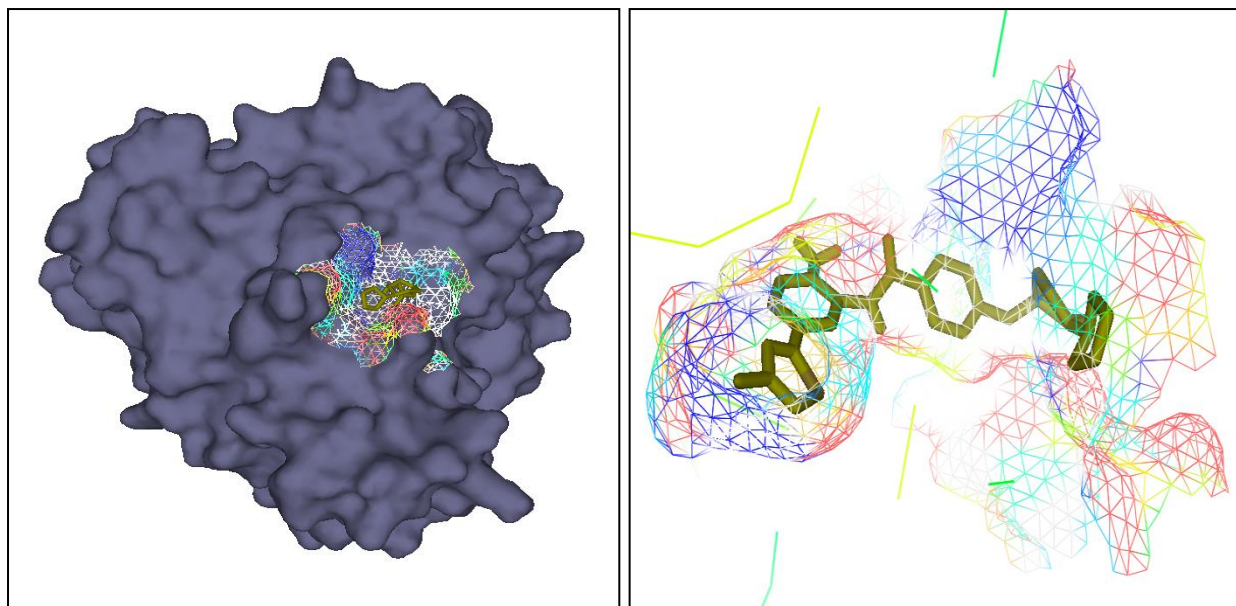
Composé Bi-substitué	R1	R2	Score
B1	OH		-13.08
B2		OH	-13.51
B3	COOH		-12.32
B4		COOH	-10.08
B5	CH3		-13.81
B6		CH3	-11.30
B7	NH2		-12.48
B8		NH2	-13.95
B9	NO		-12.63
B10		NO	-11.26
B11	SH		-12.66
B12		SH	-10.83
B13	PH2		-12.67



## Chapitre 4 : Résultats et discussion

<b>B14</b>		PH2	-10.93
<b>B15</b>	I		-13.26
<b>B16</b>		I	-11.69
<b>B17</b>	Cl		-13.06
<b>B18</b>		Cl	-13.02
<b>B19</b>	Benzène		-13.87
<b>B20</b>		Benzène	-12.40
<b>B21</b>	Cyclopentane		-15.03
<b>B22</b>		Cyclopentane	-12.76
<b>B23</b>	Pyridine		-13.67
<b>B24</b>		Pyridine	-12.08
<b>B25</b>	Pyrimidine		-13.30
<b>B26</b>		Pyrimidine	-11.65
<b>B27</b>	1,3 thiazole		-13.60
<b>B28</b>		1,3 thiazole	-12.14
<b>B29</b>	Imidazole		-13.38
<b>B30</b>		Imidazole	-12.28

Les résultats du tableau N°7 montrent que parmi les 30 composés bi-substitués, le composé **B21** qui se caractérise par un cyclopentane au niveau de R2, a présenté le meilleur score soit -15.03 Kcal/mol.



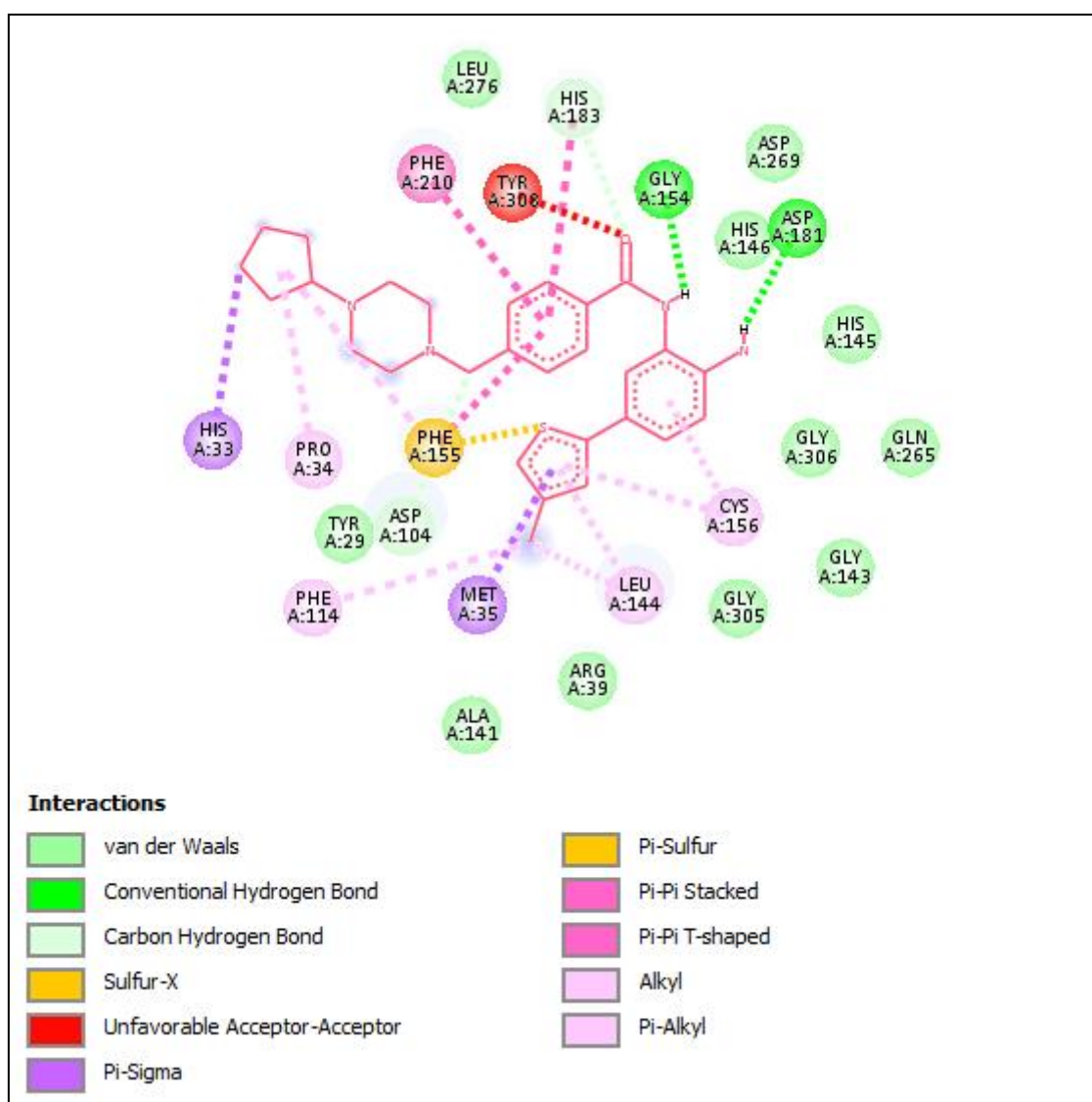
**Figure 56:** Le positionnement du composé **B21** dans le site actif de L'HDAC

L'inspection visuelle montre que le score attribué au composé **B21** résulte de la mise en place de quatre liaisons hydrogène dont la première est formée entre le carbone du composé et le résidu Asp-104 du site actif avec une distance de 3.09Å. La deuxième est formée entre

## Chapitre 4 : Résultats et discussion

l'azote de la fonction amine de **B21** et le résidu Asp-181 avec une distance de 1.93Å. Alors que la troisième et la quatrième liaison sont formées entre l'azote et l'oxygène de la fonction amide du composé **B21** et les résidus Gly-154 et His-183 du site actif avec des distances respectives de 1.84 Å et 2.87 Å.

De plus, plusieurs interactions hydrophobiques participent à la stabilité du composé B21 au sein du site actif de l'enzyme. Ces interactions font intervenir les résidus : Leu-276, His-146, Asp-269, His-145, Gly-306, Gln-265, Gly-143, Gly-305, Arg-39, Ala-141 et le Tyr-29.



**Figure 57:** Diagramme 2D des interactions composé **B21**/HDAC

### 5. Prédiction des propriétés ADMET

Il est estimé que près de 90% des candidats-médicaments échouent en raison d'une efficacité inacceptable ou en raison de leur toxicité. Il est donc devenu évident que les études ADMET jouent un rôle crucial dans le succès d'un candidat-médicament. C'est pourquoi, nous avons jugé utile de prédire les propriétés ADMET du composé **B21** issu de la bi-substitution.

Les résultats obtenus ont été comparé à ceux d'une molécule de référence en l'occurrence la Chidamide ; un médicament inhibant l'histone désacétylase pour le traitement du Lymphome T périphérique (PTCL).

#### 5.1. Propriétés physico-chimiques

**Tableau N°8** : Propriétés physicochimiques du composé **B21** et du Chidamide

Propriétés	Chidamide	Composé B21
Formule	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> FN <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>27</sub> H <sub>31</sub> CIN <sub>4</sub> OS
Poids moléculaire PM (g/mol)	390.41	495.08
nombre de liaisons flexibles (nLF)	8	7
nombre d'accepteur d'hydrogène (nON)	4	3
nombre de donneurs d'hydrogène (nOHNH)	3	2
coefficient de partage Eau/octanol (Log P)	2.76	4.69
La surface polaire topologique (TPSA Å <sup>2</sup> )	97.11	89.84
Règle de Lipinski	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme
Règle de Veber	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme
Solubilité dans l'eau	Peu soluble	Peu soluble
Accessibilité à la synthèse	2.87	4.10

Le tableau N°8 montre que le composé **B21** et la chidamide répondent parfaitement aux règles de Lipinski et de Veber, ce qui indique qu'ils peuvent être administrés par voie orale sans soucis de biodisponibilité. Cependant, ces composés ont présenté une faible solubilité

## Chapitre 4 : Résultats et discussion

---

dans l'eau ce qui peut influencer leur solubilité et circulation dans le sang avec une concentration suffisante. Toutefois, il sera possible de contourner ce problème lors de l'optimisation de ce composé en tenant en compte la valeur moyenne de l'accessibilité à la synthèse chimique de 4.10 obtenue avec le composé **B21**. Rappelons que ce critère a été simulé en chiffre allant de 1 (facile à synthétiser) jusqu'à 10 (très difficile à synthétiser).

### 5.2. Propriétés pharmacocinétiques

**Tableau N°9:** Propriétés pharmacocinétiques du composé **B21** et la chidamide.

Propriétés	Chidamide	Composé B21
<b>GI (Gastro intestinal) absorption</b>	Elevée	Elevée
<b>BBB (Blood Brain Barrier) perméabilité</b>	Non	Non
<b>CYP1A2 inhibition</b>	Positive	Négative
<b>CYP2C19 inhibition</b>	Positive	Positive
<b>CYP2C9 inhibition</b>	Positive	Positive
<b>CYP2D6 inhibition</b>	Positive	Positive
<b>CYP3A4 inhibition</b>	Positive	Positive

Le composé **B21** ainsi que le médicament de référence ont présenté une absorption gastro-intestinale élevée, ce qui indique qu'ils peuvent facilement passer dans les liquides circulants (circulation générale) à partir de leurs sites d'administration. Cependant, ces composés présentent une faible perméabilité pour la barrière hémato-encéphalique ce qui peut être un handicap pour les médicaments destinés à agir au niveau du système nerveux central. Il s'avère aussi que contrairement au médicament de référence qui inhibe les cinq isoformes de Cytochrome P450, le composé **B21** n'inhibe pas l'isoforme CYP1A2.

### 5.3. Les tests de toxicité

**Tableau N°10:** Toxicité potentielle du composé B3, M13 et le chidamide.

Paramètre	Chidamide	Composé B21
Test d'Ames	Mutagène	Mutagène
Cancérogénicité pour les souris	Négative	Positive
Cancérogénicité pour les rats	Négative	Négative
hERG_inhibition	Risque moyen	Risque moyen
algae_at	0.0449224	0.00282664
daphnia_at	0.117781	0.00251245
medaka_at	0.0287392	2.12609e-005
minnow_at	0.040852	0.000229383

La prédiction du test d'Ames a marqué la chidamide ainsi que le composé **B21** comme étant inducteurs de mutation génétique. Il s'est avéré également que le composé **B21** possède un potentiel pouvoir cancérigène envers les souris et un risque moyen pour l'inhibition du gène hERG qui, rappelons-le, peut causer des problèmes cardiaques. Il est également à souligner que les faibles valeurs obtenues de la simulation de la toxicité aiguë sur les quatre espèces marines suggèrent que le composé **B21** possède une plus faible toxicité aiguë relativement à la molécule de référence.



# **Conclusion et Perspective**



## Conclusion et perspectives

---

Dans le but de développer *in silico* de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'Histone déacétylase « l'HDAC » pour le traitement des maladies associées à une dérégulation transcriptionnelle, nous avons dans un premier temps testé la fiabilité du programme Autodock utilisé dans cette étude. Pour cela, nous avons fait appel à trois tests différents. Le premier test, RMSD (*rootmean square derivation*) consistant à comparer la déviation de la géométrie du ligand simulée par Autodock vis-à-vis de celle déterminée expérimentalement, a été réalisé sur 100 complexes arbitrairement tirés de la PDB. La valeur de la déviation quadratique moyenne ou RMSD du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure du cristal ne dépasse pas 2 Å dans les 70% des complexes étudiés.

Par la suite, 6 complexes présentant une valeur RMSD inférieur à 2Å ont fait l'objet d'une analyse visuelle afin de confirmer davantage les résultats tirés du test précédent. L'inspection visuelle de ces résultats montre une bonne superposition de la conformation optimale du ligand simulé par Autodock et la géométrie du même ligand résolue expérimentalement. Finalement, nous avons mesuré l'intensité et le sens de la relation linéaire entre le score ( $\Delta G$ ) des 42 inhibiteurs de l'HDAC calculé par le logiciel AutoDock et leur  $IC_{50}$  déterminée expérimentalement. Avec un coefficient de corrélation « r » égal à 0.647, ce test ainsi que les deux précédents nous ont permis de conclure que le programme Autodock est suffisamment performant pour simuler les interactions HDAC-Inhibiteurs.

Dans un deuxième temps, le docking moléculaire de 42 inhibiteurs nous a permis d'identifier le composé **X35** comme meilleur inhibiteur de notre cible avec un score égal à -12.08Kcal/Mol. Ce composé a été pris par la suite comme structure de départ pour le criblage d'une collection de similaires chimiques. Parmi les 250 similaires proposé par PubChem, le composé **S86** a généré le meilleur score soit -12.13 Kcal/Mol. Dans la perspective d'améliorer ce score, ce composé a subi des modifications structurales par mono-substitution et bi-substitution. Le docking moléculaire de ces composés substitués à l'égard de la cible fait ressortir le composé B21 comme meilleur inhibiteur obtenu dans notre travail avec un score de -15.03 Kcal/mol. La prédiction des propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques ainsi que la toxicité potentielle de ce composé nous renseigne de manière positive sur ses propriétés ADMET.

Bien qu'ils s'avèrent intéressants, les résultats obtenus dans cette étude restent des prédictions théoriques réalisées *in silico*. Il serait toutefois souhaitable de réaliser une application expérimentale *in vitro* ou *in vivo* pour vérifier davantage leur fiabilité et efficacité.

## Conclusion et perspectives

---

Il reste à savoir aussi que l'amélioration des scores obtenus par d'autres modifications additionnelles telles qu'une tri-substitution, ou l'utilisation d'autres outils informatiques plus performants pour l'optimisation et la vérification de la crédibilité de ces résultats est une piste assez intéressante.





**Références  
bibliographiques**



## Références bibliographiques

---

- [1] Deneault J. S., Bioinformatique : Principes généraux de la conception de médicaments assistée par ordinateur. Support de cour, Département de chimie, Université du Québec à Montréal. 2007.
- [2] Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Joseph Fourier, Grenoble. France. 2007. 90 p.
- [3] Fabian V., Richard K., Luc W. Implication des modifications épigénétiques dans les cancers : développement de nouvelles approches thérapeutiques. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 2008 ; 12 (2) : 211-218.
- [4] Mottet D., Castronovo V. Les Histone Désacétylases: Nouvelles cibles pour les thérapies anti-cancéreuses. *Medecine sciences (Paris)*. 2008 ; **24** (8-9): 742-746. doi : 10.1051/medsci/20082489742.
- [5] Philippe J., Auger J., Balaguer P., Bourc'his D., Bujan L., Chevrier C.,Cotinot C., Pierre J.,Laudet V., Livera G., Slama R. Reproduction et environnement. Jean-Pierre laigneau, Inserm. Paris. 2011. 735 p.
- [6] Rogina B., Helfand S.L., Frankel S. Longevity Regulation by Drosophila Rpd3 Deacetylase and Caloric Restriction. *Science*. 2002 ; **298** (5599): 1745. doi : 10.1126/science.1078986.
- [7] Zhang H., Shang Y.-P., Chen H., Li J. Histone deacetylases function as a novel potential therapeutic target for cancer. *Hepatology Research*. 2017 ; **47** (2) : 149-159. doi : 10.1111/hepr.12757.
- [8] Vandermeers F., Kettmann R., Willems L. Implication des modifications épigénétiques dans les cancers : développement de nouvelles approches thérapeutiques. *Biotechnologie, Agronomie, Society and Environment*. 2008 ; **12** (2) : 211-218.
- [9] Ruijter A. J. M., van Gennip A. H., Caron H. N., Kemp S., van Kuilenburg A .B. P. Histone Deacetylases (HDACs) : Characterization of the Classical HDAC Family. *The Biochemical journal*. 2003, **15** (370) :737-49. doi : 10.1042/BJ20021321.
-

## Références bibliographiques

---

- [10] Somech R., Izraeli S., Simon A. J. Histone Deacetylase Inhibitors--A New Tool to Treat Cancer. *Cancer treatment reviews*. 2004 ; **30** : 461-72. doi : 10.1016/j.ctrv.2004.04.006.
- [11] Dinh-Xuan .A. T. Acétylation des protéines histone, inflammation bronchique et effets des corticostéroïdes : Acétylation des histones et inflammation. *Revue des Maladies Respiratoires*. 2006 ; **23** : 11-12. doi : RMR-02-2006-23-1-C2-0761-8425-101019-200601760.
- [12] López J. E., Sullivan E. D., Fierke C. A. Metal-dependent Deacetylases : Cancer and Epigenetic Regulators. *American Chemical Society (ACS) chemical biology*. 2016 ; **11** (3) : 706–716. doi : 10.1021/acscchembio.5b01067.
- [13] Astratenkova I. V., Rogozkin V. A. The Role of Acetylation/Deacetylation of Histones and Transcription Factors in Regulating Metabolism in Skeletal Muscles. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2019 ; **49** :281–288. doi : 10.1007/s11055-019-00730-2.
- [14] Kikuchi H., Fujimoto D. Multiplicity of Histone Deacetylase from calf Thymus. *FEBS Letters*. 1973 ; **29** (3) : 280-281. doi:10.1016/0014-5793(73)80038-9.
- [15] Yao T. P., Seto E. Histone deacetylases : The biology and Clinical Implication. Springer, Verlag berlin, heidelberg : *handbook of Experimental Pharmacology*. 2011 ; Vol : 206 (1) ; 260 p. doi : 10.1007/978-3-642-21631-2.
- [16] Gonzalez C. Criblage d'inhibiteurs potentiels d'HDAC1 : vers une application dans la rechute à l'alcool. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Picardie jules verne. France .2015. 51 p.
- [17] Schwer B., Verdin E. Conserved metabolic regulatory functions of sirtuins. *Cell Metabolism*. 2008 ; **7** (2) :104-12. doi: 10.1016/j.cmet.2007.11.006.
- [18] Eros D. G. The Repression of MEF2 Transcription Factors Exerted by class IIA HDACs and Their Degradation stimulated by CDK4 Determine The Acquisition of Hallmarks of tranformation in Fibroblasts. Thèse de doctorat en sciences biomédicales et biotechnologie. Université d'Udine. Italie. 2015. 119p.
- [19] Roche J., Bertrand P. Inside HDACs with more selective HDAC inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2016 ; **121**. doi : 10.1016/j.ejmech.2016.05.047
-

## Références bibliographiques

---

- [20] Vannini A., Volpari C., Filocamo G., Casavola E. C., Brunetti M., Renzoni D., Chakravarty P., Paolini C., Francesco R. D., Gallinari P., Steinkühler C., Marco S. D. Crystal structure of a eukaryotic zinc-dependent histone deacetylase, human HDAC8, complexed with a hydroxamic acid inhibitor. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. 2004 ; **101** (42) :15064-15069.
- [21] Micelli, C., Rastelli, G. Histone deacetylases: structural determinants of inhibitor selectivity. *Drug Discovery Today*. 2015 ; **20** (6) : 718–735. doi:10.1016/j.drudis.2015.01.007.
- [22] Schapira M. Structural Biology of Human Metal-Dependent Histone Deacetylases. *Handbook of experimental pharmacology*.2011 ; **206** : 225-40. doi : 10.1007/978-3-642-21631-2\_10.
- [23] Prebet T., Collette Y. Les inhibiteurs des histones déacétylases en onco-hématologie. *Correspondances en Onco-hématologie*. 2008 ; **3** (4) : 172-176.
- [24] Park S. Y., Kim J. S. A short guide to histone deacetylases including recent progress on class II enzymes. *Experimental and Molecular Medicine*. 2020, **52** : 204-212. doi : 10.1038/s12276-020-0382-4.
- [25] Hodawadekar S., Marmorstein R. Chemistry of acetyl transfer by histone modifying enzymes : Structure, mechanism and implications for effector design. *Oncogene*. 2007 ; **26** (37) :5528-40. doi : 10.1038/sj.onc.1210619.
- [26] Kupis W., Pałyga J., Tomal E., Niewiadomska E. The role of sirtuins in cellular homeostasis. *Journal of physiology and biochemistry*. 2016 ; **72** : 371–380. doi: 10.1007/s13105-016-0492-6.
- [27] Santos L., Escande C. Potential Modulation of Sirtuins by Oxidative Stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016 ; **12** :1-12. doi : 10.1155/2016/9831825.
- [28] Jaspard E. Modification post traductionnel : Les sirtuines [Enligne]. Disponible sur : <http://biochimej.univangers.fr/Page2/COURS/3CoursdeBiochSTRUCT/5Sirtuines/1Sirtuines.htm>. Consulté le : 10/04/2020.
-

## Références bibliographiques

---

- [29] Hailu G. S. Design, synthesis and biological evaluation of novel epigenetic modulators for parasitic diseases. Thèse de doctorat en sciences pharmaceutiques. Université de Rome "Sapienza". Italie. 2017. 206 p.
- [30] Kazantsev A. G., Thompson L. M. Therapeutic application of Histone deacetylase Inhibitors for Central Nervous System Disorders. *Nature Reviews. Drug Discovery*. 2008 ; **7** : 854-68. doi : 10.1038/nrd2681.
- [31] Zwick V. HDAC inhibitors from natural and synthetic libraries : Towards the development of biochemical probes. Thèse de doctorat en sciences pharmaceutiques. Université de Genève. Suisse. 2016. 214 p.
- [32] Cao F., Zwinderman M. R. H., Dekker F. J. The Process and Strategy for Developing Selective Histone Deacetylase 3 Inhibitors. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2018 ; **23** (3). doi : 10.3390/molecules23030551.
- [33] Peng L., Yuan Z., Seto E. Histone Deacetylase Activity assay. *Methods in molecular biology (Clifton,NJ)*. 2015; **1288**: 95-108. doi: 10.1007/978-1-4939-2474-5\_7.
- [34] Sanaei M., Kavooosi F. Histone Deacetylases and Histone Deacetylase Inhibitors : Molecular Mechanisms of Action in Various Cancers. *Advanced biomedical research*. 2019 ; **8** : 63. doi : 10.4103/abr.abr\_142\_19.
- [35] Brahmachar G. Bioactive natural products opportunities and challenges in medicinal chemistry. *Singapore Hackensack, N. J world Scientific Pub*. 1er édition. 2012, 670 p.
- [36] Thomas M., Thomas B., Hummel R. P., Martin F., Muller M., Thomas B., Jurgen V. Novel Sulphonylpyrroles as Inhibitors of Hdac S Novel Sulphonylpyrroles. - freepatentsonline [En ligne] <http://www.freepatentsonline.com/y2009/0263353.html>. Consulté le : [19/04/2020].
- [37] NCI Drug Dictionary : Romidepsin. - National Cancer Institute. [Enligne]. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug/def/romidepsin?redirect=true>. Consulté le : [19/04/2020].
- [38] Luchenko V. L., Litman T., Chakraborty A. R., Heffner A., Devor C., Wilkerson J., Stein W., Robey R. W., Bangiolo L., Levens D., Bates S. E. Histone deacetylase inhibitor-
-

## Références bibliographiques

---

mediated cell death is distinct from its global effect on chromatin. *Molecular Oncology*. 2014 ; **8** (8) : 1379-1392. doi : 10.1016/j.molonc.2014.05.001.

[39] Romani A., Lattanzio V., Quideau S. Recent advances in polyphenol research. Hoboken, NJ : Wiley Blackwell, Vol : 4. 464 p. 2014.

[40] Moradei O., Maroun C. R., Paquin I., Vaisburg A. Histone deacetylase inhibitors: latest developments, trends and prospects. *Current Medicinal Chemistry. Anti-Cancer Agents*. 2005 ; **5** (5) : 529–560. doi: 10.2174/1568011054866946.

[41] Gelmon K., Tolcher A., Carducci M., Reid G. K., Li Z., Kalita A., Callejas V., Longstreth J., Besterman J. M., Siu L. L. Phase I Study of MGCD0103 Given as a Three-Times-Per-Week Oral Dose in Patients With Advanced Solid Tumors. *Journal of Clinical Oncology*. 2008 ; **26** (12) : 1940-7. doi: 10.1200/JCO.2007.14.5730.

[42] Sippl W., Jung M., Mannhold R., Buschmann H., Holenz J. Epigenetic drug Discovery (Methods and Principles in Medicinal Chemistry). Weinheim Wiley-VCH Verlag GmbH, Vol : 74. 1st Edition. 2018. 504 p.

[43] Yee A. J., Raje N. S. Panobinostat and Multiple Myeloma in 2018. *The Oncologist*. 2018 ; **23** (5) : 516-517. doi: 10.1634/theoncologist.2017-0644.

[44] Anne M., Sammartino D., Barginear M. F., Budman D. Profile of panobinostat and its potential for treatment in solid tumors : an update. *Onco Targets and Therapy*. 2013 ; **6** : 1613–1624. doi : 10.2147/OTT.S30773.

[45] Zhu W., Qian J. Epigenetic Cancer Therapy : Clinical Trials. *Academic Press*. 2015 : 525-568. doi : 10.1016/B978-0-12-800206-3.00023-9.

[46] Paoluzzi L., Scotto L., Marchi E., Zain J., Seshan V. E., O'Connor O. A. Romidepsin and Belinostat Synergize The Antineoplastic Effect of Bortezomib in Mantle Cell Lymphoma. *Clinical Cancer Research* .2010, **16** (2) : 554-565. doi : 10.1158/1078-0432.CCR-09-1937.

[47] Lee H. Z., Kwitkowski V. E., Del Valle P. L., Ricci M. S., Saber H, Habtemariam B. A., Bullock J., Bloomquist E., Shen Y. L., Chen X. H., Brown J., Mehrotra N., Dorff S., Charlab R., Kane R. C., Kaminskis E., Justice R., Farrell A. T., Pazdur R. FDA Approval: Belinostat for the Treatment of Patients With Relapsed or Refractory Peripheral T-cell Lymphoma. *Clinical Cancer Research*. 2015 ; **21** (12) : 2666-70. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-3119.

---

## Références bibliographiques

---

[48] Juergens R. A., Vendetti F., Coleman B., Sebree R. S., Rudek M. A., Belinsky S. A., Brock M. V., Herman J. G., Baylin S. B., Rudin C. M. Phase I trial of 5-azacitidine (5AC) and SNDX-275 in advanced lung cancer (NSCLC). *Journal of Clinical Oncology*. 2008 ; **26** (15) 19036-19036. DOI: 10.1200/jco.2008.26.15\_suppl.19036.

[49] Mezhoud K. Doking Principes et Méthode. – Ubuntu wiki [Enlinge] <https://wiki.ubuntu.com/kmezhoud/Bioinformatics?action=AttachFile&do=get&target=docking.pdf>. Consulté le [10/05/2020]

[50] Chabbi A., Nabti K. Etude in silico de l'effet inhibiteur potentiel d'un groupe de flavonoïdes contre la chitinase fongique. Mémoire de Master en Phytopathologie et phytopharmacie : Université 8 Mai 1945 Guelma. Algérie. 2017. 49 p.

[51] Bouchagra S. Modélisation des interactions protéine-petites molécules : Etude de la relation structure-fonction dans le cas des lipases. Thèse de doctorat en Chimie Organique et Bioorganique : Université Badji Mokhtar-Annaba. Algérie. 2018. 145 p.

[52] Souyel B. Etude des interactions Enzyme-Ligand. Cas des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Mémoire de Master en Chimie Organique Analytique : Université d'EL-Oued. Algérie. 2015. 94 p.

[53] Morris G. M., Lim-Wilby M. Molecular Docking. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*. 2008 ; 443 : 365–382. doi:10.1007/978-1-59745-177-2\_19.

[54] El Hadj Said K. Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire. Mémoire de Master en Chimie Organique : Université de Tlemcen. Algérie. 2016. 50 p.

[55] Lebbad F. Etude par modélisation moléculaire des mécanismes de complexation. Thèse de doctorat en Chimie Théorique et Modélisation moléculaire. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen. Algérie. 2016. 96 p.

[56] Doss C. G. P., Chakraborty C., Narayan V., Kumar D. T. Computational Approaches and Resources in single Amino Acid Substitutions Analysis Toward Clinical Research. *Avances in Protein Chemistry and Structural biology*. 2014 ; **94** : 1876-1623. doi : 10.1016/B978-0-12-800168-4.00010-X.

---

## Références bibliographiques

---

- [57] Arrault A. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données : Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de doctorat en Modélisation Moléculaire Et Chemo-informatique. Université d'Orléans. France. 2007. 190 p.
- [58] Guedes I. A., de Magalhães C. S., Dardenne L. E. Receptor–ligand molecular docking. *Biophysical reviews*. 2014 ; **6** (1) : 75–87. doi : 10.1007/s12551-013-0130-2.
- [59] Dar A. M., Mir S. Molecular Docking : Approaches, Types, Applications and Basic Challenges. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*. 2017 ; **8** (2) : 356. doi : 10.4172/2155-9872.1000356.
- [60] Ghouti M., Halbigue H. Simulation du pouvoir antioxydant de deux anticancéreux de la famille des antimétabolites. Mémoire de Master en Génie Pharmaceutique : Université de Djilali Bounaama. Khemis Miliana. Algérie. 2019. 46 p.
- [61] Cavarelli J. Biocristallographie : De la détermination des phases à la structure cristallographique. Technique de l'ingénieur. [En ligne] <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/biomedical-pharma-th15/chimie-pharmaceutique-42609210/biocristallographie-p1111/base-de-donnees-pdb-p1111v2niv10008.html>. Consulté le : [12/05/2020].
- [62] Jade D. D., Gupta D. Introduction to methods for molecular docking and HT virtual screening. 2016. doi : 10.13140/RG.2.2.12322.84167.
- [63] Dias R., Filgueira de Azevedo Jr W. Molecular Docking Algorithms. *Current Drug Targets*, 2008, **9** (12) : 1040-1047. doi: 10.2174/138945008786949432.
- [64] Forli S., Huey R., Pique M. E., Sanner M. F., Goodsell D. S., Olson A. J. Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nature Protocols*. 2016 ; **11** (5) : 905-919 · doi : 10.1038/nprot.2016.051.
- [65] OpenBabel : Définition. – Encyclopédie Française. [En ligne]. <https://www.encyclopédie.fr/définition/OpenBabel>. Consulté le [21/05/2020].
- [66] Humphrey W., Dalke A., Schulten K. VMD : Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics*. 1996 ; **14** (1) : 33-38. doi : 10.1016/0263-7855(96)00018-5.
- [67] Stinson C., Dodge M. Microsoft Excel 2013 Inside Out. Sebastopol, Microsoft Press, 2013. 1176 p.
-



## Références bibliographiques

---

- [68] PyMOL by Schrödinger - PyMol [En ligne] <https://pymol.org/2/> Consulté le : [02/06/2020]
- [69] Discovery Studio Visualizer – weizmann institute of science. [En ligne] <https://bip.weizmann.ac.il/toolbox/structure/ds.htm> Consulté le : [02/06/2020]
- [70] RCSB PDB : Homepage [En ligne] <http://www.rcsb.org/>. Consulté le : [21/05/2020].
- [71] PubChem : About PubChem. – Pubchem Docs. [Enligne]. <https://pubchemdocs.ncbi.nlm.nih.gov/about>. Consulté le : [21/05/2020].
- [72] Daina A., Michielin O., Zoete V. SwissADME : A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*. 2017 ; 7 : 42717. doi : 10.1038/srep42717.
- [73] PreADMET. – OmicX. [Enligne]. <https://omictools.com/preadmet-tool>. Consulté le : [22/05/2020].
- [74] Sari mohamed S. Etude de l'Interaction Protéine-Protéine par Modélisation Moléculaire. Application aux Processus Biologiques. Thèse de doctorat en Chimie Physique. Université Abou bekr belkaid. Tlemcen. 2013. 115 p.
- [75] Résumé : Coefficient de corrélation. – Khan Academy.[Enligne]. <https://fr.khanacademy.org/math/statistics-probability/describing-relationships-quantitative-data/scatterplots-and-correlation/a/correlation-coefficient-review>. Consulté le [22/05/2020].
- [76] Bathelot B. Coefficient de corrélation. – Définitions marketing. [Enligne]. <https://www.definitionsmarketing.com/definition/coefficient-de-correlation/>. Consulté : [22/05/2020].
- [77] Gabb H.A., Jackson R. M., Sternberg M. J. Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *Journal of Molecular Biology*. 1997; 272: 106-120. doi: 10.1006/jmbi.1997.1203.
- [78] Kirchmair J., Markt P., Distinto S., Wolber G., Langer T. Evaluation of the performance of 3D virtual screening protocols: RMSD. *Journal of Computer Aided Molecular Design*. 2008 ; 22 : 213-228. doi: 10.1007/s10822-007-9163-6.
-

## Références bibliographiques

---

- [79] Hazan C. Recherche d'inhibiteurs de haute affinité de l'ADN polymérase Beta par criblage virtuel et RMN. Thèse de doctorat d'université : biologie structurale. Université de Toulouse III - Paul Sabatier. France. 2008. 249 p.
- [80] Gupta P. K. *Illustrated Toxicology : With Study Questions*. Elsevier, 1st Edition. 2018 : 67-106. doi : 10.1016/B978-0-12-813213-5.00002-X.
- [81] Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development setting. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997; **23**: 3-26. doi: 10.1016/s0169-409x(00)00129-0.
- [82] Veber D. F., Johnson S. R., Cheng H. Y., Smith B. R., Ward K. W., Kopple K. D. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of medicinal chemistry*. 2002; **45**: 2615-2623. doi: 10.1021/jm020017n.
- [83] Savjani K. T., Gajjar A. K., Savjani J. K. Drug Solubility : Importance and Enhancement Techniques. International scholarly research notices (ISRN) pharmaceutics. 2012 ; **2012** : 195727. doi : 10.5402/2012/195727.
- [84] Baba Y., Isomura T., Kashima H. Wisdom of crowds for synthetic accessibility evaluation. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. 2018 ; **80** : 217-223. Doi : 10.1016/j.jmgm.2018.01.011.
- [85] Pharmacocinétique : ABSORPTION – Pharmacomédicale.org. [Enligne]. <https://pharmacomedicale.org/pharmacologie/pharmacocinetique/36-etapes-du-devenir-du-medicament/74-absorption>. Consulté le : [25/05/2020].
- [86] Bodor N., Buchwald P. Recent advances in the brain targeting of neuropharmaceuticals by chemical delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1999 ; 36 (2-3) : 229–254. doi: 10.1016/s0169-409x(98)00090-8.
- [87] Interactions médicamenteuses et cytochromes – agence nationale de sécurité du médicament (ansm) et de produits de santé. [Enligne]. [https://ansm.sante.fr/Dossiers/Interactions-medicamenteuses/Interactions-medicamenteuses-et-cytochromes/\(offset\)/1](https://ansm.sante.fr/Dossiers/Interactions-medicamenteuses/Interactions-medicamenteuses-et-cytochromes/(offset)/1). Consulté le : [25/05/2020].
-

## Références bibliographiques

---

- [88] Yang H., Sun L., Li W., Liu G., Tang Y. In Silico Prediction of Chemical Toxicity for Drug Design Using Machine Learning Methods and Structural Alerts. *Frontiers in chemistry*. 2018 ; 6 : 30. doi : 10.3389/fchem.2018.00030.
- [89] Biotechnologie : Le test d'Ames pour évaluer le pouvoir cancérigène d'une substance. – Technobio. [En ligne]. <http://www.technobio.fr/article-le-test-d-ames-43438456.html>. Consulté le : [25/05/2020].
- [90] De Méo M. Test d'Ames. – Gazettelabo. [Enligne]. <https://www.gazettelabo.fr/archives/pratic/1997/20mutatest.htm>. Consulté le : [25/05/2020].
- [91] Jing Y., Easter A., Peters D., Kim N., Enyedy I. J. In silico Prediction of hERG inhibition. *Future Medicinal Chemistry*. 2015 ; 7 (5) : 571-586. doi :10.4155/fmc.15.18.
- [92] Yu H., Zou B., Wang X., Li M. Investigation of miscellaneous hERG inhibition in large diverse compound collection using automated patch-clamp assay. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2016 ; 37 (1) : 111–123. doi: 10.1038/aps.2015.143.
- [93] Bensakhria A. Toxicologie Générale : Chapter II Toxicité Aiguë. 2018. 21-28 p.
- [94] Chikhi A., Bensegueni A. Comparative Study of the Efficiency of Three Protein-Ligand Docking Programs. *Journal of Proteomics and Bioinformatics*. 2008; 1: 161-165. doi : 10.4172/jpb.1000022.
- [95] 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 en Biochimie appliquée. Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2007.
- [96] Mokrani E. H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Thèse de magister en Technologie des explorations biochimiques. Université des Frères Mentouri Constantine-1, Algérie. 2012.
- [97] Sholler G. S., Currier E. A., Dutta A., Slavik M. A., Illenye S. A., Mendonca M. C. F., Dragon J., Roberts S. S., Bond J. P. PCI-24781 (abexinostat), a novel histone deacetylase inhibitor, induces reactive oxygen species-dependent apoptosis and is synergistic with
-

## Références bibliographiques

---

bortezomib in neuroblastoma. *Journal of Cancer Therapeutics & Research*. 2013 ; **2** :21. doi: 10.7243/2049-7962-2-21.

[98] Mandl-Weber S., Meinel F. G., Jankowsky R., Oduncu F., Schmidmaier R., Baumann P. The Novel Inhibitor of Histone Deacetylase Resminostat (RAS2410) Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis in Multiple Myeloma (MM) Cells. *British Journal of Haematology*. 2010 ; **149** : 518-528. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08124.x.

[99]Gupta S. P. Hydroxamic acids : a unique family of chemicals with multiple biological activities. Heidelberg : Springer, 2013. 111p

[100] Catley L., Weisberg E., Tai Y., Atadja P., Remiszewski S., Hideshima T., Mitsiades N., Shringarpure R., LeBlanc R., Chauhan D., Munshi N. C., Schlossman R., Richardson P., Griffin J., Anderson K. C. NVP-LAQ824 Is a Potent Novel Histone Deacetylase Inhibitor With Significant Activity Against Multiple Myeloma. *Blood*. 2003 ; **102**(7) : 2615-2622. doi: 10.1182/blood-2003-01-0233.

[101] Li Y., Zhao K., Yao C., Kahwash S., Tang Y., Zhang G., Patterson K., Wang Q., Zhao W. Givinostat, a Type II Histone Deacetylase Inhibitor, Induces Potent Caspase-Dependent Apoptosis in Human Lymphoblastic Leukemia. *Genes & Cancer*. 2016, **7**(9-10) : 292-300. doi: 10.18632/genesandcancer.117.

[102] Carol H., Gorlick R., Kolb E. A., Morton C. L., Manesh D. M., Keir S. T., Reynolds C. P., Kang M. H., Maris J. M., Wozniak A., Hickson I., Lyalin D., Kurmasheva R. T., Houghton P. J., Smith M. A., Lock R. Initial Testing (Stage 1) of the Histone Deacetylase Inhibitor, Quisinostat (JNJ-26481585), by the Pediatric Preclinical Testing Program. *Pediatric Blood & Cancer*. 2014 ; **61**(2) : 245-52. doi: 10.1002/pbc.24724.

[103] Kurmasheva R. T., Bandyopadhyay A., Favours E., Pozo V. D., Ghilu S., Phelps D. A., Erickson S. W., Peer C. J., Figg W. D., Smith M. A., Houghton P. J. Evaluation of Entinostat Alone and in Combination With Standard-Of-Care Cytotoxic Agents Against Rhabdomyosarcoma Xenograft Models. *Pediatric Blood & Cancer*. 2019 ; **66** (8): e27820. doi: 10.1002/pbc.27820.

[104] Kassis H., Shehadah A., Li C., Zhang Y., Cui Y., Roberts C., Sadry N., Liu X., Chopp M., Zhang Z. G. Class IIa Histone Deacetylases Affect Neuronal Remodeling and Functional

---

## Références bibliographiques

---

Outcome after Stroke. *Neurochemistry International*. 2016 ; **96**: 24–31. doi: 10.1016/j.neuint.2016.04.006.

[105] Butler K. V., Kalin J., Brovhier C., Vistoli G., Langley B., Kozikowski A. P. Rational design and simple chemistry Yield a superior, Neuroprotective HDAC6 Inhibitor, Tubastatin A. *Journal of the American Chemical Society*. 2010; **132** (31): 10842-10846. doi: 10.1021/ja102758v.

[106] Murahari S., Jalkanen A. L., Kulp S. K., Chen C. S., Modiano J. F., London C. A., Kisseberth W. C. Sensitivity of osteosarcoma cells to HDAC inhibitor AR-42 mediated apoptosis. *BioMed Central cancer*. 2017; **17** : 67. doi: 10.1186/s12885-017-3046-6.

[107] Huang H. L., Peng C. Y., Lai M. J., Chen C. H., Lee H. Y., Wang J. C., Liou J. P., Pan S. L., Teng C. M. Novel oral histone deacetylase inhibitor, MPT0E028, displays potent growth-inhibitory activity against human B-cell lymphoma in vitro and in vivo. *Oncotarget*. 2015, **6** (7): 4976–4991. doi: 10.18632/oncotarget.3213.

[108] Wu C. P., Lusvarghi S., Wang J. C., Hsiao S. H., Huang Y. H., Huang T. H., Ambudkar S. V. The Selective Class IIa Histone deacetylase Inhibitor TMP195 Resensitizes ABCB1- and ABCG2-Overexpressing Multidrug-Resistant Cancer Cells to Cytotoxic Anticancer Drugs. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; **21**: 238. doi: 10.3390/ijms21010238.

[109] Eyre T. A., Collins G. P., Gupta A., Coupe N., Sheikh S., Whittaker J., Wang L. M., Campo L., Soilleux E., Tysoe F., Cousins R., Thangue N. L., Folkes L. K., Stratford M. R. L., Kerr D., Middleton M. R. A phase 1 study to assess the safety, tolerability, and pharmacokinetics of CXD101 in patients with advanced cancer. *American Cancer Society Journals* .2018; **125**: 99-108. doi: 10.1002/cncr.31791.

[110] Pinkerneil M., Hoffmann M. J., Kohlhof H., Schulz W. A., Niegisch G. Evaluation of the therapeutic Potential of the Novel Isotype Specific HDAC Inhibitor 4SC-202 Urothelial Carcinoma Cell Lines. *Targeted oncology*. 2016; **11** (6) : 783-798. doi: 10.1007/s11523-016-0444-7.

[111] Minami J., Suzuki R., Mazitschek R., Gorgun G., Ghosh B., Cirstea D., Hu Y., Mimura N., Ohguchi H., Cottini F., Jakubikova J., Munshi N. C., Haggarty S. J., Richardson P. G.,

---

## Références bibliographiques

---

Hideshima T., Anderson K. C. Histone deacetylase 3 as a novel therapeutic target in multiple myeloma. *Leukemia*. 2014; **28** (3) : 680-689. doi: 10.1038/leu.2013.231.

[112] Cappellacci L., Perinelli D. R., Maggi F., Grifantini M. Recent Progress in Histone Deacetylase Inhibitors as Anticancer Agents. *Current Medicinal Chemistry*. 2018; **25** (15) : 2449-2493. doi: 10.2174/0929867325666181016163110.

[113] Kolbinger F. R., Koenke E., Ridinger J., Heimbürg T., Müller M., Bayer T., Sippl W., Jung M., Gunkel N., Miller A. K., Westermann F., Witt O., Oehme I. The HDAC6/8/10 inhibitor TH34 induces DNA damage-mediated cell death in human high-grade neuroblastoma cell lines. *Archives of toxicology*. 2018; **92** (8) : 2649–2664. doi: 10.1007/s00204-018-2234-8.

[114] Chou C. J., Herman D., Gottesfeld J. M. Pimelic Diphenylamine 106 Is a Slow, Tight-binding Inhibitor of Class I Histone deacetylase. *The Journal of Biological Chemistry*. 2008, **283** (51) : 35402-35409. doi: 10.1074/jbc.M807045200.

[115] Park J. H., Jung Y., Kim T. Y., Kim S. G., Jong H. S., Lee J. W., Kim D. K., Lee J. S., Kim N. K., Kim T. Y., Bang Y. J. Class I histone deacetylase-selective novel synthetic inhibitors potently inhibit human tumor proliferation. *Clinical Cancer Research*. 2004; **10** (15) : 5271-5281. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0709.

[116] Roy S., Pachman K., Jeffrey R., Tenniswood M. Histone deacetylase inhibitors differentially stabilize acetylated p53 and induce cell arrest or apoptosis in prostate cancer cells. *Cell Death and Differentiation*. 2005, **12** (5) : 482-491. doi: 10.1038/sj.cdd.4401581.

[117] Boskovic Z. V., Kemp M. M., Freedy A. M., Viswanathan V. S., Pop M. S., Fuller J. H., Martinez N. M., Figueroa Lazu S. O., Hong J. A., Lewis T. A., Calarese D., Love J. D., Vetere A., Almo S. C., Schreiber S. L., Koehler A. N. Inhibition of zinc-dependent histone deacetylases with a chemically triggered electrophile. *ACS Chemical Biology*. 2016, **11** (7) : 1844–1851. doi: 10.1021/acscchembio.6b00012.

[118] Wagner F. F., Zhang Y. L., Fass D. M., Joseph N., Gale J. P., Weïwer M., McCarren P., Fisher S. L., Kaya T., Zhao W. N., Reis S. A., Hennig K. M., Thomas M., Lemercier B. C., Lewis M. C., Guan J. S., Moyer M. P., Scolnick E., Haggarty S. J., Tsai L. H., Holson E. B. Kinetically selective inhibitors of histone deacetylase 2 (HDAC2) as cognition enhancers. *Chemical Science*. 2015; **6** (1): 804–815. doi: 10.1039/c4sc02130d.

---

## Références bibliographiques

---

- [119] Hsu C. W., Shou D., Huang R., Khuc T., Dai S., Zheng W., Klumpp-Thomas C., Xia M. Identification of HDAC inhibitors using a cell-based HDAC I/II assay. *Journal of biomolecular screening*.2016; **21** (6) : 643–652. doi: 10.1177/1087057116629381.
- [120] King K., Hauser A. T., Melesina J., Sippl W., Jung M. Carbamates as Potential Prodrugs and a New Warhead for HDAC Inhibition. *Molecules*.2018 ;**23** (2) : 321. doi : 10.3390/molecules23020321.
- [121] Hassig C. A., Symons K. T., Guo X., Nguyen P. M., Annable T., Wash P. L., Payne J. E., Jenkins D. A., Bonnefous C., Trotter C., Wang Y., Anzola J. V., Milkova E. L., Hoffman T. Z., Dozier S. J., Wiley B. M., Saven A., Malecha J. W., Davis R. L., Muhammad J., Shiau A. K., Noble S. A., Rao T. S., Smith N. D., Hager J. H. KD5170, a Novel Mercaptoketone-Based Histone Deacetylase Inhibitor That Exhibits Broad Spectrum Antitumor Activity in Vitro and in Vivo. *Molecular Cancer Therapeutics* .2008 ; **7** (5) : 1054-1065. doi : 10.1158/1535-7163.MCT-07-2347.
- [122] PPD. A randomised, multi-center, double blind, placebo-controlled study to assess the efficacy, safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of GSK3117391 in subjects with severe, active rheumatoid arthritis. The GlaxoSmithKline group of companies, Clinical Trials. Development phase: II.2017. document number: 2016N270377\_04. 2017.
- [123] Rettig I., Koeneke E., Trippel F., Mueller W. C., Burhenne J., Kopp-Schneider A., Fabian J., Schober A., Fernekorn U., Von Deimling A., Deubzer H. E., Milde T., Witt O., Oehme I. Selective Inhibition of HDAC8 Decreases Neuroblastoma Growth in vitro and vivo and Enhances Retinoic Acid-Mediated Differentiation. *Cell Death and Disease*.2015 ;**6** (2) : 1657. doi: 10.1038/cddis.2015.24.
- [124] Shearstone J. R., Golonzhka O., Chonkar A., Tamang D., van Duzer J. H., Jones S. S., Jarpe M. B. Chemical Inhibition of Histone Deacetylases 1 and 2 Induces Fetal Hemoglobin through Activation of GATA2. *Public Library of Science one*. 2016; **11** (4): e0153767. doi: 10.1371/journal.pone.0153767.
- [125] Wagner† F. F., Lundh M., Kaya T., McCarren P., Zhang Y. L., Chattopadhyay S., Gale J. P., Galbo T., Fisher S. L., Meier B. C., Vetere A., Richardson S., Morgan N. G., Christensen D. P., Gilbert T. J., Hooker J. M., Leroy M., Walpita D., Mandrup-Poulsen T., Wagner B. K., Holson E. B. An Isochemogenic Set of Inhibitors to Define the Therapeutic
-

## Références bibliographiques

---

Potential of Histone Deacetylases in  $\beta$ -Cell Protection. *American Chemical Society Chemical Biology*. 2016; **11** (2): 363–374. doi: 10.1021/acscchembio.5b00640.

[126] Lauffer B. E. L., Mintzer R., Fong R., Mukund S., Tam C., Zilberleyb I., Flicke B., Ritscher A., Fedorowicz G., Vallero R., Ortwine D. F., Gunzner J., Modrusan Z., Neumann L., Koth C. M., Lupardus P. J., Kaminker J. S., Heise C. E., Steiner P. Histone Deacetylase (HDAC) Inhibitor Kinetic Rate Constants Correlate with Cellular Histone Acetylation but Not Transcription and Cell Viability. *The Journal of Biological Chemistry*. 2013, **288** (37): 26926-26943. doi: 10.1074/jbc.M113.490706.

---





# **Annexes**



## Annexes

**Annexe 1** : Les valeurs de RMSD des 100 complexes protéine/ligand étudiés.

N°	Code PDB	Code ligand	RMSD (Å)
1	1AIM	ZYA	1.43
2	1DIF	A85	2.93
3	1DM2	HMD	4.17
4	1EB2	BPO	0.67
5	1G36	R11	1.17
6	1H35	R01	1.00
7	1HPX	KNI	2.92
8	1IDA	0PO	6.82
9	1IDB	0DO	6.89
10	1JS3	142	5.08
11	1K1I	FD1	1.19
12	1K1J	FD2	0.80
13	1K1L	FD3	0.71
14	1K1M	FD4	0.86
15	1K1N	CCR	2.21
16	1K1O	IGN	0.98
17	1K1P	MEL	0.74
18	1N7I	LY1	0.79
19	1N7J	IDI	0.89
20	1O6Q	R17	1.25
21	1OI9	N20	1.22
22	1RTH	U05	0.94
23	1RTI	HEF	1.36
24	1VRT	NVP	0.61
25	1YKR	628	0.40
26	1YZ3	SKA	0.77
27	1ZVX	FIN	0.72
28	2AN5	TTL	1.29
29	2FR6	CTN	0.53
30	2FS9	C4A	1.93
31	2G5P	ADF	3.41
32	2G70	HNT	0.96
33	2G71	FTS	0.71
34	2HBV	UN9	0.41
35	2I78	KIQ	1.29
36	2OBF	F83	0.51
37	2ONZ	TMJ	0.24
38	2OPB	F21	0.80
39	2OPH	277	0.62
40	2QDH	M2P	1.61
41	2QJR	PZF	3.31
42	2R4B	GW7	0.44

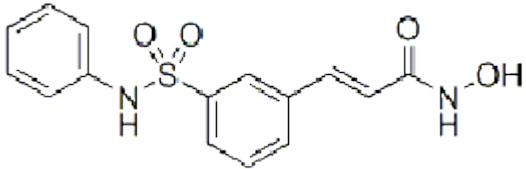
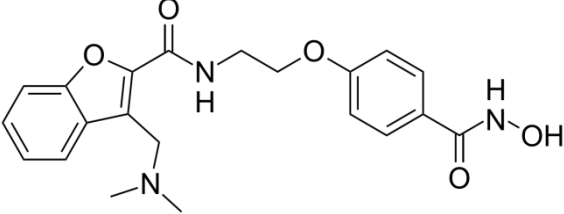
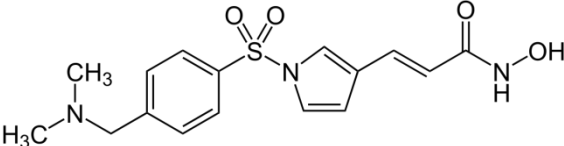
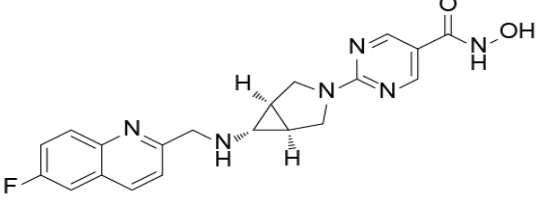
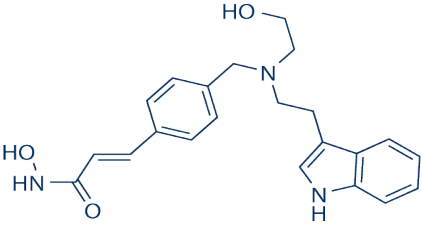
## Annexes

43	2RJP	886	0.98
44	2RJQ	BAT	2.18
45	2V35	J54	2.14
46	2XBU	5GP	0.61
47	2XEY	YVQ	1.54
48	2XF0	4UB	2.14
49	2Y9X	0TR	2.15
50	2YPU	I41	3.08
51	2ZJF	BSU	1.14
52	3C56	PH4	1.19
53	3DGQ	EAA	3.17
54	3EW8	B3N	3.43
55	4JBS	P52	2.92
56	4LXZ	SHH	4.40
57	4LY1	20Y	1.01
58	4QA0	SHH	2.77
59	4RNV	HBA	2.95
60	5BWZ	XCH	1.36
61	5DC5	B3N	1.69
62	5FCW	5YA	2.22
63	5IWG	IWX	0.13
64	5IX0	6EZ	0.13
65	5PZQ	93V	0.45
66	5Q00	95D	0.81
67	5WH5	R91	1.06
68	6BQ0	E3A	5.09
69	6CMR	5OD	0.51
70	6DJF	GNV	2.62
71	6DJG	GNJ	2.00
72	6DJH	GNM	2.73
73	6DJI	GOG	0.65
74	6HSK	GOK	1.38
75	6IMB	AH9	1.61
76	6IMD	AH9	1.45
77	6IMI	AH6	1.65
78	6IMO	AJL	1.68
79	6IMT	AK0	0.94
80	6IND	AKO	1.12
81	6INK	AKU	1.07
82	6INM	AKU	0.97
83	6MD7	JE1	0.62
84	6MD9	JEJ	0.61
85	6MDA	JED	0.35
86	6MDB	JE4	0.81
87	6MDC	JEA	0.66
88	6MDD	JE7	0.84
89	6O9X	M0S	2.47

## Annexes

90	6O9Y	M0V	3.41
91	6OA0	M1D	2.45
92	6OA1	M0P	1.87
93	6OA3	M0M	2.15
94	6OHP	MJV	0.99
95	6OHQ	MKA	0.96
96	6OHR	MKG	1.10
97	6OHS	MJY	0.50
98	6PZO	P6Y	3.15
99	6PZR	P7D	1.98
100	6Q0Z	P7V	0.89

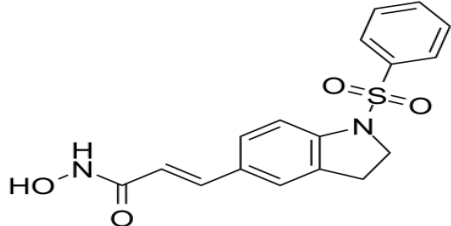
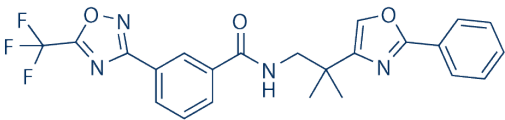
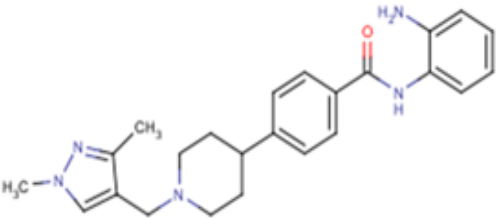
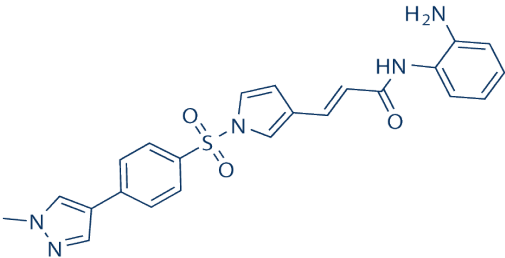
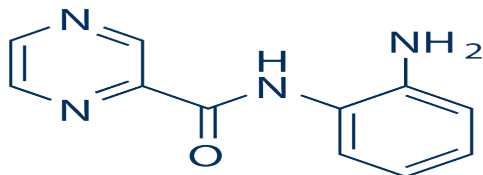
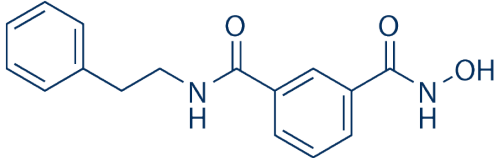
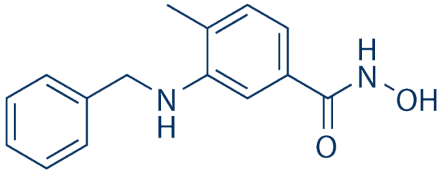
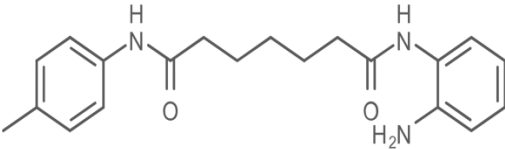
**Annexe 2 :** Les structures des 42 inhibiteurs de l'HDAC, les valeurs de leurs  $IC_{50}$ , leurs  $LogIC_{50}$  et leurs scores.

Composé	$IC_{50}$	Structure	$Log IC_{50}$	Score	Référence
1	0,02		-1.698970004	-9.35	[46]
2	0,083		-1.080921908	-8.97	[97]
3	0,043		-1.366531544	-8.26	[98]
4	0,003		-2.522878745	-11.16	[99]
5	0,1		-1	-8.76	[100]

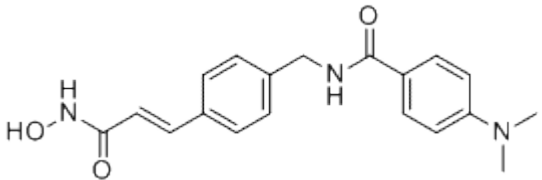
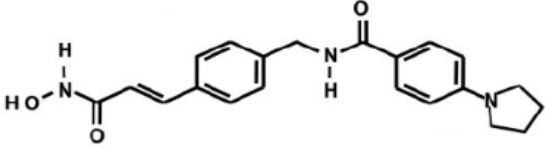
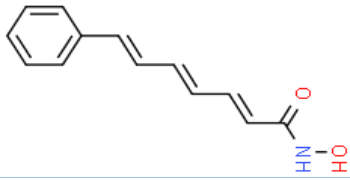
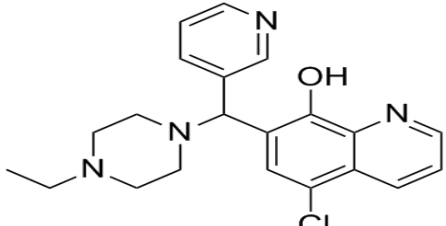
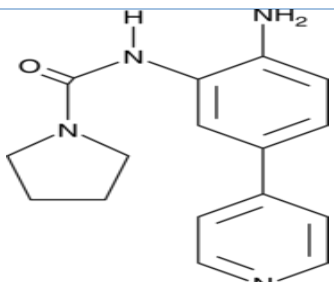
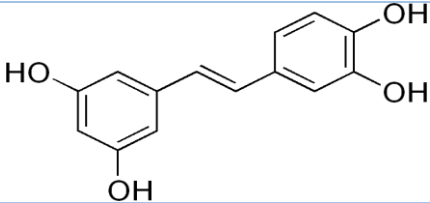
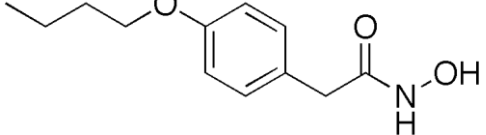
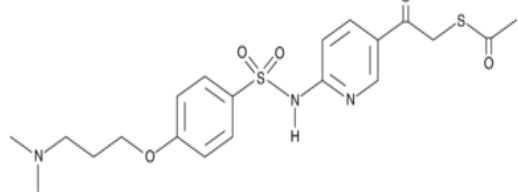
# Annexes

6	0,15		-0.82390874	-10.13	[101]
7	0.002		-2.698970004	-9.34	[102]
8	0.28		-0.552841968	-9.70	[103]
9	0.15		-0.82390874	-10.18	[42]
10	0,22		-0.657577319	-10.25	[104]
11	0.015		-1.823908741	-8.50	[105]
12	0.08		-1.096910013	-9.43	[42]
13	0.25		-0.602059991	-8.07	[106]

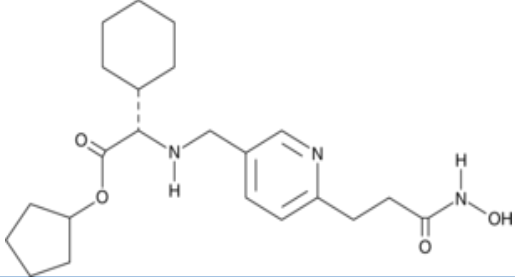
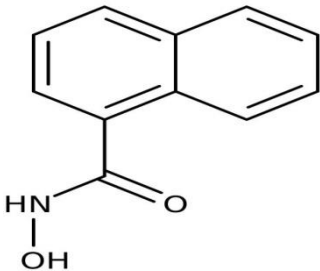
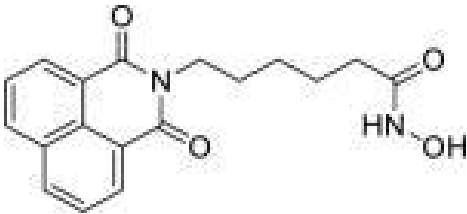
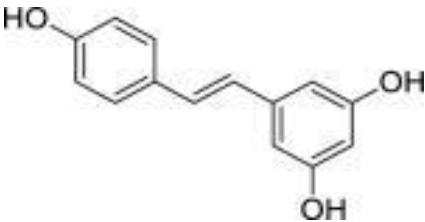
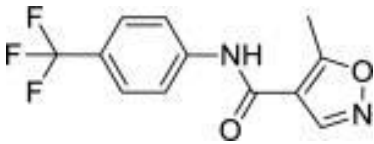
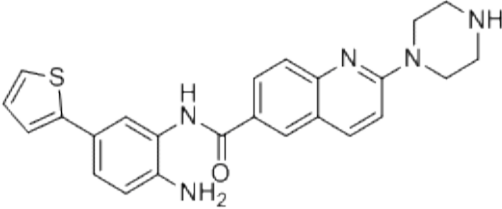
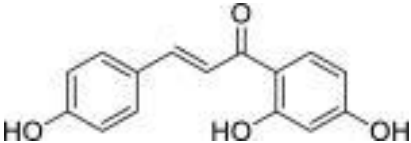
# Annexes

14	0.55		-0.25963731	-9.37	[107]
15	7,3		0.86332286	-8.70	[108]
16	0,063		-1.200659451	-10.15	[109]
17	0.15		-0.82390874	-10.32	[110]
18	0.289		-0.539102157	-7.61	[111]
19	0,036		-1.443697499	-8.76	[112]
20	1.9		0.278753601	-9.12	[113]
21	0,15		- 0.82390874	-8.75	[114]

## Annexes

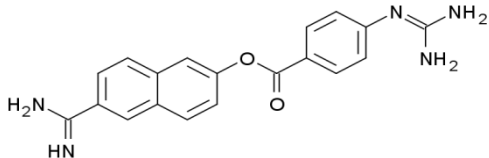
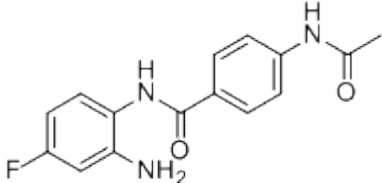
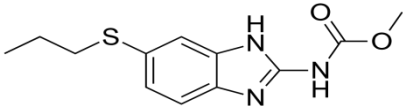
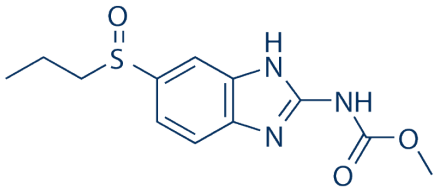
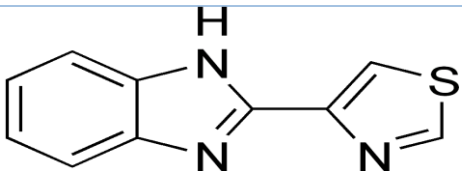
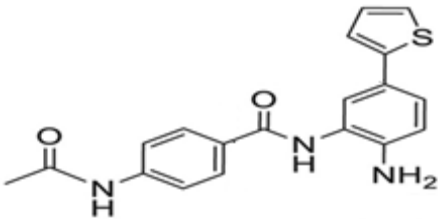
22	0.172		- 0.764471553	-9.78	[115]
23	0.205		- 0.688246138	-10.24	[115]
24	5		0.698970004	-7.78	[116]
25	0.8		- 0.096910013	- 8.61	[117]
26	0.052		- 1.283996656	-10.14	[118]
27	4,55		0.658011396	- 7.95	[119]
28	2,19		0.340444114	- 7.02	[120]
29	0.045		- 1.346787486	- 8.87	[121]

# Annexes

30	0,053		- 1.27572413	- 8.40	[122]
31	34		1.531478917	-5.86	[123]
32	1,52		0.181843587	- 8.03	[119]
33	2.66		0.424881636	- 7.90	[119]
34	5,49		0.739572344	- 6.61	[119]
35	0,007		- 2.15490196	- 12.08	[124]
36	2,25		0.352182518	- 8.93	[119]



## Annexes

37	0.07		- 1.15490196	- 9.46	[119]
38	0.064		- 1.193820026	- 8.48	[125]
39	9.44		0.974971994	- 8.42	[119]
40	3.76		0.575187844	- 8.60	[119]
41	2.98		0.474216264	- 7.46	[119]
42	0,056		-1.251811973	-11.17	[126]

**Annexe 3** : Numéro d'accèsion et le score des 250 Similaires

## Annexes

N°	CID	Score
S1	648602	-6.91
S2	5186884	-8.54
S3	15997068	-0.67
S4	22421750	-0.29
S5	24747069	-8.25
S6	44407934	-10.46
S7	72374405	-10.81
S8	77846923	-8.91
S9	90116219	-9.12
S10	90116306	-10.38
S11	2576377	-8.21
S12	15994172	-8.94
S13	134535347	-11.14
S14	134535516	-7.55
S15	135243170	-10.30
S16	136035063	-11.10
S17	136139441	-7.21
S18	136139446	-8.96
S19	136491047	-8.05
S20	136653330	-8.85
S21	90115717	-10.57
S22	90129632	-10.43
S23	90129690	+1.03
S24	90130199	-7.46
S25	90130214	+36.88
S26	90903534	-11.25
S27	91047420	-10.82
S28	134214912	-10.26
S29	134214913	-10.05
S30	134218272	-9.74
S31	69604361	-9.24
S32	69887239	-10.98
S33	70872186	+96.52
S34	70968950	-9.66
S35	71416123	-9.36
S36	71416124	-9.43
S37	71471233	-11.60
S38	72380774	-8.48
S39	76284594	-10.61
S40	89275107	-4.60
S41	69465734	-9.46
S42	69466844	-9.36
S43	69603739	-9.87
S44	69603982	-9.56
S45	69604022	-9.33
S46	69604024	-9.45

## Annexes

S47	69604064	-9.88
S48	69604127	-9.65
S49	69604129	-9.79
S50	69604161	-9.48
S51	59727253	-5.35
S52	59727381	-8.95
S53	59727524	-9.46
S54	67035243	+102.10
S55	67035480	-3.62
S56	67036047	-3.74
S57	68161063	-9.51
S58	68399069	-6.04
S59	68399852	-9.00
S60	68946809	-5.88
S61	58189564	-8.50
S62	58485232	-9.41
S63	58644258	-10.74
S64	58646155	-10.05
S65	58646183	-9.80
S66	58809404	-7.65
S67	58829612	-9.71
S68	58829730	-9.51
S69	59496732	-8.19
S70	59496736	-7.15
S71	57500690	-7.89
S72	57613091	-9.07
S73	57613106	-8.40
S74	57715898	-10.87
S75	57716188	-10.37
S76	57876731	-8.49
S77	57876807	-8.05
S78	57876810	-7.67
S79	57876941	-7.74
S80	57877102	-8.06
S81	15990854	-8.00
S82	15990878	-7.38
S83	15990929	-8.67
S84	23155701	-11.13
S85	23155728	-9.70
S86	25069716	-12.13
S87	25073933	-10.68
S88	44207253	-11.03
S89	44207951	-11.22
S90	45489176	-9.57
S91	3206671	-10.09
S92	3221675	-8.62
S93	3473207	-8.67

## Annexes

<b>S94</b>	143638388	-7.87
<b>S95</b>	143638395	-9.08
<b>S96</b>	143638455	-8.51
<b>S97</b>	143638482	-8.88
<b>S98</b>	144525514	-7.72
<b>S99</b>	144995736	-10.72
<b>S100</b>	145476373	-10.64
<b>S101</b>	87505052	-9.60
<b>S102</b>	87506409	-8.51
<b>S103</b>	89329412	-7.52
<b>S104</b>	122174576	-8.86
<b>S105</b>	123580769	-10.86
<b>S106</b>	123845208	-11.98
<b>S107</b>	139230975	-8.20
<b>S108</b>	141619408	-6.86
<b>S109</b>	142361802	-11.98
<b>S110</b>	143638336	-8.65
<b>S111</b>	20854584	-7.94
<b>S112</b>	22422404	-8.69
<b>S113</b>	22585805	-8.76
<b>S114</b>	46090801	-7.50
<b>S115</b>	46505215	-9.45
<b>S116</b>	69845696	-8.69
<b>S117</b>	69923762	-8.47
<b>S118</b>	69924794	-8.18
<b>S119</b>	71123789	-8.38
<b>S120</b>	72307890	-8.17
<b>S121</b>	1454308	-5.94
<b>S122</b>	1454328	+0.60
<b>S123</b>	3611476	-9.23
<b>S124</b>	4984445	-11.28
<b>S125</b>	5015428	-4.68
<b>S126</b>	5836497	-9.18
<b>S127</b>	6622051	-8.75
<b>S128</b>	11258496	-9.29
<b>S129</b>	16001893	-8.31
<b>S130</b>	20854565	-8.16
<b>S131</b>	2353132	-6.14
<b>S132</b>	3213284	-9.57
<b>S133</b>	3221081	-8.25
<b>S134</b>	3473206	-8.66
<b>S135</b>	3473214	-9.18
<b>S136</b>	3473215	-9.15
<b>S137</b>	3513321	-7.98
<b>S138</b>	3696472	-9.71
<b>S139</b>	3736559	-6.64
<b>S140</b>	3938447	-8.62

## Annexes

<b>S141</b>	4588937	-6.94
<b>S142</b>	6986269	-8.35
<b>S143</b>	7275552	-8.22
<b>S144</b>	7275553	-8.04
<b>S145</b>	7275554	-6.97
<b>S146</b>	7275555	-6.74
<b>S147</b>	7402585	-8.82
<b>S148</b>	16381882	-8.77
<b>S149</b>	16623344	-5.33
<b>S150</b>	22422084	-3.05
<b>S151</b>	22422159	-0.56
<b>S152</b>	22588125	-9.51
<b>S153</b>	24468017	-6.66
<b>S154</b>	24468022	-9.12
<b>S155</b>	24587913	-7.74
<b>S156</b>	24587928	-7.97
<b>S157</b>	24592307	-8.96
<b>S158</b>	24733389	-6.69
<b>S159</b>	24733399	-9.65
<b>S160</b>	24733548	-8.31
<b>S161</b>	24733552	-6.72
<b>S162</b>	24733564	-9.99
<b>S163</b>	25364357	-7.67
<b>S164</b>	26448373	-7.82
<b>S165</b>	28389425	-7.78
<b>S166</b>	28809478	-7.35
<b>S167</b>	29212782	-5.68
<b>S168</b>	30637020	-8.63
<b>S169</b>	33119813	-10.36
<b>S170</b>	37129677	-8.41
<b>S171</b>	39975927	-9.98
<b>S172</b>	40074626	-8.68
<b>S173</b>	40074643	-7.33
<b>S174</b>	40074645	-7.04
<b>S175</b>	42162216	-7.53
<b>S176</b>	42441972	-7.71
<b>S177</b>	42441979	-7.87
<b>S178</b>	42922119	-7.07
<b>S179</b>	43024863	-8.64
<b>S180</b>	43043237	-7.05
<b>S181</b>	45203376	-9.14
<b>S182</b>	45814776	-8.14
<b>S183</b>	46090798	-8.87
<b>S184</b>	46364133	-8.90
<b>S185</b>	46387349	-8.79
<b>S186</b>	46505216	-9.78
<b>S187</b>	51182633	-9.55

## Annexes

<b>S188</b>	55447185	-7.76
<b>S189</b>	55528358	-6.60
<b>S190</b>	55700832	-8.67
<b>S191</b>	55934925	-8.56
<b>S192</b>	56288513	-8.65
<b>S193</b>	56390135	-6.08
<b>S194</b>	56397789	-7.48
<b>S195</b>	56397917	-7.72
<b>S196</b>	56398313	-7.04
<b>S197</b>	56476446	-7.59
<b>S198</b>	56476469	-9.84
<b>S199</b>	56476836	-6.97
<b>S200</b>	56539009	-9.21
<b>S201</b>	60332437	-9.66
<b>S202</b>	60332525	-10.41
<b>S203</b>	60333031	-8.46
<b>S204</b>	60443411	-7.45
<b>S205</b>	60521502	-7.00
<b>S206</b>	60526988	-9.90
<b>S207</b>	62168422	-6.66
<b>S208</b>	63247864	-6.66
<b>S209</b>	66354624	-6.97
<b>S210</b>	71842378	-9.41
<b>S211</b>	75467658	-9.43
<b>S212</b>	76284595	-9.95
<b>S213</b>	86886558	-7.62
<b>S214</b>	91963544	-9.77
<b>S215</b>	91963552	-9.13
<b>S216</b>	91963817	-9.46
<b>S217</b>	91963822	-8.43
<b>S218</b>	92191327	-11.51
<b>S219</b>	108731265	-9.76
<b>S220</b>	108731292	-9.09
<b>S221</b>	108741597	-10.26
<b>S222</b>	108741624	-9.84
<b>S223</b>	110348558	-7.70
<b>S224</b>	110420497	-8.61
<b>S225</b>	112802309	-6.21
<b>S226</b>	112822799	-6.90
<b>S227</b>	113021728	-10.45
<b>S228</b>	113021742	-9.69
<b>S229</b>	113036298	-9.99
<b>S230</b>	113036311	-9.64
<b>S231</b>	119106749	-9.94
<b>S232</b>	129906666	-7.13
<b>S233</b>	132486077	-9.38
<b>S234</b>	133273011	-8.85

## Annexes

---

<b>S235</b>	133273088	-7.25
<b>S236</b>	133278505	-8.66
<b>S237</b>	133278512	9.15
<b>S238</b>	133285280	-10.64
<b>S239</b>	133307314	-9.05
<b>S240</b>	133307484	-8.12
<b>S241</b>	133307575	-8.14
<b>S242</b>	133741868	-8.60
<b>S243</b>	133741898	-9.50
<b>S244</b>	133782290	-8.87
<b>S245</b>	133792946	-9.51
<b>S246</b>	133990366	-8.70
<b>S247</b>	134711881	-9.51
<b>S248</b>	135955245	-7.51
<b>S249</b>	136119758	-9.93
<b>S250</b>	137278369	-10.00

---



# Résumé





### Résumé

Les modifications épigénétiques telles que la désacétylation des histones jouent un rôle important dans la régulation de nombreux processus biologiques comme l'expression génique afin de définir et maintenir les différentes fonctions cellulaires. Dans ce contexte, l'altération de l'activité des histones désacétylases (les HDACs) joue un rôle crucial dans l'acquisition et la progression d'une variété de maladies. Ainsi, moduler l'activité de ces enzymes via divers inhibiteurs pourrait permettre une re-programmation génétique, en faveur, entre autres, d'un programme anti-prolifératif et pro-apoptotique des cellules anormales.

Dans ce travail, nous avons fait appel aux approches par docking moléculaire avec le programme AutoDock afin de développer *in silico* de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'histone désacétylase. Dans un premier temps, nous avons testé la fiabilité du programme de docking utilisé par le biais de trois tests différents. Puis, un criblage virtuel d'une collection de 250 similaires chimiques du composé **X35** nous a permis de révéler le composé **S86**, qui a subi par la suite une série de modifications structurales révélant le composé **B21** comme nouveau inhibiteur avec des propriétés ADMET acceptables.

**Mots clés :** Docking moléculaire, AutoDock, Affinité, Inhibiteur, Histone désacétylase.

---

### Abstract

Epigenetic modifications such as histone deacetylation play an important role in the regulation of many biological processes such as gene expression, in order to define and maintain the different cellular functions. That is why the alteration of the activity of histone deacetylases (HDACs) plays a crucial role in the acquisition and progression of various diseases. Thus, modulating the activity of these enzymes via various inhibitors could allow genetic re-programming, in favor, among other things, of an anti-proliferative and pro-apoptotic program for abnormal cells.

In this work, we have used molecular docking approaches with the AutoDock program in order to propose and develop *in silico* new potential inhibitors of histone deacetylase. First, we tested the reliability of the docking program used by three different tests. Then, a virtual screening of a collection of 250 similar chemicals of the compound **X35** allowed us to identify the compound **S86**, which subsequently underwent a series of structural modifications revealing the compound **B21** as a new inhibitor with acceptable ADMET properties.

**Key Words :** Molecular Docking, AutoDock, Affinity, Inhibitor , Histone deacetylase.

---

### الملخص

تلعب التعديلات الجينية مثل تعديلات الهستون دورًا هامًا في تنظيم العديد من العمليات البيولوجية مثل التعبير الجيني من أجل التحديد والحفاظ على الوظائف الخلوية المختلفة. هذا ما يفسر دور تغيير نشاط الهستون ديستيلاز (HDAC) في اكتساب وتقديم مجموعة متنوعة من الأمراض. وبالتالي، فإن تعديل نشاط هذه الإنزيمات من خلال مثبطات مختلفة يمكن أن يسمح بإعادة البرمجة الجينية، لصالح، من بين أمور أخرى، برنامج مضاد للتكاثر ومؤيد لاستماتة الخلايا الغير طبيعية.

في هذا العمل استخدمنا مناهج الالتحام الجزيئي مع برنامج Autodock من أجل إقتراح و تطوير مثبطات محتملة جديدة للهستون ديستيلاز. أولاً، للتأكد من موثوقية البرنامج المستخدم، إتمدنا على ثلاثة اختبارات مختلفة. بعد ذلك، سمح لنا الفحص الافتراضي لمجموعة من 250 مادة كيميائية مشابهة للمركب X35 بتحديد المركب S86، الذي خضع لاحقاً لسلسلة من التعديلات الهيكلية من أجل الكشف عن المركب B21 كمثبط جديد بخصائص ADMET مقبولة.

**الكلمات المفتاحية:** الالتحام الجزيئي، Autodock، درجات التقارب، مثبط، إنزيم هستونديستيلاز.

Année universitaire : 2019/2020

Présenté par : HAMLAOUI Malak

BOUAICHE Rayane

## Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'HDAC pour le traitement des maladies associées à une dérégulation transcriptionnelle

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

### Résumé

Les modifications épigénétiques telles que la désacétylation des histones jouent un rôle important dans la régulation de nombreux processus biologiques comme l'expression génique afin de définir et maintenir les différentes fonctions cellulaires. Dans ce contexte, l'altération de l'activité des histones désacétylases (les HDACs) joue un rôle crucial dans l'acquisition et la progression d'une variété de maladies. Ainsi, moduler l'activité de ces enzymes via divers inhibiteurs pourrait permettre une re-programmation génétique, en faveur, entre autres, d'un programme anti-prolifératif et pro-apoptotique des cellules anormales.

Dans ce travail, nous avons fait appel aux approches par docking moléculaire avec le programme AutoDock afin de développer *in silico* de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'histone désacétylase. Dans un premier temps, nous avons testé la fiabilité du programme de docking utilisé par le biais de trois tests différents. Puis, un criblage virtuel d'une collection de 250 similaires chimiques du composé **X35** nous a permis de révéler le composé **S86**, qui a subi par la suite une série de modifications structurales révélant le composé **B21** comme nouveau inhibiteur avec des propriétés ADMET acceptables.

**Mots clés :** Docking moléculaire, AutoDock, Affinité, Inhibiteur, Histone désacétylase.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de Biochimie appliquée.

### Jury d'évaluation :

**Président du jury:** Mr. BENSEGUENI A. (Professeur -UFM Constantine 1).

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

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

Date de soutenance : 25/08/2020