



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantin 1

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Biochimie Appliquée*

Intitulé :

Recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la Nicotinamide Phosphoribosyltransférase pour le traitement du cancer colorectal

Présenté et soutenu par :

Le : 13/09/2020.

- BOULFELFEL Sandra
- DJEGHROUD Batoul

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr. BENSEGUENI A

Pr. Université des Frères Mentouri Constantine1

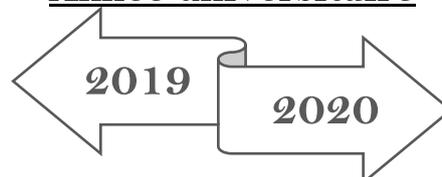
Rapporteur : Mr. CHIKHI A

Pr. Université des Frères Mentouri Constantine1

Examinatrice : Mme. TENIOU S

M.A. A. Université des Frères Mentouri Constantine1

Année universitaire



Remerciements

((الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي بِنِعْمَتِهِ تَتِمُّ الصَّالِحَاتُ))

Tout d'abord, nous remercions « **ALLAH** » pour nous avoir donné la santé, la volonté et le courage pour poursuivre et réussir nos études, ainsi que la force pour dépasser toutes les difficultés, merci de nous avoir guidé et d'être toujours avec nous.

En second lieu nous offrons de sincères et chaleureux remerciements à notre encadreur **Mr CHIKHI A.** Professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1 pour sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi que pour l'orientation, la confiance, la patience et le temps qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené à bon port.

Nous avons le plaisir d'exprimer notre profond remerciement à **Mr BENSEGUENI A.** Professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de soutenance.

Nos vifs remerciements vont également à **Mme TENIOU S.** Maître assistante « A » à l'Université Frères Mentouri Constantine -1 pour avoir bien voulu accepter d'examiner ce travail, et de l'enrichir par ses propositions.

Afin de n'oublier personne, nos vifs remerciements s'adressent à tous ceux qui ont permis que ce travail voie le jour, qu'ils soient assurés de notre profonde reconnaissance.

Dédicace

Je dédie ce travail :

En premier lieu à mes très chers parents, pour leur soutien pendant toute ma vie et leurs prières tout au long de mes études, car aucun mot ne pourra exprimer ma haute gratitude et profonde affection.

À mes très chers frères : **Hakim, Hamza et Ramzi**, pour leurs amours et leurs encouragements.

À Mes adorables neveux : **Abd el moumen** et **Anes**.

À mon très cher ami **Mohamed** avec qui j'ai une grande amitié et qui a partagé avec moi tous les moments émotionnels durant cette période de travail.

À ma cousine **Rania** qui a toujours été avec moi. Je vous souhaite un avenir radieux.

À mes amies avec lesquelles j'ai vécu de beaux moments au cours de mon cursus à l'université :

Houda, Amira et Linda.

À Mon binôme **Batoul** pour son soutien et qui a partagé avec moi les bons et les mauvais moments durant ce travail.

Sandra

Dédicace

Je dédie ce travail à :

À mes très chers parents.

Aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur la gratitude, l'amour que je vous porte, et ma considération pour les innombrables sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien, l'amour, et l'encouragement qui m'ont toujours donné la force pour persévérer et pour prospérer dans la vie.

À mon adorable sœur **Imene** et mes chers frères : **Abd El Raouf**, **Younes Abd El Djalil** et **El Mouine Billah Sadjed** qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.

À ma grande mère paternelle et mon grand-père maternel, qui m'ont accompagné par leurs prières, leur douceur, que Dieu les prêter une longue vie, de bonheur et beaucoup de santé.

À mon oncle Amar. Aucune expression ne pourrait exprimer à sa juste valeur, le respect et l'estime que je vous dois.

À mes amies : **Rayane**, **Yousra**, **Amira** et **Nourhane Malak** ... En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Je vous souhaite tout un avenir plein de succès

À mon cher binôme **Sandra** pour tout ce qu'elle a fait pour réussir ce travail. Un grand MERCI à vous.

Batoul

Résumé

Le docking moléculaire est devenu un élément commun important de la boîte à outils de découverte de médicaments. Il est utilisé pour prédire comment une protéine (enzyme) interagit avec de petites molécules (ligands) afin d'améliorer ou d'inhiber sa fonction biologique. Nous avons utilisé cette technique, réalisée par l'intermédiaire du programme Surflex, pour le développement de nouveaux inhibiteurs de la NAMPT : une nouvelle cible thérapeutique pour le traitement du cancer colorectal. Avec un taux de 82% de valeurs de RMSD inférieures à 2 Å et un coefficient de corrélation de -0.74, les performances du programme Surflex sont avérées. Un criblage virtuel de 302 similaires de notre ligand de référence 2HJ ($4,81 \text{ M}^{-1}$), téléchargés de la Pubchem, nous a permis de sélectionner les 5 meilleurs composés avec des affinités supérieures à 6 M^{-1} . Ensuite le docking moléculaire d'une collection de 65 composés issus de la mono-substitution et 52 issus de la bi-substitution a fait ressortir les composés 33, 51, 67 et 74 avec des affinités respectives de $8,79 \text{ M}^{-1}$; $8,68 \text{ M}^{-1}$; $10,78 \text{ M}^{-1}$; $9,64 \text{ M}^{-1}$ largement supérieures à celle du meilleur similaire ($6,83 \text{ M}^{-1}$). Enfin l'évaluation des différentes propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques nous a permis de proposer les composés 33, 51 et 67 comme de nouveaux inhibiteurs potentiellement puissants envers la NAMPT.

Mots clés : NAMPT, Cancer colorectal, Surflex, Docking moléculaire, Inhibiteur.

Abstract

Molecular docking has become an important common part of the drug discovery toolkit. It is used to predict how a protein (enzyme) interacts with small molecules (ligands) to enhance or inhibit its biological function. We have used this technique, performed through the Surflex program, for the development of novel NAMPT inhibitor: a novel therapeutic target for the treatment of colorectal cancer. With a rate of 82% of RMSD values less than 2 Å and a correlation coefficient of -0.74, the performance of the Surflex program is proven. A virtual screening of 302 similars of our reference ligand 2HJ (4.81 M⁻¹), downloaded from Pubchem, allowed us to select the following 5 best compounds with higher affinities at 6 M⁻¹. Then the molecular docking of a collection of 65 compounds resulting from mono-substitution and 52 resulting from bi-substitution revealed compounds 33, 51, 67 and 74 with respective affinities of 8.79 M⁻¹ ; 8.68 M⁻¹ ; 10.78 M⁻¹ ; 9.64 M⁻¹ significantly higher than that of the best similar (6.83 M⁻¹). Finally, the evaluation of the various physicochemical and pharmacokinetic properties enabled us to propose compounds 33, 51 and 67 as new potentially potent inhibitors against NAMPT.

Key Words: NAMPT, colorectal cancer, Surflex, Molecular Docking, Inhibitor.

الملخص

أصبح الالتحام الجزيئي جزءاً مشتركاً ومهماً في مجموعة أدوات اكتشاف الدواء. حيث يتم استخدامه للتنبؤ بكيفية تفاعل البروتين (الإنزيم) مع الجزيئات الصغيرة (الروابط) لتعزيز أو تثبيط وظيفته البيولوجية. لقد استخدمنا هذه التقنية، التي تم تنفيذها من خلال برنامج Surflex لتطوير مثبطات جديدة لإنزيم NAMPT : هدف علاجي جديد لعلاج سرطان القولون والمستقيم.

تم اثبات أداء برنامج Surflex بمعدل 82% من قيم RMSD لأقل من 2 Å ومعامل ارتباط مقدر بـ 0.74 .

سمح لنا الفحص الافتراضي ل 302 جزيئة مشابهة للمثبط المرجعي 2HJ (M-1 4.81) تم تنزيلها من Pubchem باختيار أفضل 5 مركبات مع ارتباطات أكبر من 6 M-1. ثم أدى الالتحام الجزيئي لمجموعة من 65 مركبا من الاستبدال الأحادي و 52 من الاستبدال الثنائي الى اخراج المركبات 74.67.51.33 مع ارتباطات كل منها M-1 8.79 :M-1 8.68 :M-1 10.78 ;M-1 9.64 أعلى بكثير من أفضل مماثل (M-1 6.83).

أخيراً، مكننا تقييم الخصائص الفيزيائية والكيميائية المختلفة والحركية الدوائية من اقتراح المركبات 33 و 51 و 67 كمثبطات محتملة جديدة و قوية ضد NAMPT .

الكلمات المفتاحية : NAMPT, سرطان القولون والمستقيم , Surflex, الالتحام الجزيئي، المثبط.

Table des matières

Résumé.....	I
Liste des figures	IV
Liste des tableaux.....	VI
Liste des abréviations.....	VII

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

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

CHAPITRE 1 : LE CANCER COLORECTAL

1. Le cancer colorectal.....	3
2. Épidémiologie	3
2.1. Dans le monde.....	3
2.2. En Algérie	4
3. Les symptômes.....	4
4. Les facteurs de risques.....	5
4.1. Les facteurs de risque de cancer colorectal non modifiables.....	5
4.1.1. Age et sexe.....	5
4.1.2. Facteurs héréditaires et génétiques.....	6
4.1.3. Antécédents personnels.....	6
4.1.4. Lésions locales.....	6
4.1.5. L'infection par certaines bactéries	6
4.2. Les facteurs de risque de cancer colorectal modifiables.....	6
5. Les stades de cancer colorectal selon la classification TNM.....	7
6. Traitement	10
6.1. La chirurgie	11
6.2. La chimiothérapie	11
6.3. La radiothérapie.....	13
6.4. Les thérapies ciblées	14

CHAPITRE 2 : LA NICOTINAMIDE PHOSPHORIBOSYLTRANSFERASE

1. NAMPT.....	15
2. Structure du NAMPT.....	16
3. Physiologie de NAMPT.....	19
3.1. Facteur de croissance.....	19
3.2. Cytokine.....	20
3.3. Nicotinamide phosphoribosyltransferase.....	20
4. Mécanismes d'action.....	21
4.1. Le mécanisme d'action du NAMPT dans le cancer.....	21
4.1.1. Dans le cancer colorectal.....	22
5. Les inhibiteurs de NAMPT	23

5.1.	FK866.....	23
5.2.	CHS 828.....	24

CHAPITRE 3 : DOCKING MOLECULAIRE

1.	Introduction	25
2.	Le docking moléculaire.....	28
2.1.	Principe.....	26
2.2.	Types de Docking.....	27
3.	Les interactions protéine-ligand	28
3.1.	Les interactions de Van Der Waals.....	28
3.2.	La liaison hydrogène.....	29
3.3.	Les liaisons ioniques	29
3.4.	Les interactions hydrophobes	30
3.5.	Interactions électrostatiques	30
4.	Les outils du docking moléculaire	31
4.1.	Les récepteurs	31
4.2.	Les ligands.....	31
4.3.	Programmes de docking moléculaire.....	32

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE 4 : MATERIELS ET METHODES

I.	Matériel	33
1.	Micro-ordinateur.....	33
2.	Le réseau internet.....	33
3.	Banques de données PDB.....	33
3.1.	PDB (PROTEIN DATA BANK).....	33
3.2.	Pubchem.....	33
3.3.	Drugbank	34
4.	Les programmes.....	34
4.1.	Arguslab version 4.0.1.....	34
4.2.	Open Babel version 2.4.2.....	34
4.3.	Surflex version 1.3 (2005).....	34
4.4.	MSViewer version 4.2.0.0.....	34
4.5.	Biovia Discovery studio visualizer.....	35
4.6.	Chem3D Professional 17.1	35
4.7.	Serveur ADME/T lab.....	35
4.8.	Excel Microsoft 2013.....	35
II.	Méthodes.....	35
1.	Préparation des molécules au docking moléculaire.....	35

1.1.	Choix de l'enzyme.....	35
1.2.	Préparation des protéines.....	36
1.3.	Préparation des ligands.....	36
2.	Protocole de docking par Surflex.....	36
3.	Les tests de fiabilité du programme Surflex.....	37
3.1.	Le RMSD ou l'écart quadratique moyen.....	37
3.2.	Coefficient de corrélation linéaire (r).....	38
4.	Le choix du complexe 4N9D.....	38
5.	Identification de nouveaux inhibiteurs théoriques de la NAMPT.....	40
5.1.	Criblage virtuel d'une collection de similaires.....	40
6.	La modélisation moléculaire par substitution.....	41
7.	Filtrage ADME/Tox.....	42
7.1.	Propriétés physico-chimiques.....	42
7.2.	Propriétés pharmacocinétiques.....	43
7.3.	Toxicité.....	44

CHAPITRE 5 : RESULTATS ET DISCUSSION

1.	Introduction.....	45
2.	L'évaluation du programme de docking utilisé.....	45
2.1.	Le test RMSD (Root Mean Square Deviation.....)	45
2.2.	Test de corrélation linéaire.....	48
2.3.	Conclusion.....	50
3.	Recherche de nouveaux inhibiteurs du nicotinamide phosphoribosyltransferase.....	51
3.1.	Le criblage virtuel des similaires.....	51
3.1.1.	Application de la règle de Lipinski sur les 20 meilleurs similaires.....	54
3.1.2.	L'analyse visuelle et discussion des interactions.....	55
3.2.	Essais de modélisation moléculaire.....	65
3.2.1.	Mono substitution.....	66
3.2.2.	Bi substitution.....	68
3.2.3.	L'analyse visuelle et discussion des interactions.....	70
4.	L'évaluation des propriétés ADMET.....	76
4.1.	Propriétés physico-chimiques.....	77
4.2.	Propriétés pharmacocinétiques.....	79
4.3.	Toxicité.....	81
4.4.	Conclusion.....	82

Conclusion et perspectives.....	83
--	-----------

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure N°1 : Structures chimiques des molécules du protocole FOLFOX.....	11
Figure N°2 : Structure chimique de l'irinotécan (Campto™).....	12
Figure N°3 : Structure chimique de la capécitabine (XELODA™).....	13
Figure N°4 : Structure chimique du tégafur (UFT™).....	13
Figure N°5 : Structures chimiques des molécules de la chimiothérapie de deuxième ligne.....	13
Figure N°6 : l'implication de NAMPT dans la biosynthèse du NAD.....	15
Figure N°7 : Le rôle de l'iNAMPT et eNAMPT dans la synthèse du NAD.....	16
Figure N°8 : Emplacement et structure du gène du nicotinamide phosphoribosyltransferase.....	17
Figure N°9 : Structure de NAMPT.....	18
Figure N°10 : Autophosphorylation de NAMPT.....	19
Figure N°11 : les principales voies de signalisation déclenchées par l'eNAMPT.....	21
Figure N°12 : Rôle du NAMPT dans la prolifération des cellules CRC humaines par la régulation de la signalisation Wnt / β -caténine.....	22
Figure N°13 : Docking protéine-ligand.....	26
Figure N°14 : Principe général d'un programme de docking.....	27
Figure N°15 : Les forces de Van Der Waals.....	28
Figure N°16 : La liaison Hydrogène.....	29
Figure N°17 : Les liaisons ioniques.....	29
Figure N°18 : les interactions hydrophobes.....	30
Figure N°19 : Interactions électrostatiques.....	30
Figure N°20 : Utilisation des différents logiciels de docking.....	30
Figure N°21 : les différentes valeurs de r.....	38
Figure N°22 : Structure tridimensionnelle du complexe 4N9D.....	39
Figure N°23 : Représentation du ligand 2HJ (a) 3D (b) 2D.....	39
Figure N°24 : Représentation du complexe 4N9D-2HJ.....	40
Figure N°25 : les groupements ajoutés lors de la substitution.....	41
Figure N°26 : Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles obtenus par Surfex.....	47
Figure N°27 : Histogramme en % des valeurs de RMSD à divers intervalles.....	47
Figure N°28 : Visualisation des différents résultats RMSD.....	49
Figure N°29 : Courbe de corrélation linéaire entre Log IC50 des 40 inhibiteurs et leurs affinités.....	51

<u>Figure N°30</u> : Visualisation du composé A au sein du site actif de l'enzyme NAMPT.....	56
<u>Figure N°31</u> : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé A avec le site actif de la NAMPT.....	57
<u>Figure N°32</u> : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé A en schéma 2D.....	57
<u>Figure N°33</u> : Visualisation du composé B au sein du site actif de l'enzyme NAMPT.....	58
<u>Figure N°34</u> : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé B avec le site actif de la NAMPT.....	59
<u>Figure N°35</u> : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé B en schéma 2D.....	59
<u>Figure N°36</u> : Visualisation du composé C au sein du site actif de l'enzyme NAMPT.....	60
<u>Figure N°37</u> : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé C avec le site actif de la NAMPT.....	61
<u>Figure N°38</u> : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé C en schéma 2D.....	61
<u>Figure N°39</u> : Visualisation du composé D au sein du site actif de l'enzyme NAMPT.....	62
<u>Figure N°40</u> : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé D avec le site actif de la NAMPT.....	63
<u>Figure N°41</u> : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé D en schéma 2D.....	63
<u>Figure N°42</u> : Visualisation du composé E au sein du site actif de l'enzyme NAMPT.....	64
<u>Figure N°43</u> : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé E avec le site actif de la NAMPT.....	65
<u>Figure N°44</u> : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé E en schéma 2D.....	65
<u>Figure N°45</u> : structure de base du composé (59672742).....	67
<u>Figure N°46</u> : structure de base du meilleur composé mono substitué.....	69
<u>Figure N°47</u> : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé 33 avec le site actif du NAMPT.....	71
<u>Figure N°48</u> : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé 33 en schéma 2D.....	71
<u>Figure N°49</u> : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé 67 avec le site actif du NAMPT.....	72
<u>Figure N°50</u> : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé 67 en schéma 2D.....	73
<u>Figure N°51</u> : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé 74 avec le site actif du NAMPT.....	74
<u>Figure N°52</u> : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé 74 en schéma 2D.....	74
<u>Figure N°53</u> : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé 77 avec le site actif du NAMPT.....	76
<u>Figure N°54</u> : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé 77 en schéma 2D.....	76

Liste des tableaux

<u>Tableau N°1</u> : Signification de la catégorie T selon la classification TNM.....	7
<u>Tableau N°2</u> : Signification de la catégorie N selon la classification TNM.....	8
<u>Tableau N°3</u> : Signification de la catégorie M selon la classification TNM.....	8
<u>Tableau N°4</u> : Groupement par stade selon la classification TNM.....	9
<u>Tableau N°5</u> : Caractérisation du composé FK866 inhibiteur de la NAMPT.....	23
<u>Tableau N°6</u> : Caractérisation du composé CHS 828 inhibiteur de la NAMPT.....	24
<u>Tableau N°7</u> : Les programmes de Docking moléculaire.....	32
<u>Tableau N°8</u> : Les caractéristiques de la 4N9D.....	39
<u>Tableau N°9</u> : Les caractéristiques pharmacologiques du ligand 2hj.....	40
<u>Tableau N°10</u> : Valeurs de RMSD des trois complexes étudiés.....	47
<u>Tableau N°11</u> : Les 40 inhibiteurs de la NAMPT ainsi leurs affinités.....	49
<u>Tableau N°12</u> : Les 20 meilleurs similaires, leurs affinités et leurs structures.....	51
<u>Tableau N°13</u> : Les paramètres de la règle de cinq de Lipinski des 20 meilleurs similaires.....	54
<u>Tableau N°14</u> : Les liaisons hydrogènes établies par le composé A avec le site actif.....	57
<u>Tableau N°15</u> : Les liaisons hydrogènes établies par le composé B avec le site actif.....	59
<u>Tableau N°16</u> : Les liaisons hydrogènes établies par le composé C avec le site actif.....	61
<u>Tableau N°17</u> : Les liaisons hydrogènes établies par le composé D avec le site actif.....	63
<u>Tableau N°18</u> : Les liaisons hydrogènes établies par le composé E avec le site actif.....	65
<u>Tableau N°19</u> : Structure et affinité des 65 composés issus de la mono-substitution.....	66
<u>Tableau N°20</u> : Structure et affinité des 52 composés issus de la bi-substitution.....	68
<u>Tableau N°21</u> : Les liaisons hydrogène établies par le composé 33 avec le site actif.....	71
<u>Tableau N°22</u> : Les liaisons hydrogène établies par le composé 67 avec le site actif.....	72
<u>Tableau N°23</u> : Les liaisons hydrogène établies par le composé 74 avec le site actif.....	74
<u>Tableau N°24</u> : Les liaisons hydrogène établies par le composé 77 avec le site actif.....	76
<u>Tableau N°25</u> : les règles appliquées lors de l'évaluation des propriétés physico-chimiques.....	77
<u>Tableau N°26</u> : Propriétés physicochimiques.....	78
<u>Tableau N°27</u> : Propriétés pharmacocinétiques.....	79
<u>Tableau N°28</u> : Résultats de la toxicité.....	81

Liste des abréviations

2D : Deux dimensions.

3D : Trois dimensions.

5-FU : 5-fluorouracil.

Å : Angström.

AA : Acid aminé.

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

ADN : Acide DésoxyriboNucléotide.

ADNc : Acide DésoxyriboNucléotide complémentaire.

ARN : Acide Ribonucléique.

ARNm : Acide Ribonucléique messenger.

ATP : Adenosine Triphosphate.

BBB : Blood-Brain Barrier.

CCR : Cancer Colorectal.

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer.

CYP : Cytochrome P.

Da : Dalton.

DL50 : Dose létale médiane.

EGFR : Epithelial Growth factor Receptor.

eNAMPT : Nicotinamide Phosphoribosyltransferase extracellulaire.

HUGO : HUMAN Genome Organisation.

hERG : Human Ether-à-go-go-Related Gene.

H-HT : Human Hepatotoxicity

HIA : Human Intestinal Absorption.

IC50 : Inhibitory Concentration 50%.

IL : Interleukine.

iNAMPT : Nicotinamide Phosphoribosyltransferase intracellulaire.

kDa : Kilo Dalton.

LLNA : Local Lymph Node Assay.

Log D : Coefficients de distribution.

Log P : Coefficients de partage.

NAD : Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

NAMPT/ NAPRTase : Nicotinamide Phosphoribosyltransferase.

NMN : Nicotinamide Mononucléotides.

nM : Nano Molaire.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PAF : Polypose Adénomateuse Familiale.

PARP : poly (ADP-ribose) polymérase.

PBEF : Pre-B cell-Enhancing Factor.

PDB : Protein Data Bank.

PM : Poids Moléculaire.

PPS : programme personnalisé de soins.

r : Coefficient de corrélation linéaire.

PRPP : 5-phosphoribosyl 1-pyrophosphate.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

RMSD : Root Mean Square Deviation

ROS : Reactive Oxygen Species.

SIRT : sirtuines.

SNC : système nerveux central.

TNF α : Tumor Necrosis Factor α .

TNM : Tumor, Nodes, Metastasis.

TPSA : Surface Polaire Topologique.

UICC : Union Internationale Contre le Cancer.

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor.

Wnt : Wingless-type MMTV integration site family member.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Actuellement, le cancer constitue un des problèmes majeurs de santé publique à l'échelle planétaire tant dans les pays développés que ceux en voie de développement. Il est l'une des principales causes de mortalité au niveau du globe selon l'OMS. [1]

Le cancer colorectal constitue une part importante de la charge mondiale de morbidité et de mortalité du cancer dont la fréquence est en croissance progressive, plus d'un million de nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année et plus d'un demi-million de personnes décèdent de cette pathologie dans le monde. [2] Maintenant, il est devenu un cancer prédominant et occupe le second rang des affections malignes en termes d'incidence et de mortalité dans les pays riches. La « montée » du cancer colorectal dans les pays développés peut être attribuée à une population de plus en plus vieillissante, aux maladies inflammatoires intestinales, à des habitudes alimentaires modernes défavorables et à une augmentation des facteurs de risque tels que le tabagisme, le faible exercice physique et l'obésité. [3]

De nouveaux traitements pour le cancer colorectal primaire et métastatique sont apparus, offrant des options supplémentaires aux patients ; ces traitements comprennent la chirurgie pour la maladie primaire, la résection plus agressive de la maladie métastatique, la radiothérapie et les chimiothérapies à base des médicaments fluoropyrimidines. Cependant, ces nouvelles options de traitement ont eu un impact limité sur les taux de guérison et la survie à long terme. [3]

Parmi les différents traitements du cancer colorectal, l'inhibition de l'enzyme nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT) qui est dans ce cas surexprimée peut diminuer la prolifération et induire l'apoptose dans les lignées cellulaires du cancer colorectal. Il est donc apparu comme une nouvelle approche thérapeutique très efficace.

Au cours de ces dernières décennies, la conception de molécules d'intérêt thérapeutique a bénéficié des progrès issus de diverses disciplines scientifiques telles que la biologie et l'informatique. L'essor de l'outil informatique a particulièrement changé la donne, en conduisant à l'émergence d'une nouvelle discipline pouvant participer aux étapes initiales de la recherche pharmaceutique en complément des méthodes expérimentales déjà reconnues, c'est la bio-informatique ou la biologie "*in silico*", une discipline qui a donné naissance au "docking" ou arrimage moléculaire. [4] [5]

Dans cette optique nous avons initié notre étude qui a pour objectif de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs de la NAMPT en faisant appel aux approches de modélisation par docking moléculaire. Ces méthodes permettent de rechercher *in silico* le mode d'interaction le plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur (cible thérapeutique) ce qui aide à la prédiction de nouvelles molécules plus efficaces en un temps limité.

Premièrement, nous avons testé la fiabilité du programme de docking 'Surflex' impliqué dans cette étude à travers deux tests. Le premier consiste à calculer l'écart quadratique moyen ou RMSD entre la position du ligand simulée par le logiciel et celle déterminée expérimentalement, suivie par une analyse visuelle des résultats obtenus à l'issue du test précédent. Le deuxième test, consiste à calculer le coefficient de corrélation linéaire entre les affinités des inhibiteurs de la NAMPT et les valeurs expérimentales de leur IC50.

Deuxièmement, nous avons apporté des substitutions structurales par l'introduction de nouveaux groupements chimiques sur un composé dévoilé comme le meilleur inhibiteur parmi les 302 composés similaires issus de la PubChem. Le docking moléculaire des structures substituées a permis de faire ressortir des inhibiteurs plus puissants et plus sélectifs avec une meilleure affinité vis-à-vis de l'enzyme étudiée. Il était important de compléter cette étape par une analyse visuelle de leurs interactions avec la NAMPT.

Troisièmement, les composés ayant présenté les meilleures affinités ont fait l'objet d'une étude de leurs propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et de toxicité potentielle régissant leurs paramètres ADMET.

Notre travail est scindé en deux parties :

Une partie théorique avec trois chapitres : Le premier chapitre inclut une étude bibliographique des notions générales sur le cancer colorectal. Le second chapitre est consacré à notre enzyme d'intérêt la nicotinamide phosphoribosyltransférase et ses inhibiteurs. Le troisième chapitre comprend le docking moléculaire et son principe. Ensuite, une partie pratique répartie en deux chapitres : un chapitre qui décrit le matériel et les méthodes utilisées et un deuxième qui traite les résultats obtenus ainsi que leur discussion. Enfin, une conclusion résumant cette recherche et des perspectives clôturent cette étude.

CHAPITRE 1

LE CANCER COLORECTAL

Le nombre de cancers ne cesse de progresser chaque année dû au vieillissement de la population et la croissance démographique, mais également au mode de vie des personnes concernées (tabac, alcoolémie, obésité...). Selon l’OMS le cancer est l’une des principales causes de mortalité au niveau du globe, il constitue la deuxième cause de décès dans le monde (9,6 millions de décès). Près d’un homme sur huit et une femme sur 11 meurent de cette maladie. De nombreux cancers peuvent être prévenus, et ils ont généralement un classement selon les organes touchés, comme : Le cancer du sein, le cancer du cerveau, le cancer des poumons et le cancer colorectal qui est la maladie de notre étude. [6]

1. Le cancer colorectal

Les cancers colorectaux sont des tumeurs malignes regroupant les cancers du côlon et les cancers du rectum (Environ 40% des cancers colorectaux touchent le rectum et 60% le colon). Ils surviennent dans l’extrême majorité des cas (96%) au niveau des glandes de la muqueuse intestinale ; ce sont des cancers glandulaires ou dits « adénocarcinomes ». Dans 80% des cas, ils se développent à partir des tumeurs bénignes, appelées polypes adénomateux préexistants ou adénomes qui peuvent évoluer progressivement vers une tumeur maligne ayant la capacité d’infiltrer progressivement l’épaisseur de la paroi colique puis de diffuser à distance du côlon pour donner naissance à des métastase.

Leur dénomination dépend de leur position :

- À plus de 15 cm de l’entrée du rectum = cancer du côlon
- À moins de 15 cm de l’entrée du rectum = cancer du rectum. [7]

2. Épidémiologie

2.1. Dans le monde

D’après les chiffres du centre international de recherche sur le cancer (CIRC), le CCR est le 3ème cancer le plus diagnostiqué dans le monde en 2018 avec une incidence de plus de 1,85 millions de cas derrière le cancer du poumon (≈ 2,09 millions de cas) et le cancer du sein (≈ 2,08 millions de cas). C’est cependant le 2ème cancer le plus mortel avec plus de 880 000 décès derrière le cancer du poumon (≈ 1,76 millions de décès). Géographiquement, l’incidence de ce cancer est largement plus élevée dans les pays développés que dans les pays en voie de développement, les plus hauts taux sont observés en Australie / nouvelle- Zélande (44.8 et 32.2

par 100.000 habitants chez les hommes et les femmes, respectivement), et les plus faibles en Afrique de l'Ouest. [3] [8]

2.2. En Algérie

Le cancer colorectal "CCR" frappe toutes les populations, par sa fréquence et sa gravité, il est au deuxième rang, pour les deux sexes. Chez l'homme 2687 nouveaux cas ont été signalé. Le taux brut d'incidence est de 13.5/100 000 et il est classé le deuxième après le cancer du poumon. Chez la femme, 2245 nouveaux cas ont été enregistré, le taux brut d'incidence est 11.2/ 100 000 et il est classé en deuxième position après le cancer du sein. [9]

3. Les symptômes

Les cancers colorectaux se développent souvent en silence, sans provoquer de symptôme particulier. Ils peuvent rester longtemps imperceptibles. Néanmoins, certains signes peuvent être révélateurs d'un cancer et doivent conduire à consulter le médecin traitant.

➤ Les troubles persistants ou soudains du transit intestinal

- Une constipation soudaine ou qui s'aggrave,
- Une diarrhée qui se prolonge,
- Une augmentation du volume abdominal,
- Des selles plus étroites que d'habitude (elles peuvent être plus longues et plus minces, comme un crayon),
- Un besoin pressant et continu d'aller à la selle (en particulier le matin),
- Une tension au niveau du rectum ou la sensation qu'il est plein,
- Une sensation d'évacuation incomplète ou de fausse envie d'aller à la selle, même juste après y être allé,
- Des efforts d'expulsion des selles douloureux et inefficaces,
- Des vomissements. [10]

➤ **Des rectorragies**

Les selles sont recouvertes ou mêlées de sang rouge clair ou très foncé (selles sanglantes ou striées de sang). Elles peuvent aussi être noires comme de l'encre si le sang est digéré dans le côlon. Parfois elles sont invisibles à l'œil nu. Seuls des examens de recherche de sang dans les selles permettent alors de les détecter.

➤ **Les symptômes les plus graves**

- Des glaires émises par l'anūs. Les glaires sont constituées d'un liquide blanchâtre, visqueux, qui ressemble à un crachat.
- Une anémie (baisse du nombre de globules rouges). [10]

➤ **L'aggravation des symptômes**

Au fur et à mesure que la tumeur grossit, ces symptômes peuvent s'aggraver et entraîner des complications telles qu'une occlusion intestinale ou une péritonite :

- **Une occlusion intestinale** : se manifester par des douleurs abdominales plus ou moins importantes, un gonflement du ventre, des vomissements et une absence de selles et de gaz.
- **Une péritonite**, infection grave de la membrane qui entoure tous les organes de l'abdomen (péritoine). Cette infection peut survenir lorsque le côlon s'est perforé.

Si la maladie continue d'évoluer, peuvent survenir :

- Une jaunisse (coloration jaunâtre de la peau et des muqueuses).
- Une altération de l'état de santé général (perte d'appétit, amaigrissement, fatigue). [10]

4. Les facteurs de risques

4.1. Les facteurs de risque de cancer colorectal non modifiables

4.1.1. Age et sexe

L'âge est considéré comme le principal facteur de risque du cancer colorectal. Au-delà de 50 ans, toute personne présente un risque accru de développer un cancer colorectal et devrait faire l'objet d'un dépistage, les taux d'incidence sont faibles et proches entre les deux sexes puis augmentent avec l'âge, ce cancer atteint plus rapidement les hommes que les femmes. [2] [11]

4.1.2. Facteurs héréditaires et génétiques

La majorité des cas de CCR sont sporadiques (80%) mais on estime que 15 % des cas ont une composante héréditaire. Les facteurs génétiques sont abordés dans la Polypose Adénomateuse Familiale (PAF) qui représente 1% des cas de CCR, le syndrome de cancer colique héréditaire sans polypose ou Syndrome de Lynch où il représente 3 à 5% des cas de CCR et l'antécédent familial de CCR sporadique dans certains cas (avec au moins un parent du premier degré atteint par un CCR). [2]

4.1.3. Antécédents personnels

Les personnes qui ont déjà eu un cancer du côlon ou du rectum risquent davantage d'être atteintes d'un autre cancer colorectal. Il peut s'agir d'un deuxième cancer totalement différent du cancer d'origine ou d'un cancer qui s'est développé au même endroit que le premier, appelé alors récurrence locale. Une femme ayant déjà été atteinte d'un cancer de l'endomètre, de l'ovaire ou du sein présente également un risque accru de cancer colorectal. [12]

4.1.4. Lésions locales

- **Les adénomes** : Ce sont des tumeurs épithéliales bénignes affectant 30 à 60% de la population de plus de 55 ans. Or les $\frac{3}{4}$ des cancers colorectaux proviennent de la transformation maligne d'un adénome permet d'envisager la prévention secondaire du cancer colique.
- **Maladies inflammatoires Rectocolite hémorragique** : risque de développement d'un cancer colorectal très élevé, de l'ordre de 2% par an chez l'adulte. Maladies de Crohn : risque élevé mais de façon moins importante. [13]

4.1.5. L'infection par certaines bactéries

Certaines bactéries peuvent simuler la croissance tumorale du cancer colorectal par exemple : H. pylori, E. coli, B. fragilis, F. nucleatum, S. enterica, etc. [10]

4.2. Les facteurs de risque de cancer colorectal modifiables

Plusieurs études scientifiques ont démontré que certaines habitudes de vie augmentaient le risque de développer un cancer colorectal comme :

- Une alimentation trop calorique.
- Une consommation importante de viande rouge.

- Une alimentation riche en graisses animales.
- La consommation d'alcool.
- La consommation de tabac.
- L'inactivité physique et le surpoids.
- Manque de fer. [10]

5. Les stades de cancer colorectal selon la classification TNM

La classification TNM « Tumor, Nodes, Metastasis » (tumeur, ganglion, métastase) proposée par l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC) est un système de classification moderne des tumeurs solides établi sur des critères anatomiques datant des années 60s. Cette classification est aujourd'hui acceptée à l'échelle internationale et constitue encore un langage universel. Elle permet aux médecins de déterminer à quel stade en est le cancer et d'établir un protocole thérapeutique le plus adapté pour le patient diagnostiqué. [14]

➤ La lettre T est l'indicateur de la taille et de la profondeur de la tumeur

L'étude de la taille de la tumeur mais surtout de son étendue histologique permet d'estimer le degré d'évolution de la maladie. Plus la tumeur se sera étendue au niveau des couches histologiques, plus le pronostic de survie sera sévère. [8]

Tableau N°1 : signification de la catégorie T selon la classification TNM. [13]

Tx	Renseignements insuffisants pour classer la tumeur primitive
T0	Pas de signe de tumeur primitive
Tis	Carcinome in situ : intraépithélial ou envahissant la lamina propria (chorion de la muqueuse)
T1	Tumeur envahissant la sous-muqueuse tumeur sous-muqueuse sous-séreuse muqueuse musculéuse tumeur sous-muqueuse sous-séreuse muqueuse musculéuse
T2	Tumeur envahissant la musculéuse
T3	Tumeur envahissant la sous-séreuse ou les tissus péri-coliques ou péirectaux non péritonisés
T4	T4a : tumeur perforant le péritoine viscéral
	T4b : tumeur envahissant directement d'autres organes ou d'autres structures adjacentes

➤ **La lettre N est l'indicateur de l'atteinte ganglionnaire et du nombre des ganglions lymphatiques touchés**

Certaines cellules cancéreuses peuvent se disséminer ailleurs que dans le gros intestin, et notamment au niveau des ganglions lymphatiques environnants, au niveau de la graisse péricolique. L'atteinte des ganglions lymphatiques par les cellules cancéreuses est un signe de mauvais pronostic mais le nombre de ganglions atteints détermine les chances de guérison. [8]

Tableau N°2 : signification de la catégorie N selon la classification TNM. [13]

Nx	Renseignements insuffisants pour classer les ganglions lymphatiques régionaux
N0	Pas de métastase ganglionnaire régionale
N1	N1a : métastases dans 1 seul ganglion régional
	N1b : métastases dans 2-3 ganglions lymphatiques régionaux
	N1c : nodules tumoraux (c'est-à-dire satellites) dans la sous-séreuse ou dans les tissus mous non péritonisés péri-coliques ou péirectaux sans atteinte ganglionnaire lymphatique
N2	N2a : métastases dans 4 à 6 ganglions lymphatiques régionaux
	N2b : métastases dans 7 ou plus ganglions lymphatiques régionaux

➤ **La lettre M est l'indicateur de présence de métastases à distance**

Dans le cas des CCR, les cellules cancéreuses peuvent envahir d'autres ganglions lymphatiques non régionaux ou d'autres organes que le gros intestin et y développer un cancer secondaire. Les organes les plus souvent atteints par des métastases lors d'un CCR sont le foie, les poumons et le péritoine. Les CCR métastatiques ont un pronostic de survie extrêmement faible puisqu'ils sont très difficiles à traiter. [8]

Tableau N°3 : Signification de la catégorie M selon la classification TNM. [13]

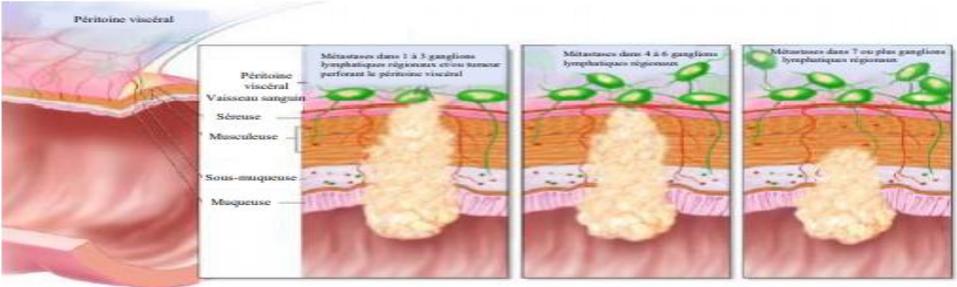
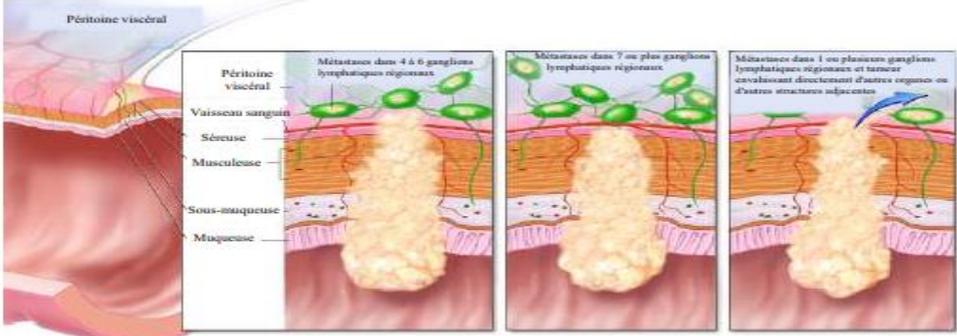
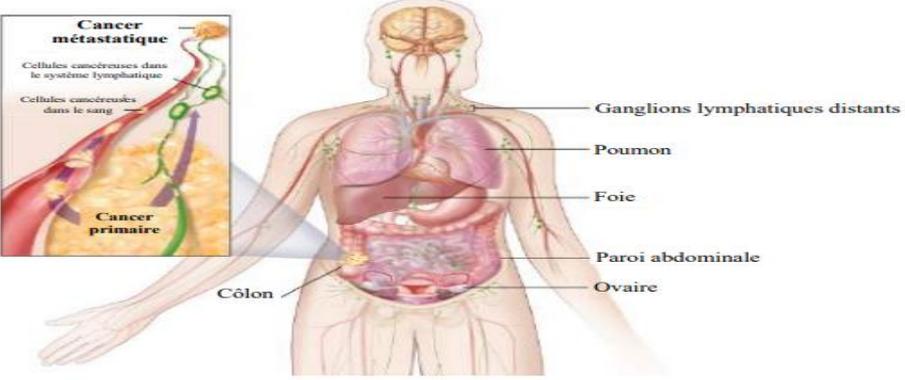
M0	Pas de métastase à distance
M1	M1a : métastases dans un seul organe (foie, poumon, ganglion(s) lymphatique(s) non régional (aux))
	M1b : métastases dans plus d'un organe sans atteinte péritonéale
	M1c : métastases dans le péritoine avec ou sans atteinte d'un autre organe

La combinaison des critères T, N et M permet de définir des stades du CCR au moment du diagnostic allant du stade 0 au stade IV afin de définir la meilleure stratégie thérapeutique à

adapter pour obtenir les meilleures chances de guérison du patient atteint de CCR. Le tableau suivant représente le groupement par stade selon la classification TNM. [8]

Tableau N°4 : Groupement par stade selon la classification TNM. [8]

Stade	TNM	
Stade 0	Tis – N0 – M0	<p>The diagram shows a cross-section of the colon wall with layers: Mucosa, Sous-muqueuse, Musculaire, and Séreuse. A layer of 'Cellules anormales' (abnormal cells) is shown within the mucosa. A lymphatic node and a blood vessel are also visible.</p>
Stade I	T1, T2 – N0 – M0	<p>The diagram shows the same layers as Stage 0. A mass of 'Cancer' is shown extending from the mucosa into the submucosa. A lymphatic node and a blood vessel are also visible.</p>
Stade IIA	T3 – N0 – M0	<p>This section contains three diagrams labeled 'Stade IIA', 'Stade IIB', and 'Stade IIC'. They show the cancer extending through the muscle layer and into the serosa. Stage IIA shows cancer in the serosa. Stage IIB shows cancer perforating the serosa. Stage IIC shows cancer invading adjacent structures. Labels include: Péritoine viscéral, Ganglion lymphatique, Vaisseau sanguin, Séreuse, Musculaire, Sous-muqueuse, and Muqueuse.</p>
Stade IIB	T4a – N0 – M0	
Stade IIC	T4b – N0 – M0	
Stade IIIA	T1, T2 – N1 – M0	<p>This section contains two diagrams showing lymphatic metastases. The first is labeled 'Métastases dans 1 à 3 ganglions lymphatiques régionaux ou nodules satellites' and the second is 'Métastases dans 4 à 6 ganglions lymphatiques régionaux'. Labels include: Vaisseau sanguin, Séreuse, Musculaire, Sous-muqueuse, and Muqueuse.</p>
	T1 – N2a – M0	

Stade IIB	T3, T4a – N1 – M0	
	T2, T3 – N2a – M0	
	T1, T2 – N2b – M0	
Stade IIC	T4a – N2a – M0	
	T3, T4a – N2b – M0	
	T4b – N1, N2 – M0	
Stade IVA	Quel que soit T – Quel que soit N – M1a	
Stade IVB	Quel que soit T – Quel que soit N – M1b	
Stade IVC	Quel que soit T – Quel que soit N – M1c	

6. Traitement

Lorsqu'un CCR est diagnostiqué chez un patient, l'équipe médicale doit définir un programme personnalisé de soins (PPS). Le protocole de traitement est dépendant du type de cancer, de son stade ou de sa localisation ainsi que de l'âge et de l'état général du patient qui influent sur la capacité à supporter les effets secondaires du traitement. Selon ces différents critères, le PPS peut avoir différents objectifs :

- Guérir le CCR en supprimant la totalité des cellules cancéreuses ;
- Empêcher le CCR de se développer et de se propager ;
- Réduire le risque de récurrence ;

- Améliorer le confort et la qualité de vie du patient. [8]

6.1. La chirurgie

La chirurgie est le traitement principal du cancer du côlon. A un stade précoce de la maladie, elle est décisive pour la guérison. Il y'a 2 types de chirurgie :

- **L'excision locale** : permet d'enlever un polype ou une tumeur de stade précoce qui se trouve à la surface du revêtement du côlon ou du rectum.

- **La résection intestinale** : le type le plus courant de chirurgie du cancer colorectal, permet d'enlever une partie de l'intestin et les ganglions lymphatiques voisins.[8]

6.2. La chimiothérapie

La chimiothérapie de base pour le cancer colorectal utilise des médicaments appelés fluoropyrimidines, administrés comme traitement unique (monothérapie) ou sous forme d'une combinaison de molécules (polythérapie). Elle peut être néo-adjuvante afin de diminuer la taille de la tumeur avant la chirurgie ou adjuvante pour détruire les cellules cancéreuses résiduelles et limiter les récives. [8]

➤ La chimiothérapie de première ligne

Le protocole FOLFOX : C'est une association de 2 molécules cytotoxiques, le 5-fluorouracil (5-FU) et l'oxaliplatine (Eloxatine™) qui inhibe la synthèse et la répliation de l'ADN, associées à la leucovorine (Lederfoline™) qui est le métabolite actif de l'acide folique. Le 5-FU est métabolisé d'une part en 5-FdUMP bloquant l'activité de la thymidylate synthase donc de la synthèse de l'ADN et d'autre part en 5-FUTP incorporant des erreurs dans la transcription d'ARN. Ces métabolites vont ainsi conduire à un arrêt du cycle cellulaire et à l'apoptose des cellules. [8]

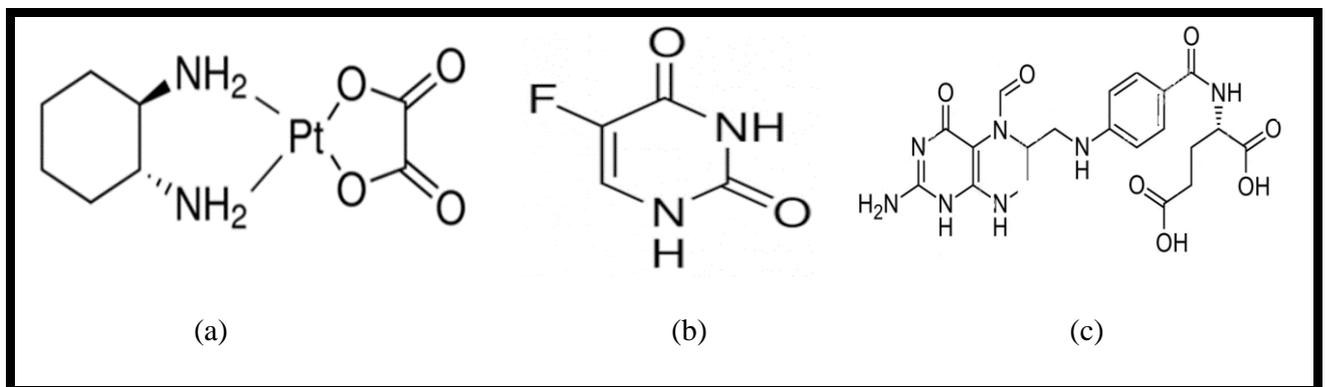


Figure N° 1 : Structures chimiques des molécules du protocole FOLFOX.

(a) Oxaliplatine (C₈H₁₄N₂O₄Pt) [15]. (b) 5-fluorouracil (C₄H₃FN₂O₂) [16]. (c) leucovorine (C₂₀H₂₃N₇O₇) [17].

Le protocole FOLFIRI : L'oxaliplatine est remplacée par l'irinotécan (Campto™). Le métabolite actif de l'irinotécan inhibe la topoisomérase 1 induisant des cassures de l'ADN. Ce protocole nécessite la prise d'acide folinique. [8]

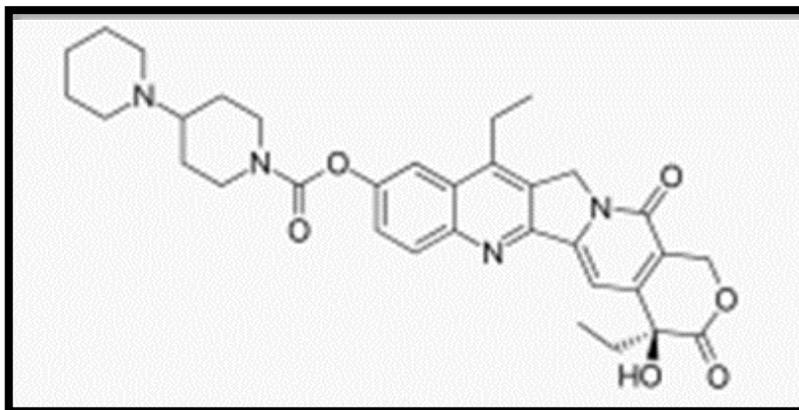


Figure N°2 : Structure chimique de l'irinotécan (Campto™) (C₃₃H₃₈N₄O₆). [18]

Le protocole XELOX : ce protocole remplace le 5-FU par la capécitabine (XELODA™) et ne nécessite pas l'administration d'acide folinique. La capécitabine est associée à l'oxaliplatine dans ce protocole et se comporte comme un précurseur du 5-FU. [8]

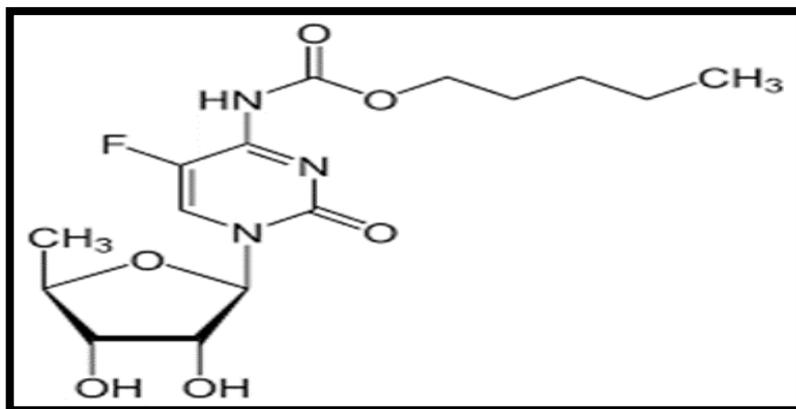


Figure N° 3 : Structure chimique de la capécitabine (XELODA™) (C₁₅H₂₂FN₃O₆). [19]

Le protocole TEGAFUR-URACILE : ce protocole utilise également un précurseur du 5-FU, le tégafur (UFT™) et l'uracile qui permet d'empêcher la dégradation du 5-FU décuplant son efficacité. Ce protocole nécessite la prise d'acide folinique. [8]

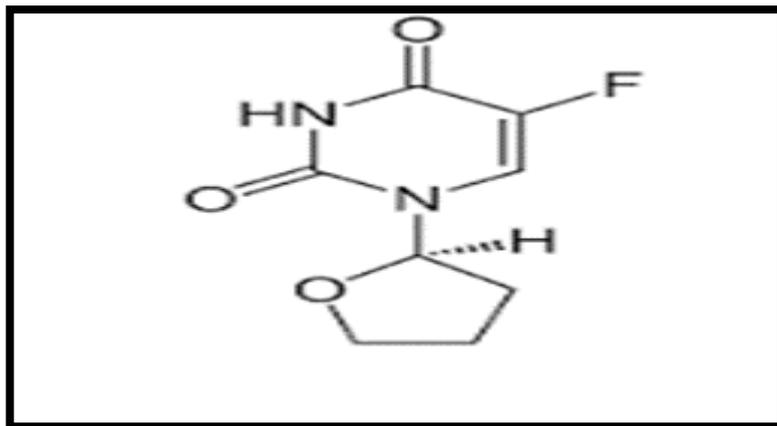


Figure N° 4 : Structure chimique du téga fur (UFT™) (C₈H₉FN₂O₃). [20]

➤ La chimiothérapie de deuxième ligne

Elles consistent à utiliser des polychimiothérapies, comme la trifluridine (Lonsurf™) et la raltitrexed (Tomudex™) analogue de l'acide folique.[8]

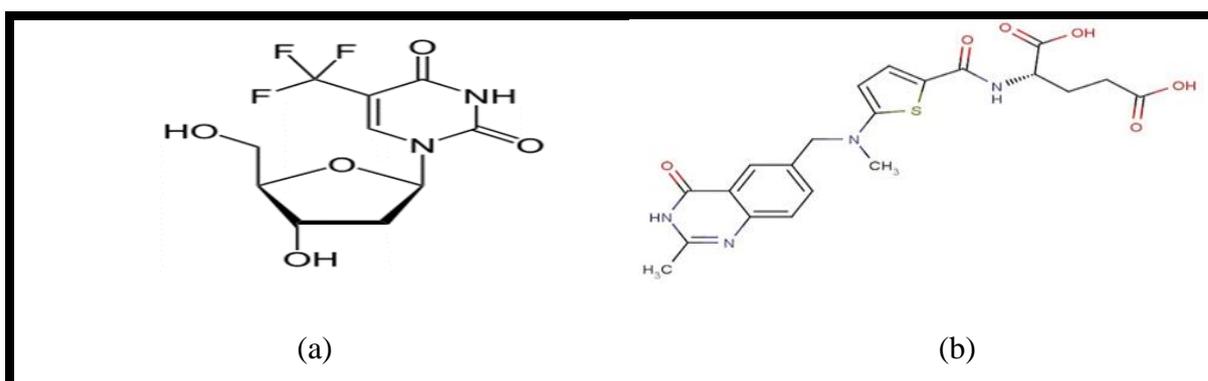


Figure N° 5 : Structures chimiques des molécules de la chimiothérapie de deuxième ligne.

(a) Trifluridine (C₁₀H₁₁F₃N₂O₅) [21]. (b) Raltitrexed (C₂₁H₂₂N₄O₆S) [22].

6.3. La radiothérapie

Consiste à détruire la tumeur ou des cellules cancéreuses à l'aide de rayons X ou de particules de haute énergie. Elle est très souvent utilisée pour traiter les cancers du rectum, mais plus rarement pour les cancers du côlon. Il existe 2 types de radiothérapie : La radiothérapie externe extrêmement utilisée, et la curiethérapie ou brachythérapie qui est un type de radiothérapie interne rarement utilisé.[8]

6.4. Les thérapies ciblées

Ces thérapies sont actuellement autorisées pour les CCR de haut grade avec métastases. Il existe deux catégories de thérapies ciblées :

Les anti-angiogéniques : le bevacizumab (AVASTIN™) un anticorps monoclonal inhibiteur de l'interaction du VEGF sécrété par les cellules tumorales avec son récepteur (VEGFR). Il existe deux autres molécules homologuées pour le traitement des CCR :

- L'aflibercept (ZALTRAP™) qui est une protéine de fusion composée à partir du VEGFR.
- Le régorafénib (STIVARGA™) un nouvel inhibiteur de nombreuses protéines kinases.

Les inhibiteurs du récepteur du facteur de croissance épidermique : les 2 molécules autorisées sont 2 anticorps monoclonaux, le cetuximab (ERBITUX™) et le panitumumab (VECTIBIX™). Ces molécules ont pour rôle de se lier, par leur plus forte affinité, au récepteur de EGFR en bloquant sa signalisation et donc la division des cellules tumorales.[8]

Malgré les progrès de la chimiothérapie et l'avènement récent d'agents ciblés, la résection chirurgicale des métastases est encore aujourd'hui la seule stratégie capable d'offrir une possibilité de guérison aux patients atteints d'un cancer colorectal. Le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques vise donc à réduire le développement de ces métastases, mais également à les rendre résécables lorsque cela n'est pas le cas initialement. Notre travail de mémoire avait pour objectif d'évaluer une étude approfondie du mode d'inhibition de la **NAMPT**, cette enzyme représente une nouvelle cible thérapeutique dans la progression et la rechute du cancer colorectal. La partie suivante s'intéressera donc à l'étude de la NMPT et ses rôles dans le **CCR**.

CHAPITRE 2
LA NICOTINAMIDE
PHOSPHORIBOSYL-
TRANSFERASE

1. NAMPT

La nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPTase ou Nampt) est une enzyme appartenant à la classe d'enzymes EC 2.4.2.12 de la famille des phosphoribosyltransférases de l'acide nicotinique (NAPRTase). Cette protéine est l'enzyme limitante responsable de la plus grande source de biosynthèse physiologique du NAD chez les mammifères, catalysant la formation de nicotinamide mononucléotides (NMN) à partir de 5-phosphoribosyl 1-pyrophosphate (PRPP) et de Nam (vitamine B3 ou vitamine PP), qui est ensuite converti en nicotinamide adénine dinucléotide (NAD). [23]

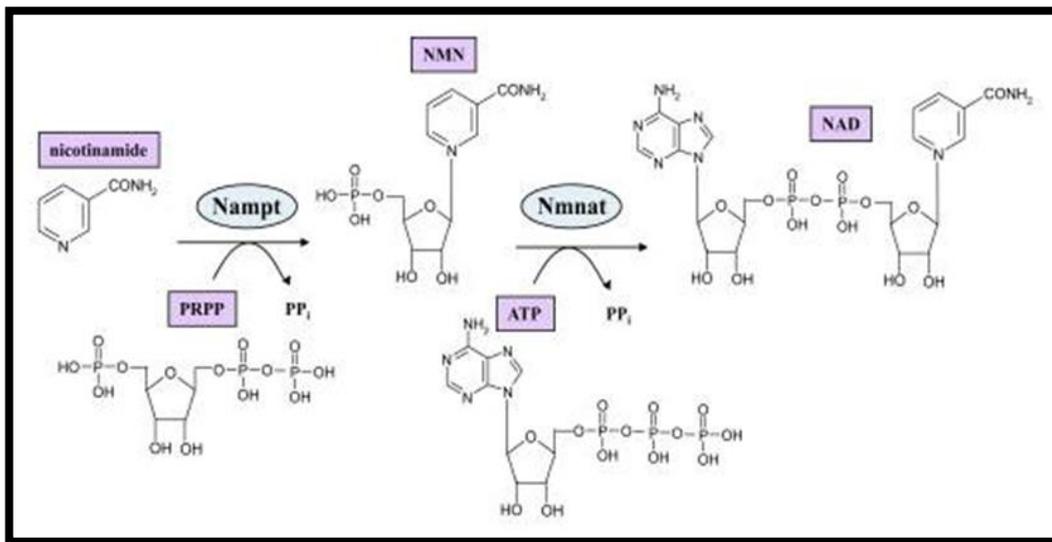


Figure N° 6 : l'implication de NAMPT dans la biosynthèse du NAD. [24]

La NAMPT se produit dans le cytosol et le noyau, Sécrétée via une voie de sécrétion indépendante de l'appareil de Golgi et du réticulum endoplasmique, alors qu'il est controversé de savoir si elle pourrait également être présente dans les mitochondries. Elle est exprimée dans tous les organes et les tissus, avec la quantité maximale d'ARNm de NAMPT dans les cellules de la moelle osseuse, du foie et des fibres musculaires, où l'apport énergétique est plus important. [25]

Elle a été signalée pour la première fois comme facteur d'amélioration de la colonie pré-B en 1994 avec peu de préavis, mais il a reçu une attention croissante au cours des dernières années en raison de l'accumulation de preuves indiquant que NAMPT est une protéine pléiotropique comme un facteur de croissance, une cytokine, une enzyme et une visfatine. Bien que tous les trois noms de cette protéine (NAMPT, PBEF et visfatine) sont utilisés dans la littérature, NAMPT est le

nom officiel du gène et des protéines, tel qu'approuvé par le Comité de la nomenclature génétique HUGO et le Comité de la nomenclature génomique de la souris. [26]

La nicotinamide phosphoribosyltransferase est une protéine existe sous deux formes distinctes : une forme intracellulaire (iNAMPT) se trouve dans le noyau, le cytoplasme et les mitochondries, et une forme extracellulaire (eNAMPT) se trouve dans l'espace extracellulaire. [27]

Plus précisément c'est la NAMPT intracellulaire qui catalyse la biosynthèse du NAD, et grâce à cette activité enzymatique que le NAMPT régule les niveaux intracellulaires de NAD et affecte indirectement à la fois l'énergétique cellulaire et les enzymes dépendantes du NAD [telles que les sirtuines (SIRT) et les PARP]. [28]

L'eNAMPT est une protéine circulante avec plusieurs fonctions rapportées. Semblable à l'iNAMPT. L'eNAMPT peut exercer des effets de biosynthèse sur le NAD, grâce à quoi l'eNAMPT catalyse la conversion du nicotinamide en nicotinamide mononucléotide (NMN) dans le sérum. [29]

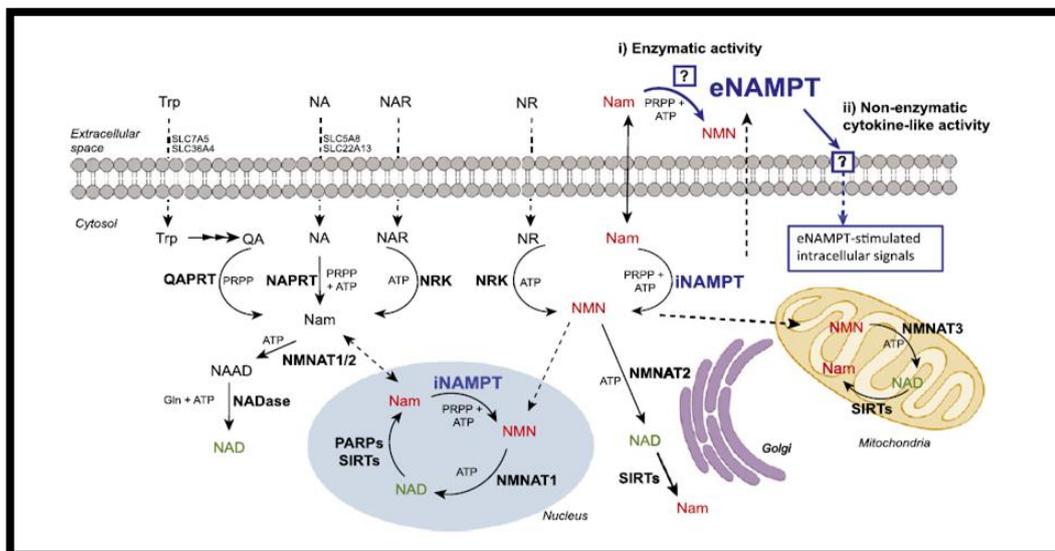


Figure N° 7 : Le rôle de iNAMPT et eNAMPT dans la synthèse du NAD. [28]

2. Structure du NAMPT

Cette partie couvre la structure du NAMPT en trois parties : Gène, ARNm et Protéine.

Gène : le gène NAMPT humain couvre une longueur de 36 908 pb sur la position du chromosome 7, spécifiquement au locus 7q22.3. La partie du gène de structure NAMPT est composée de 11 exons et 10 introns, qui codent pour 491 acides aminés. L'exon 1 code une

courte région 5'-non traduite et la région du peptide signal, tandis que l'exon 11 code l'extrémité carboxyle de la protéine NAMPT et toute la région 3' non traduite.

La séquence codante du gène NAMPT est hautement conservée au cours de l'évolution. Une homologie de séquence significative a été partagée entre les organismes procaryotes et les humains. L'alignement des séquences d'acides aminés a révélé que la séquence de la protéine NAMPT canine est identique à 96% à l'homme et à 94% à ses homologues murins et de rat. Cela suggère que le gène est hautement conservé sur le plan de l'évolution et qu'il doit être important pour la vie. [26]

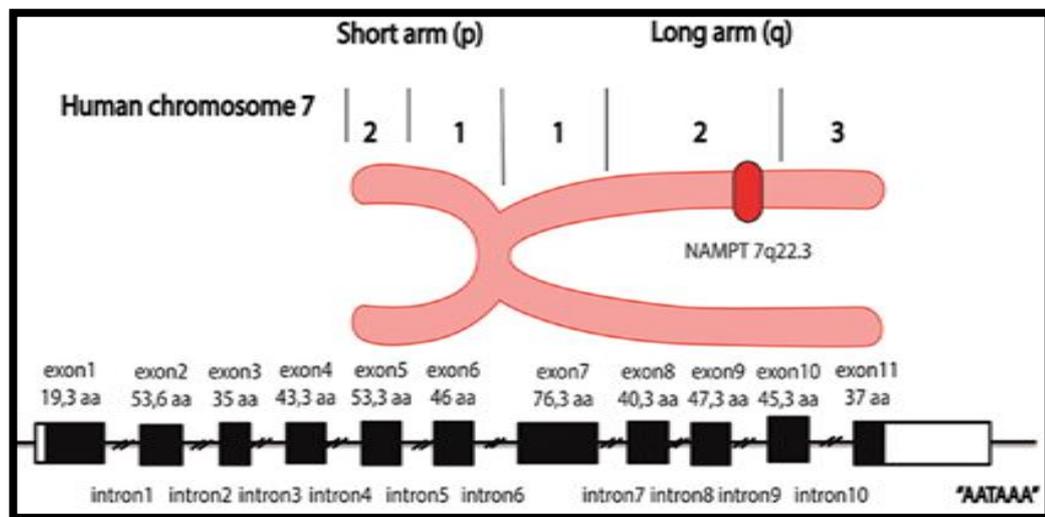


Figure N°8 : Emplacement et structure du gène du nicotinamide phosphoribosyltransferase. [30]

ARNm : Trois espèces d'ARNm NAMPT, environ 4 000, 2 400 et 2 000 pb, ont été détectées dans les tissus humains par analyse de Northern blot. Le gène NAMPT humain contient 19 introns gt-ag différents, la transcription produit 19 ARNm différents, 14 variantes épissées alternativement et 5 formes non épissées, qui sont supportées par 719 clones d'ADNc. [26]

Protéine : La séquence de la protéine NAMPT humaine est constituée de 491 acides aminés avec un PM de 52 kDa. La filtration sur gel et les tests de co-immunoprécipitation ont confirmé que la NAMPT est bien présent sous forme de dimère dans les cellules avec deux sites actifs.

Cette enzyme contient 63 résidus chargés négativement (Asp + Glu) et 61 résidus chargés positivement (Arg + Lys). La demi-vie estimée de la protéine NAMPT humaine est de 30 heures et leur indice d'instabilité est calculé à 35,48, ce qui classe le NAMPT comme une protéine stable. [26]

L'analyse de la structure 3D de NAMPT montre que la structure du monomère NAMPT contient 22 brins β et 15 hélices α et peut être divisée en trois domaines, A, B et C. Le domaine A se compose d'une feuille β totalement antiparallèle à sept brins avec cinq hélices sur une face. Les résidus des régions N- et C-terminales appartiennent à ce domaine. Le domaine B [résidus 181–390] contient sept brins β / α . L'hélice α_6 , à neuf tours (résidus 149-180), relie les domaines A et B. Le domaine C (résidus 428–458) contient une feuille β antiparallèle à trois brins et recouvre la face ouverte de la feuille β dans le domaine A.

Le NAMPT fonctionnel forme un homodimère pour catalyser la conversion du NAM et des PRPP pour former le NMN, une étape clé dans la voie de récupération synthétique du NAD. [26]

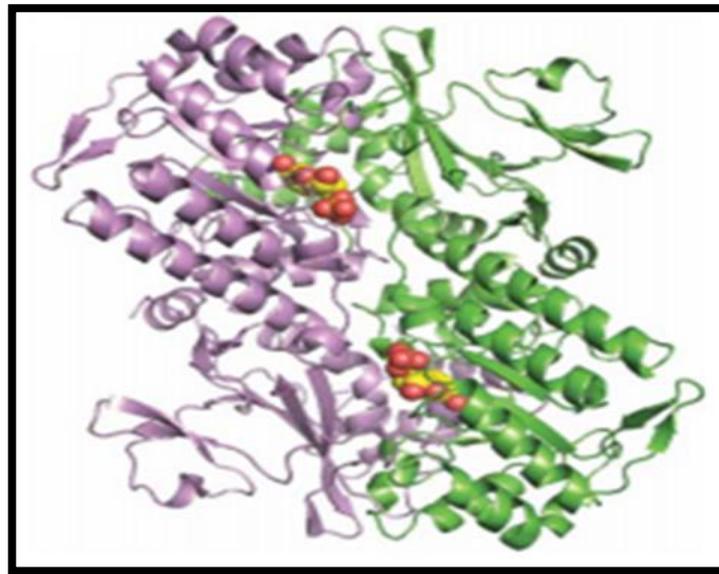


Figure N°9 : Structure de la NAMPT. [31]

Les études de structure et de mutagenèse démontrent que l'Asp 219 est important dans la définition de la spécificité du substrat du NAMPT, ainsi que le NAMPT a une activité d'autophosphorylation et hydrolyse l'ATP. L'autophosphorylation peut augmenter son activité enzymatique. His247 est un résidu important à cet égard, qui se trouve au centre d'un groupe conservé de résidus de site actif. [26]

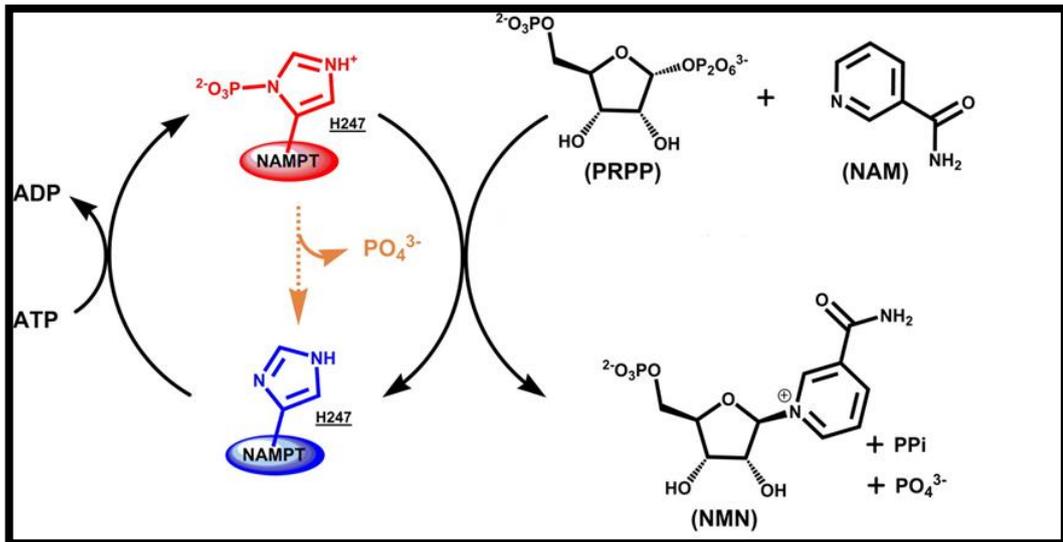


Figure N°10 : Autophosphorylation de la NAMPT. [32]

3. Physiologie de NAMPT

Il a été rapporté que la NAMPT a de nombreuses fonctions biologiques, dans cette section, nous allons traiter les trois fonctions principales du NAMPT : facteur de croissance, cytokine et nicotinamide phosphoribosyltransferase.

3.1. Facteur de croissance

Plusieurs études indiquent que le NAMPT peut fonctionner comme un facteur de croissance, une protéine naturelle capable de stimuler la croissance cellulaire, la prolifération et la différenciation cellulaire. [33]

Samal et al. ont d'abord découvert que la NAMPT humain peut augmenter de manière significative le nombre de colonies pré-cellules B dérivées de moelle osseuse humaine ou de souris normale d'au moins 70% en présence des deux IL-7 et le facteur des cellules souches. Pour cela, les auteurs ont nommé cette protéine comme facteur d'amélioration des colonies de cellules pré-B. [33]

Van der Veer et al. ont rapporté que le NAMPT peut favoriser la maturation des cellules musculaires lisses vasculaires. Xie et al. ont découvert que le NAMPT exerce une activité analogue à l'insuline en tant que facteur de croissance des ostéoblastes. Ils ont remarqué que les effets du NAMPT tels que l'absorption du glucose, la prolifération et l'amélioration du collagène de type I dans les cellules humaines en culture ressemblant à des ostéoblastes ressemblaient beaucoup à ceux de l'insuline et étaient inhibés par un inhibiteur spécifique de

l'activité tyrosine kinase IR. Ils ont également découvert de manière inattendue que le NAMPT régulaît à la baisse la sécrétion d'ostéocalcine à partir de cellules semblables à des ostéoblastes humains. Ces données indiquent que la régulation de l'absorption, de la prolifération et de la production de collagène de type I par le NAMPT dans les ostéoblastes humains implique la phosphorylation des récepteurs de l'insuline. [33]

3.2. Cytokine

La cytokine est parfois utilisée de manière interchangeable parmi les scientifiques avec le terme facteur de croissance. Le terme cytokine englobe une famille vaste et diversifiée de régulateurs polypeptidiques qui sont largement produits dans tout le corps par des cellules d'origine embryologique diverses. Leurs actions peuvent être regroupées en autocrines, paracrines et endocrines. [33]

Le NAMPT peut être ajouté à la liste des cytokines. Le criblage du premier ADNc NAMPT indique que l'ADN ou la séquence protéique du NAMPT ne présente aucune homologie avec d'autres cytokines connues. Ognjanovic et al. ont rapporté que le lipopolysaccharide, l'IL-1 β , le TNF α et l'IL-6 augmentaient tous de manière significative l'expression de NAMPT dans un traitement de 4 h de la lignée cellulaire épithéliale amniotique, les cellules WISH. L'ajout de dexaméthasone à l'IL-1 β et au TNF α a significativement réduit la réponse à ces cytokines. Ils ont conclu que le NAMPT est une cytokine exprimée dans les membranes fœtales normales et régulée à la hausse lorsqu'elles sont infectées. [33]

3.3. Nicotinamide phosphoribosyltransferase

Parce que la voie de récupération de la synthèse du NAD est beaucoup plus efficace et plus rapide que celle de la synthèse de novo NAD, il est concevable que le NAMPT joue un rôle important dans les variétés de processus physiologiques de la vie via la synthèse du NAD. Le NAD est maintenant considéré comme une molécule universelle porteuse d'énergie et de signaux. [33]

L'indice que le PBEF pourrait être un nicotinamide phosphoribosyltransferase a d'abord été obtenu par les travaux de Martin et al. En 2001. Ils ont démontré que la présence du gène *nadV* permettait à *A. pleuropneumoniae* d'utiliser le nicotinamide mono-nucléotide comme précurseur de la biosynthèse du NAD, et indiquent que l'enzyme codée par ce gène est un nouveau NAMPT. Ils ont découvert que la séquence du gène *nadV* est homologue à celle du NAMPT humain, ce qui suggère que le PBEF mammifère peut également fonctionner comme

un NAMPT. Étude de Revollo et al. ont démontré que le NAMPT catalyse une étape limitant la vitesse dans une voie de récupération de la biosynthèse du NAD chez les mammifères. Van der Veer et al. ont prouvé que c'est grâce à l'activité NAMPT améliorée du PBEF que la durée de vie cellulaire des cellules musculaires lisses primaires humaines, des cellules musculaires lisses clonales humaines et des fibroblastes dérivés d'un patient atteint du syndrome de progeria de Hutchinson-Gilford peut être allongée. [33]

4. Mécanismes d'action

Il existe de nombreuses preuves que la NAMPT et plus particulièrement l'eNAMPT déclenche de nombreuses voies de signalisation intracellulaires avec une dynamique temporelle variable et peut également stimuler de nombreux effets biologiques dans une variété de types de cellules (voir figure N°13). [28]

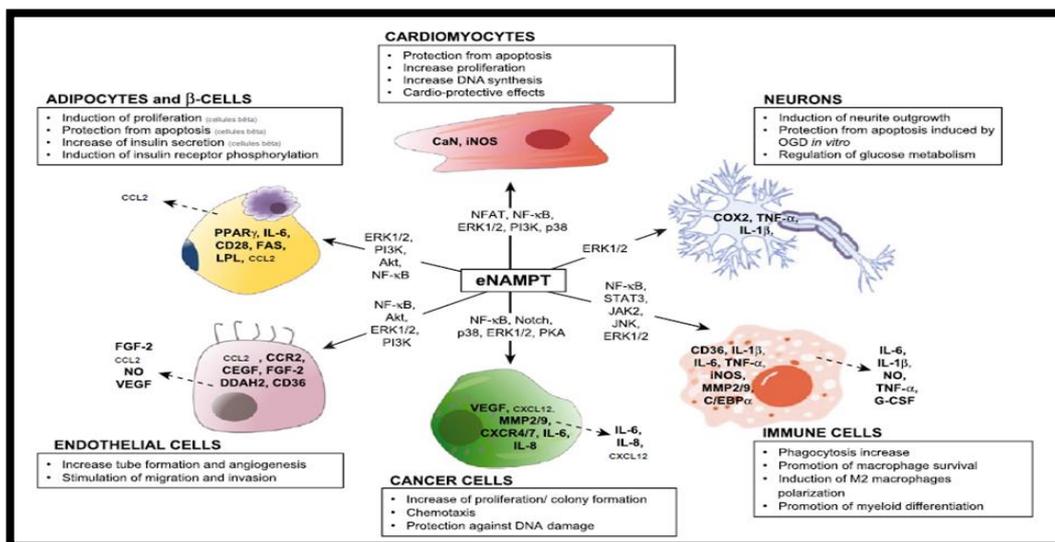


Figure N°11 : les principales voies de signalisation déclenchées par l'eNAMPT. [28]

4.1. Le mécanisme d'action du NAMPT dans le cancer

En plus des effets importants sur le métabolisme cellulaire, la NAMPT a également été trouvée pour participer dans une variété de processus cellulaires oncogéniques, y compris la prolifération tumorale, l'apoptose, les métastases, l'inflammation, la réparation de l'ADN et l'angiogenèse.

Récemment, certaines études ont indiqué que la NAMPT est surexprimée dans de nombreux types de tumeurs, y compris le cancer colorectal, le cancer du sein, cancer de l'ovaire

et le cancer de la prostate, et son expression semble être associée à une progression tumorale. [34]

4.1.1. Dans le cancer colorectal

Les tissus du cancer colorectal contenaient des niveaux significativement plus élevés de NAMPT que les niveaux hébergés par des tissus normaux appariés, en particulier dans les stades de cancer colorectal I et II. Par conséquent, NAMPT a régulé la prolifération cellulaire en activant la voie de signalisation Wnt / β -caténine qu'est l'une des voies les plus importantes dans l'initiation et la progression du CRC. [35]

Un niveau élevé de NAMPT donne plus de NAD⁺ et induit une régulation négative de l'Axin et la translocation nucléaire de la β -caténine, conduisant ainsi à l'activation de la signalisation Wnt / β -caténine et de l'augmentation de la croissance des cellules CRC. Cependant, lorsque le NAMPT est inhibé par des méthodes génétiques ou pharmacologiques, le niveau NAD⁺ est réduit et Axin est régulé à la hausse. Ensuite, la β -caténine est dégradée et la voie Wnt / β -caténine est supprimée, ce qui entraînant l'inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses. [35]

En résumé, nous démontrons qu'un niveau élevé d'expression de NAMPT améliore la production du NAD⁺ et conduit finalement à une prolifération accrue dans les cellules CRC en activant le Wnt / β - voie de la caténine. Nous ne proposons donc que le NAMPT serve de bio-marqueur potentiel et de cible thérapeutique pour les patients atteints de CCR.

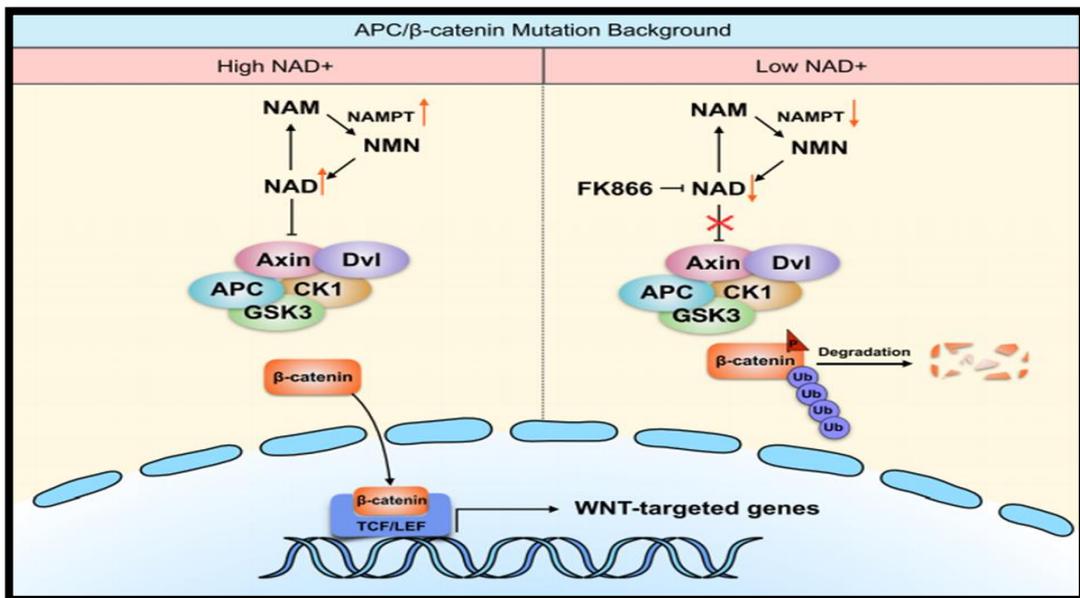


Figure N° 12 : Rôle du NAMPT dans la prolifération des cellules CRC humaines par la régulation de la signalisation Wnt / β -caténine. [35]

5. Les inhibiteurs de NAMPT

Le développement de composés actifs pour cibler la NAMPT est important et prometteur car la NAMPT joue un rôle important dans une variété d'événements biologiques et a attiré beaucoup d'attention dans plusieurs domaines différents, notamment la biologie du NAD, le métabolisme et la réponse immunitaire.

L'inhibition du nicotinamide phosphoribosyltransferase est une nouvelle stratégie pour le traitement du cancer, cependant, de nombreux inhibiteurs ont été développés ces dernières années mais seuls deux inhibiteurs de NAMPT (FK866 et CHS828) ont progressé dans les essais cliniques.

5.1. FK866

Le FK866 (également connu sous le nom d'APO866, WK175, (E)-Daporinad) est le premier composé chimique découvert comme étant un inhibiteur efficace, puissant et hautement spécifique de Nampt, avec un IC₅₀ de 0,09 nM. Il inhibe l'activité enzymatique de Nampt de manière non compétitive en se liant à un site régulateur allostérique. [36]

Il induit l'apoptose et l'autophagie et possède des propriétés anti-tumorales, des activités anti-métastatiques et antiangiogéniques.

Ils ont observé dans des essais in vitro que l'apoptose induite par FK866 impliquait une diminution initiale du taux de NAD intracellulaire qui ont ensuite été accompagnée par une diminution des taux intracellulaires d'ATP.

Le FK866 peut inhiber la production de cellules tumorales du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), entraînant l'inhibition de l'angiogenèse tumorale. [37]

Tableau N° 5 : Caractérisation du composé FK866 inhibiteur de la NAMPT. [36]

Nom chimique	(E) - N - [4- (1-benzoylpipéridin-4-yl) butyl] -3-pyridin-3-ylprop-2-énamide
Formule	C 24 H 29 N 3 O 2
Masse molaire	391,5 g / mol
Structure 2D	

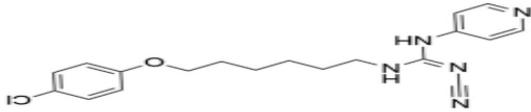
5.2. CHS 828

CHS 828 ou GMX1778 est une nouvelle pyridyl cyanoguanidine et un inhibiteur compétitif de la NAMPT, avec un IC50 moins de 25 nM. Exerce un effet cytotoxique sur les cellules tumorales en diminuant le niveau cellulaire de NAD⁺ et présente une puissante activité anticancéreuse. Il est actuellement en phase clinique II.

CHS 828 augmente sélectivement les niveaux de ROS intracellulaires dans les cellules cancéreuses mais pas dans les cellules normales.

Il détruit les cellules tumorales en inhibant la translocation du facteur nucléaire-kappa B. [38]
[39]

Tableau N° 6 : Caractérisation du composé CHS 828 inhibiteur de la NAMPT. [38]

Nom chimique	2- [6- (4-chlorophénoxy) hexyl] -1-cyano-3-pyridin-4-ylguanidine
Formule	C 19 H 22 C 1 N 5 O
Masse molaire	371,9 g / mol
Structure 2D	

CHAPITRE 3

DOCKING MOLECULAIRE

1. Introduction

Le chemin vers la découverte de médicaments est une tâche longue et ardue, sans parler du coût financier qu'elle exige. En 2014, le coût moyen de développement d'un nouveau médicament à partir de zéro était estimé à 2,5 milliards de dollars. [40]

Ce processus est basé sur l'identification d'une cible biologique d'intérêt thérapeutique, dans lequel les essais cliniques succèdent au développement pré-clinique. Il nécessite entre autres, l'investigation de ses propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques, basée plus sur des approches informatisées *in silico*. [41]

Le mécanisme d'action de nombreux médicaments consiste à agir comme inhibiteurs (ligand) d'une enzyme (récepteur) impliquée dans le développement de la maladie, que ce soit une protéine d'un organisme pathogène ou du propre organisme humain. [42]

De même, la découverte de nouvelles drogues activant ou inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective. C'est dans ce but que des techniques de modélisations moléculaires regroupées sous le nom de "amarrage" ou "docking" moléculaire ont été développées. [43]

2. Le docking moléculaire

Le docking moléculaire : Docking (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français) est une sorte de modélisation bio-informatique « *in silico* » dans laquelle des différentes approches sont combinées pour étudier les différents mécanismes et interactions mis en jeu entre deux molécules. [44]

Plus précisément, le docking consiste à trouver la meilleure position d'un ligand dans le site de liaison d'un récepteur de façon à optimiser les interactions avec un récepteur. [45]

Le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand ». [46]

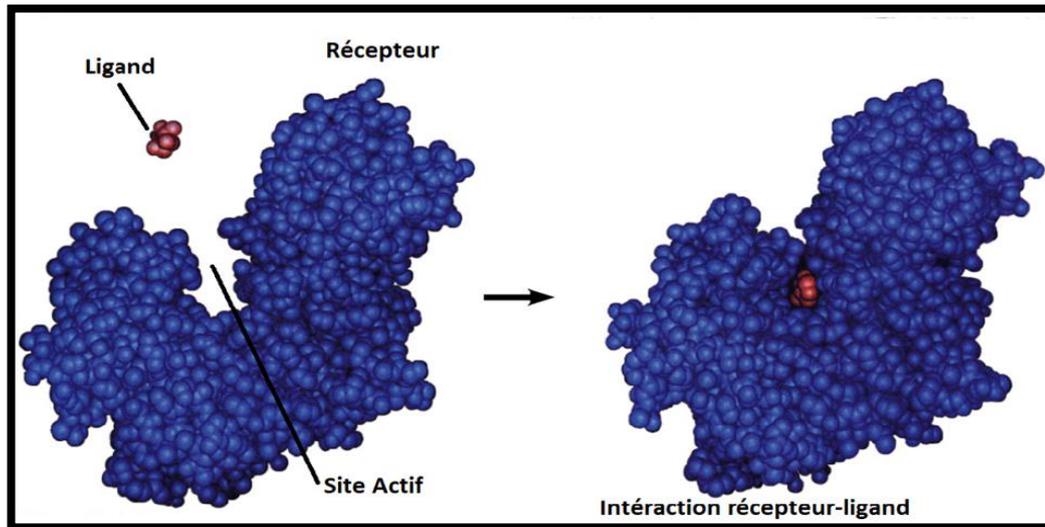


Figure N° 13 : Docking protéine-ligand. [47]

2.1. Principe

Le Docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire formé par un ligand (substrat, activateur ou inhibiteur) et les acides aminés composant la structure de son récepteur (protéine). [44]

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée. [48]

L'objectif principal du docking moléculaire est d'atteindre un complexe ligand-récepteur avec une conformation optimisée possédant l'énergie libre la moins contraignante. [49]

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires : le docking et le scoring.

- **Le Docking :** est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables. [43]
- **Le Scoring :** est l'étape de classement, qui 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 proposées. [43]

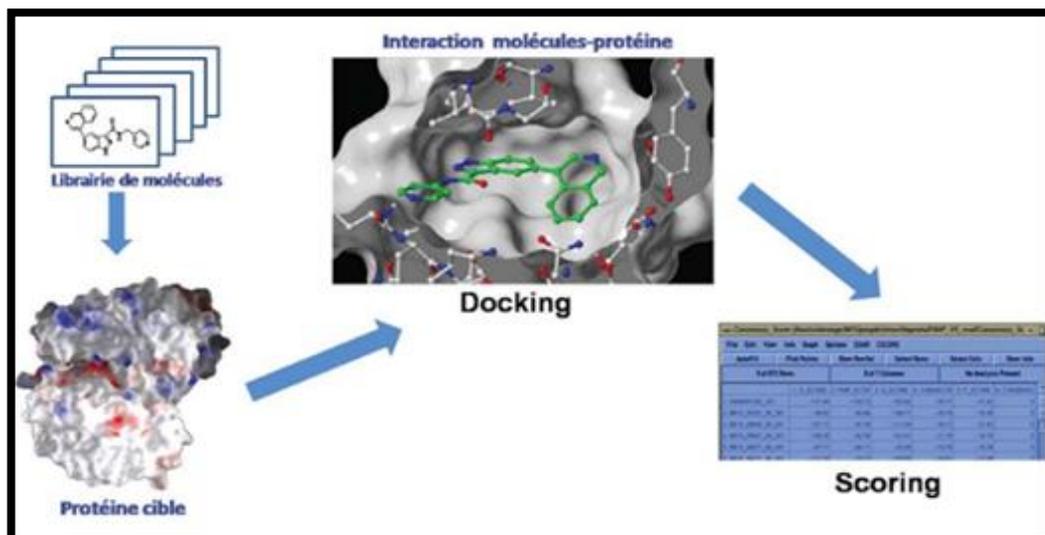


Figure N° 14 : Principe général d'un programme de docking. [50]

2.2. Types de Docking

On peut distinguer trois niveaux de docking moléculaire :

- Le docking rigide est le premier logiciel de docking développé au début des années 90 considérant le récepteur et le ligand rigides en se basant sur le modèle « clé-serrure ». C'est le docking le plus simple et le plus rapide. [44]
- Cependant, il est tout à fait concevable que les structures de la protéine et du ligand soient modifiées durant le processus de docking moléculaire afin d'obtenir des résultats plus précis. On parle, dans ce cas, de Docking flexible où la flexibilité des deux molécules est traitée, mais la flexibilité de récepteur permise est très limitée. [44]
- Entre les deux modes existe le Docking semi-flexible, où le ligand est considéré comme flexible et le récepteur gardé rigide. Ce type de docking est le plus employé.

La rigidité structurelle du récepteur est suffisante pour préserver sa forme native spécifique ; ainsi que la flexibilité du ligand permet son bon fonctionnement (activité enzymatique des enzymes...). La flexibilité est donc essentielle pour conserver leur activité biologique. [41] [44]

3. Les interactions protéine-ligand

Les interactions qui régissent et stabilisent les structures tridimensionnelles des macromolécules sont généralement de diverses natures :

3.1. Les interactions de Van Der Waals

Sont des interactions dues aux nuages électroniques entre deux atomes adjacents conduisant à la présence d'une force attractive pour des distances de 3-4 Å (ces forces comprennent une composante attractive à longue portée [forces de dispersion de London] et une composante répulsive à très courte portée). De par leur grand nombre, ces interactions jouent un rôle important dans la stabilisation des complexes et favorisent leur compacité. [51]

Mais ces interactions attractives deviennent négligeables au regard des interactions répulsives qui sont dues au trop grand rapprochement des nuages électroniques des atomes non liés considérés. C'est ce phénomène qui empêche d'avoir des interactions électrostatiques avec une distance extrêmement faible. [52]

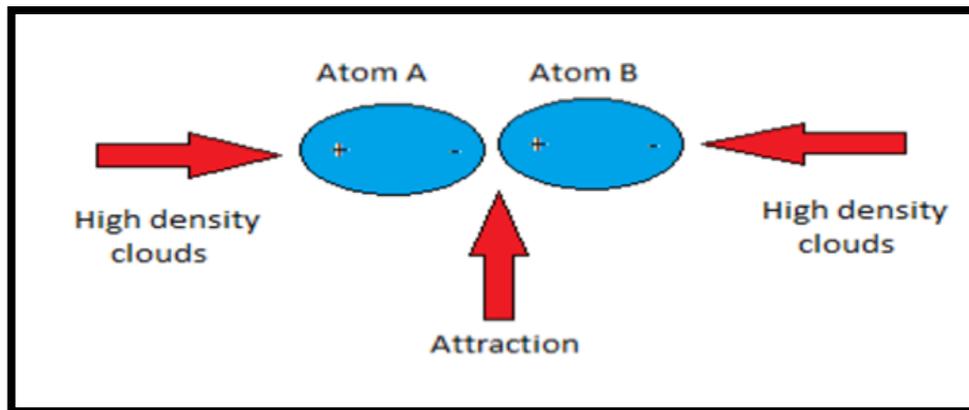


Figure N° 15 : Les forces de Van Der Waals. [41]

3.2. La liaison hydrogène

La liaison hydrogène est une force attractive qui s'opère entre deux groupes d'atomes impliquant un atome d'hydrogène. Cette liaison ne s'effectue pas avec n'importe quel atome. Il faut un donneur et un accepteur :

Le donneur est l'atome d'hydrogène lié de manière covalente à un atome électronégatif : typiquement azote, oxygène, fluor.

L'accepteur est un autre atome électronégatif : typiquement azote, oxygène ou fluor. La liaison hydrogène est donc le résultat d'une interaction dipôle-dipôle. [4]

Les liaisons hydrogène sont souvent décrites par deux paramètres : la longueur de la liaison et l'angle formé par les trois atomes. Les valeurs des angles et des distances varient respectivement de 90 à 180 degrés et de 1.2 à 4.0 Å. [4]

Ces liaisons jouent un rôle très important dans le repliement protéique, les changements conformationnels et la reconnaissance protéine/ ligand, elles affectent les propriétés physico-chimiques des molécules telles que la solubilité et la perméabilité membranaire qui sont des éléments cruciaux pour le développement d'un nouveau médicament. [53]

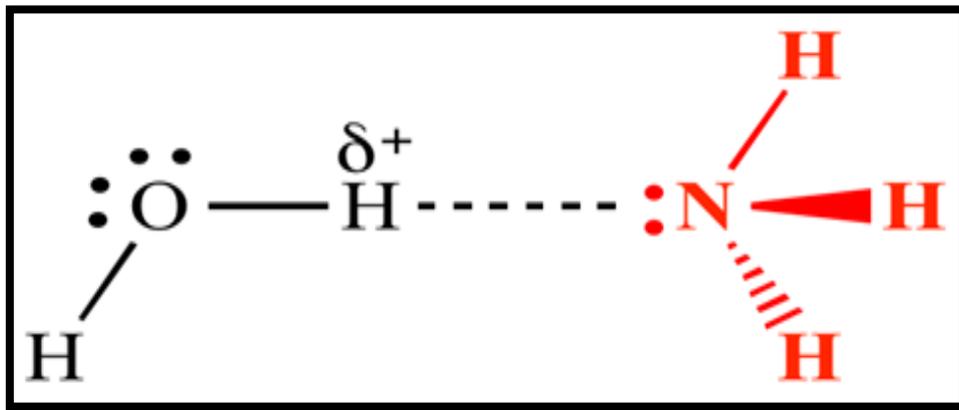


Figure N° 16 : La liaison Hydrogène. [54]

3.3. Les liaisons ioniques

Les liaisons ioniques ou ponts salins résultent d'une force d'attraction électrostatique entre deux atomes de charges opposées. La distance pour une liaison saline doit être inférieure à 4,0-4,5 Å et sa force reste très importante pour une interaction non covalente qui peut atteindre 10 Kcal/mol. [52]

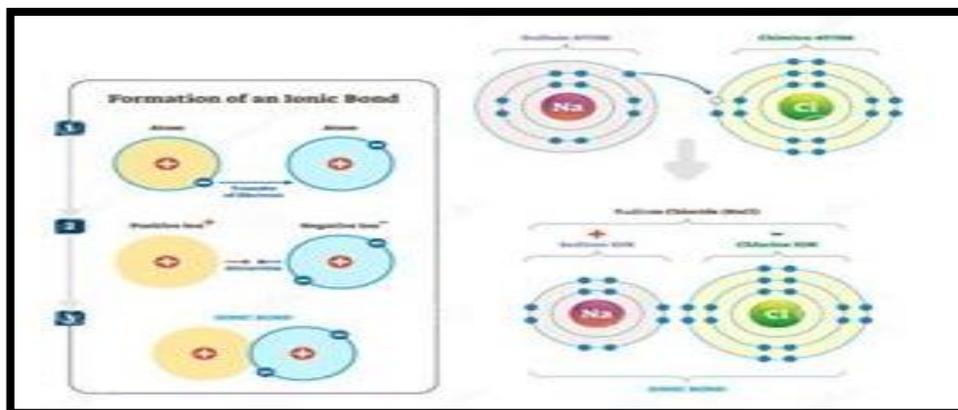


Figure N° 17 : Les liaisons ioniques. [55]

3.4. Les interactions hydrophobes

Les interactions hydrophobes sont créées par le regroupement des molécules non polaires qui ne sont pas capables de former de liaisons hydrogène et ne peuvent donc pas s'hydrater, ces molécules possèdent une très faible affinité pour le solvant où elles sont dissoutes (eau). Ce type d'interactions est le plus fréquent dans les études d'interactions protéine-ligand pour augmenter l'affinité du ligand. [52] [56]

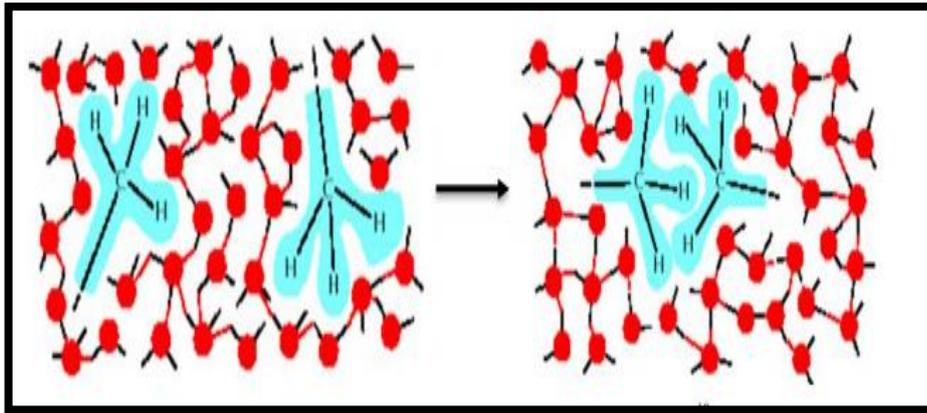


Figure N° 18 : les interactions hydrophobes. [57]

3.5. Interactions électrostatiques

Certains acides aminés peuvent être chargés positivement ou négativement, ce qui donne lieu à des interactions électrostatiques. Ces interactions électrostatiques agissent à "longues" distances (autour de 10 Å), entre des groupes d'atomes électriquement chargés. [58]

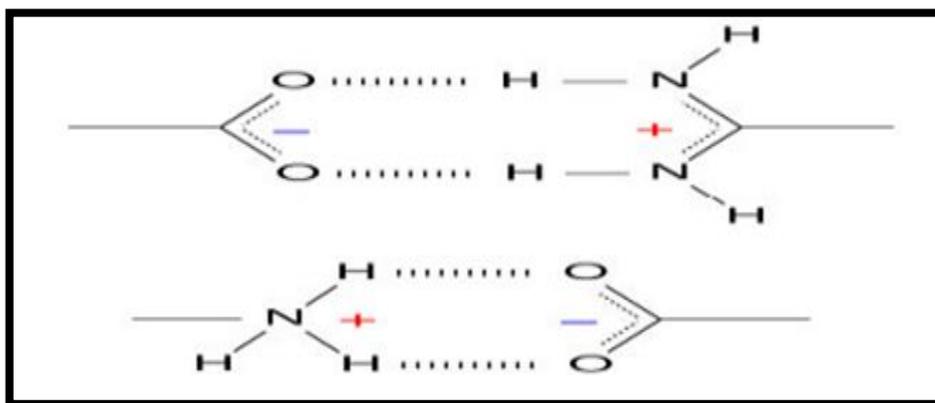


Figure N° 19 : Interactions électrostatiques. [41]

4. Les outils du docking moléculaire

4.1. Les récepteurs

Les récepteurs sont des structures chimiques, composées de protéines, qui reçoivent et transduisent des signaux qui peuvent être intégrés dans des systèmes biologiques. [59]

Les structures 3D protéiques sont disponibles gratuitement dans la PDB « Protein Data Bank », une base de données pour les données structurales tridimensionnelles de grosses molécules biologiques, telles que les protéines et les acides nucléiques. Les données, généralement obtenues par cristallographie aux rayons X, spectroscopie RMN ou, de plus en plus, par microscopie Cryo électronique. [60]

Les coordonnées atomiques des structures se trouvent dans un format de référence, appelé pdb (indispensable à l'opération de docking moléculaire), lu par différents logiciels de visualisation, de modélisation, de criblage virtuel, etc...

Le fichier pdb contient diverses informations sur la macromolécule telles que le nom du récepteur, l'équipe qui a résolu la structure, la méthode expérimentale, etc... [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. [62]

4.2. Les ligands

Un ligand est une substance qui forme un complexe avec une biomolécule à des fins biologiques. Dans la liaison protéine-ligand, le ligand est généralement une molécule qui produit un signal en se liant à un site sur une protéine. [63]

Jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal, etc...

Le choix du ligand est une étape très importante pour le succès du docking moléculaire, il y a deux grandes sources de structures chimiques des ligands qui doivent être en 3D :

La première représente des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2...etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire 3D tels que chemDraw, Titan, Sybyl, etc...

La seconde source de structures de ligands est parfois d'aspect commercial, où on trouve des bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques. [44]

Parmi les chimiothèques virtuelles nous citons : pubchem, Chimiothèque nationale Française, Zinc...

4.3. Programmes de docking moléculaire

Plus de 30 logiciels de docking sont actuellement disponibles qu'ils soient commerciaux ou libres. Ces programmes présentent des algorithmes de recherche et des fonctions de score variés. Les cinq les plus fréquemment cités sont : AutoDock, GOLD, Flex X, DOCK et ICM. [46]

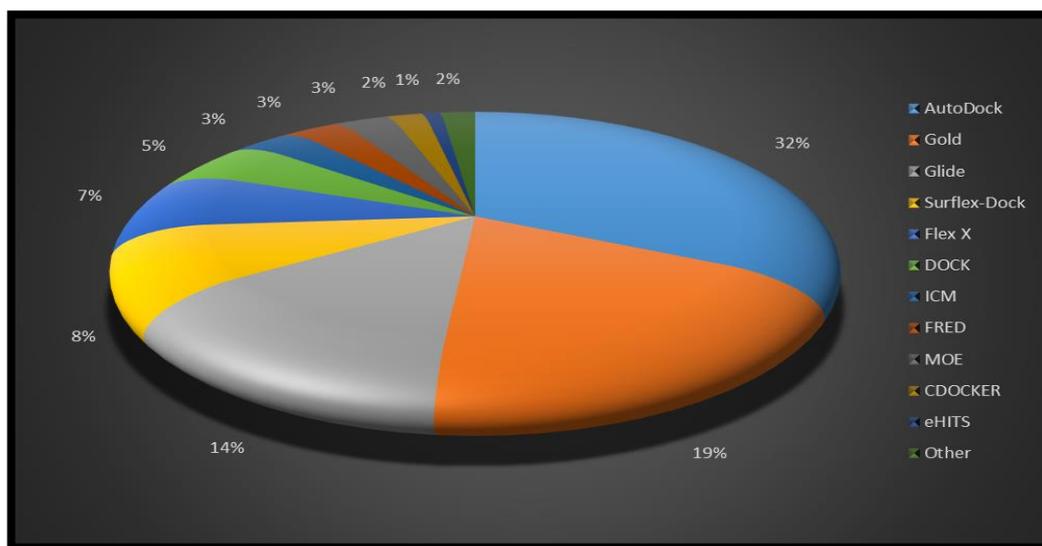


Figure N° 20 : Utilisation des différents logiciels de docking. [64]

Tableau N° 7 : Les programmes de Docking moléculaire. [41]

Nom	Editeur	Site Internet
AutoDock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc./autodock
Gold	CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
flexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred	OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/applications/Fred.html
Glide	Schrödinger	http://www.shrodinger.com/products/glide.html
Dock	UCSF	http://www.dock.combio.ucsf.edu/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html

CHAPITRE 4

MATERIELS ET

METHODES

I. Matériel

La manipulation du docking nécessite l'utilisation des outils suivants :

1. Micro-ordinateur

Notre travail pratique dans cette étude a été réalisé à l'aide de deux microordinateurs dans lesquels tous les programmes utilisés ont été installés sous système d'exploitation Windows 10. 64 versions 2019 :

- Le 1^{er} Acer possède un processeur Intel(R) Core (TM) i5 CPU 1.80 GHz et une mémoire vive de 4Go.
- Le 2^{eme} Lenovo possède une mémoire vive de 2Go et un processeur Intel(R) Celeron (R) CPU N 3060 @ 1.60 GHz.

2. Le réseau internet

Un outil indispensable pour le téléchargement des programmes, l'obtention des complexes protéiques, la simulation des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques et pour la recherche documentaire.

3. Banques de données

3.1. PDB (PROTEIN DATA BANK)

Est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle de macromolécules biologiques : protéines, essentiellement, et acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN. Elle est librement accessible, permet de télécharger les structures 3D et d'avoir accès à plusieurs informations telles que : l'IC50, le code des ligands, les propriétés physicochimiques, etc... via son site web : <http://www.rcsb.org/pdb/>. [65]

3.2. Pubchem

Pubchem est la plus grande collection au monde d'informations chimiques librement accessibles. Cette chimiothèque permet de rechercher des produits chimiques par nom, formule moléculaire, structure ou par d'autres identifiants, elle permet aussi de trouver des propriétés chimiques et physiques, des informations sur la sécurité et la toxicité, des brevets, des citations

de la littérature et plus encore. On peut la consulter via le lien : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. [66]

3.3. Drugbank

Est une ressource unique de bio-informatique et de chiminformatique qui combine des données détaillées sur les médicaments (Chimiques, pharmacologiques et pharmaceutiques) avec des informations complètes sur les cibles des médicaments (Séquence, structure et voie). [67]

4. Les programmes

Afin de réaliser notre expérience par docking moléculaire, nous avons utilisé les programmes suivants :

4.1. Arguslab version 4.0.1

Est un programme de docking moléculaire et de dessin de divers ligands, il permet également de séparer les complexes (protéine-ligand) téléchargés de la PDB. [68] Il utilise le format *.pdb* et n'a pas besoin d'une préparation préalable. [69]

4.2. Open Babel version 2.4.2

Est un système expert principalement utilisé dans des applications de chiminformatique pour la conversion de fichiers de structures chimiques. [4] Il nous a facilité la conversion des fichiers de structures chimiques (enzyme et ligand) d'un format à un autre (pdb, mol, mol2, sdf...etc).

4.3. Surfex version 1.3 (2005)

Le programme Surfex comprend deux parties. L'une pour des études de similarité tridimensionnelle des molécules, et l'autre pour des études de Docking. Dans cette étude nous avons utilisé seulement la partie Docking. [69]

4.4. MSViewer version 4.2.0.0

Pour visualiser de la superposition des ligands de référence et ceux générés par surflex en comparaison avec les résultats du RMSD.

4.5. Biovia Discovery studio visualizer

Permet une meilleure visualisation des interactions Protéine-Ligand et leur présentation en schéma 2D.

4.6. Chem3D Professional 17.1

Est un éditeur de molécules faisant partie de la suite du programme ChemOffice. Il permet de générer des modèles 3D de petites molécules et de composés biochimiques. [70]

Nous avons utilisé Chem3D pour faire des modifications par substitution sur les similaires afin d'obtenir des nouveaux ligands.

4.7. Serveur ADME/T lab

ADMET lab est une plate-forme en ligne permettant aux utilisateurs d'effectuer une analyse de druglikeness, la prédiction des points finaux ADMET, l'évaluation systématique et la recherche de similarité, ce qui donne une compréhension globale d'un lot de composés et peut réaliser le processus de criblage rapide. On peut consulter ce serveur via le lien : <http://admet.scbdd.com/>. [71]

4.8. Excel Microsoft 2013

Il a été utilisé pour tracer la courbe de corrélation linéaire lors du test de fiabilité de Surfex et pour calculer le coefficient de corrélation (r).

II. Méthodes

1. Préparation des molécules au docking moléculaire

1.1. Choix de l'enzyme

L'enzyme d'intérêt de notre étude est la nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT) dont la structure 3D est disponible dans la banque de donnée Protein Data Bank.

Il existe plusieurs structures tridimensionnelles de la NAMPT dont environ la moitié sous forme de complexes NAMPT-ligands. Ces derniers se différencient par :

- la source de la NAMPT : E. coli, S. aureus, Homo sapiens...etc
- la nature du ligand intervenant dans le complexe.
- le degré de résolution de complexe.

- Le nombre des chaînes et des AA.

1.2. Préparation des protéines

Les complexes (protéine-ligand) de cette enzyme ont été téléchargés au format *.pdb*, puis séparés par le logiciel Arguslab, en gardant pour chaque complexe une seule chaîne avec l'élimination de toutes les molécules d'eau et les autres composés de cristallisation afin d'obtenir un récepteur avec un site actif libre. Ensuite, les hydrogènes sont ajoutés.

Chaque structure séparée a été enregistrée dans des fichiers différents sous format *.pdb*. Elles doivent être converties au format *.mol2* par Openbabel pour l'utilisation par Surfex,

1.3. Préparation des ligands

Les ligands ont été séparés de leur complexe, en prenant en considération l'élimination de toutes les protéines, molécules d'eau...etc.

Comme pour les protéines, les modifications apportées aux ligands ont été sauvegardées sous format *.pdb*.

Enfin, la conversion des ligands séparés au format *.mol2* à l'aide du logiciel OpenBabel.

2. Protocole de docking par Surfex

➤ 1ère étape : génération du protomol

Pour la création d'une pseudo-molécule appelée "protomol", nous avons utilisé la commande suivante:

Surflex-dock proto ligand.mol2 protein.mol2 pl.

➤ 2ème étape : le docking moléculaire

Cette étape nécessite la présence d'un ligand, un protomol et une protéine sous format *.mol2*. Pour le docking d'une seule molécule nous avons utilisé la commande :

surfex-dock dock ligand.mol2 pl protomol.mol2 protein.mol2.

➤ 3ème étape : calcul du RMSD

Le RMSD considéré est celui des atomes lourds.

3. Les tests de fiabilité du programme Surflex

Les performances d'un programme de docking sont évaluées en termes de capacité à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux.

L'évaluation de la performance du programme Surflex s'effectue par les tests suivants :

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

3.1. Le RMSD ou l'écart quadratique moyen

Le RMSD est une mesure de la similarité entre la position réelle du ligand dans le récepteur et la position calculée du ligand docké. [56]

La capacité d'un programme à réussir ce travail est habituellement jugé au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (root-mean-square deviation) du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure du cristal. La prédiction est acceptable si sa valeur ne dépasse pas 2 angströms. [69]

La performance du logiciel a été évaluée sur 200 complexes pris de manière aléatoire de la PDB pour la plupart des complexes.

Les calculs du RMSD ont été réalisés par le logiciel Surflex, en utilisant la commande suivante :

```
Surflex-dock rms ligand.mol2 final-0.mol2
```

Dans le cas où le rms obtenu est supérieur à 2 et inférieur à 3 on peut lancer la commande suivante :

```
Surflex-dock optrms ligand.mol2 final-0.mol2
```

➤ L'analyse visuelle

Pour compléter et confirmer les résultats obtenus par le test précédent, nous avons fait une analyse visuelle de ces résultats par l'intermédiaire du logiciel MSViewer.

Ce test basé sur la comparaison de la superposition du ligand de référence avec le final-0 et l'optrms (en cas d'une optimisation du RMSD) au sein du site actif de la protéine. Dans notre cas, l'analyse visuelle a été effectuée sur trois complexes de différents RMSD : le meilleur, l'intermédiaire, et le plus mauvais.

3.2. Coefficient de corrélation linéaire (r)

Le coefficient de corrélation (r) est une mesure statistique du degré auquel les changements de la valeur d'une variable prédisent le changement de la valeur d'une autre, autrement dit, il donne une mesure de l'intensité et du sens de la relation linéaire entre deux variables. [72]

Le calcul du coefficient de corrélation peut être effectué en utilisant différentes méthodes et il est exprimé sous forme de valeurs comprises entre +1 et -1. La corrélation peut être proportionnelle ou inversement proportionnelle. [72]

Ce test a été réalisé dans cette étude sur 40 complexes téléchargés de manière arbitraire de la PDB, entre l'affinité calculée par le programme surflex et l'IC50 déterminée expérimentalement de chaque complexe. Plus la valeur (r) est proche de 1 ou -1, plus le programme est fiable.

Les valeurs sont représentées dans le chapitre résultats et discussion.

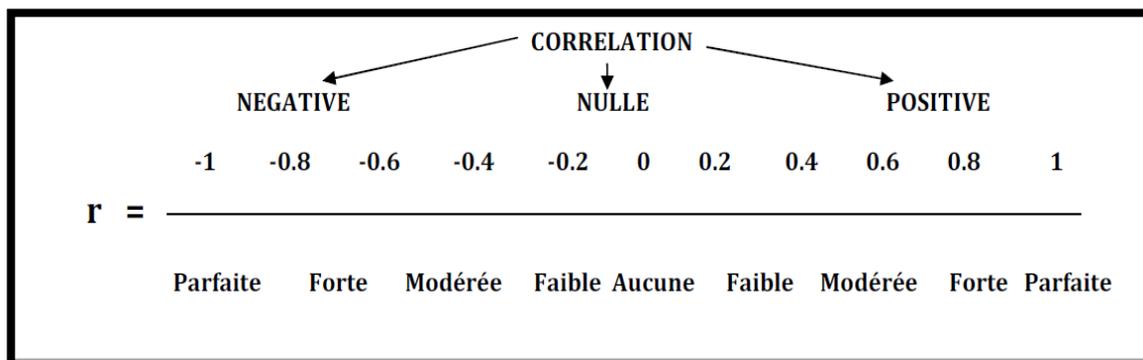


Figure N° 21 : les différentes valeurs de r. [42]

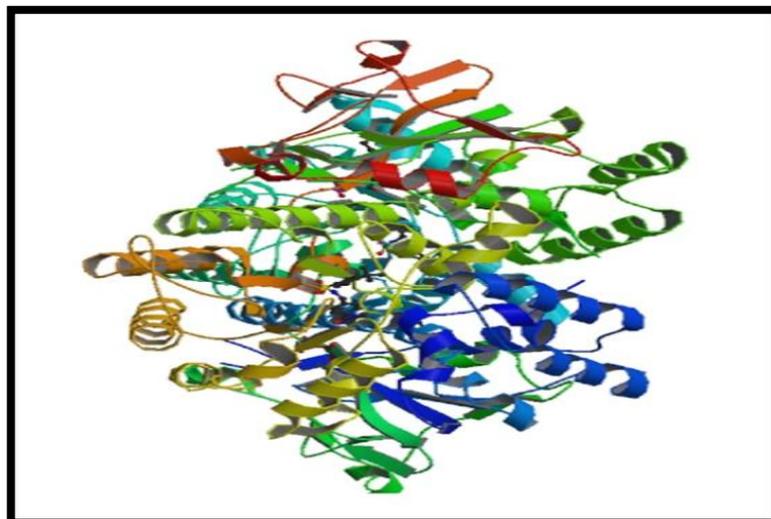
4. Le choix du complexe 4N9D

Parmi les complexes proposés de la NAMPT par la PDB, nous avons choisi d'étudier le complexe ayant le code 4N9D en raison de sa bonne résolution de 1,70 Å (faible valeur) et sa structure simple et favorable.

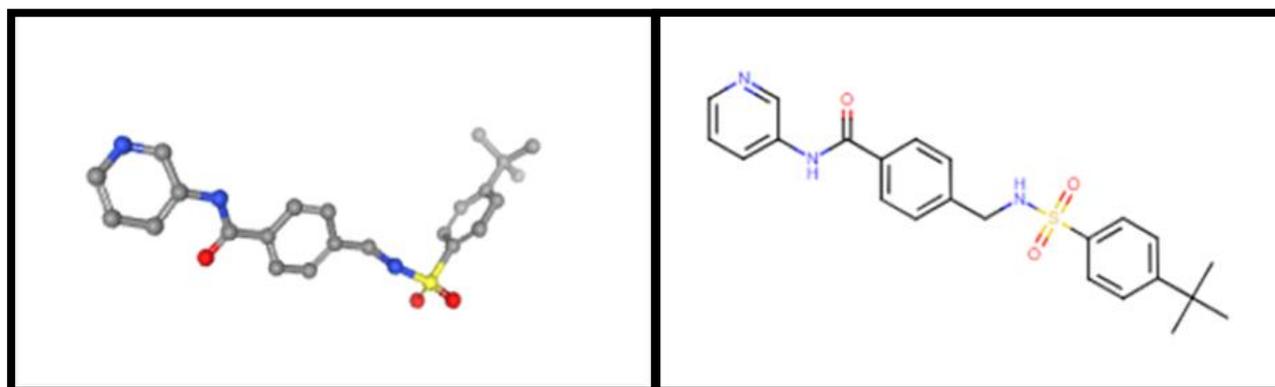
Les caractéristiques de ce complexe sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

Tableau N° 8 : les caractéristiques de la 4N9D. [73]

Code PDB	Résolution (Å)	Nombre de chaînes	Classification	Nombre des AA	Organisme
4N9D	1.70	2 (A et B)	EC : 2.4.2.12	501	Homo sapiens

**Figure N° 22 :** Structure tridimensionnelle du complexe 4N9D. [73]

Le ligand de ce complexe a pour code 2hj, sur lequel nous avons effectué des études de similarité, de substitution...etc.



(1)

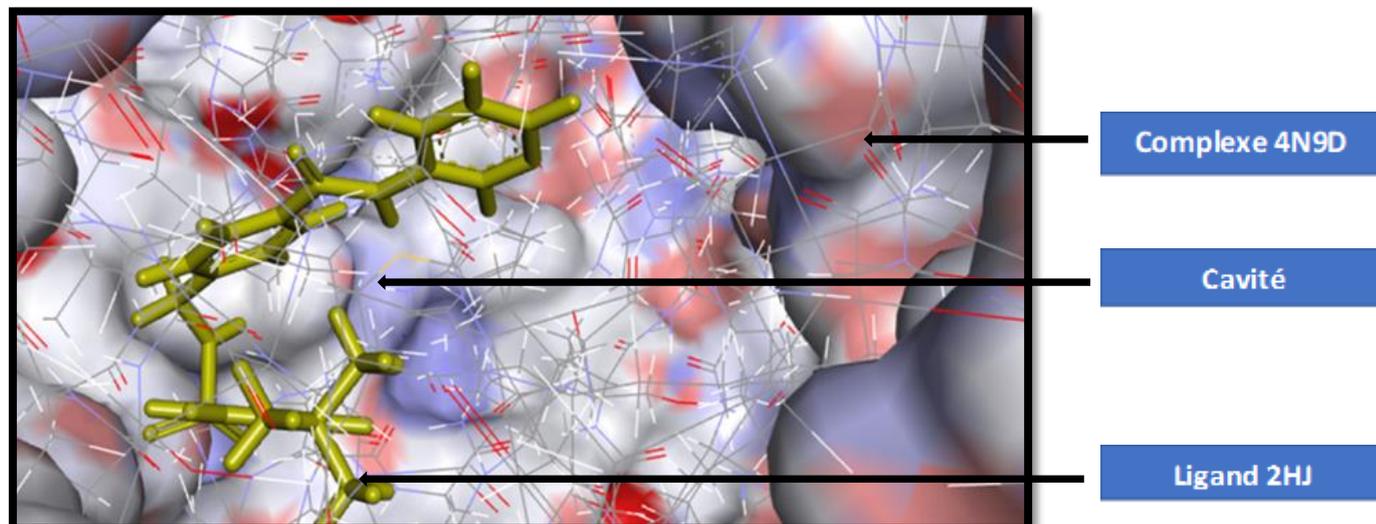
(2)

Figure N° 23 : Représentation du ligand 2HJ (1) 3D (2) 2D. [74]

Les caractéristiques pharmacologiques du ligand 2hj sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

Tableau N° 9 : les caractéristiques pharmacologiques du ligand 2hj. [74]

Ligand	PM	Donneurs de H	Accepteurs de H	Liaisons rotables	Log p
2HJ	423.53	2	6	7	3.93

**Figure N° 24** : Représentation du complexe 4N9D-2HJ.

5. Identification de nouveaux inhibiteurs théoriques de la NAMPT

5.1. Criblage virtuel d'une collection de similaires

Dans le but de rechercher de nouveaux inhibiteurs théoriques de la NAMPT, nous avons pris comme structure de base notre ligand de référence 2HJ.

La banque de données PubChem nous propose 302 similaires au ligand de référence (2HJ) avec un taux de similarité de 92%. Les similaires ont été téléchargés sous extension *.sdf*, puis convertis au format *.mol2* avec le programme OpenBabel.

Le docking moléculaire de ces similaires dans le site actif de l'enzyme nous permettra de repérer de nouveaux inhibiteurs potentiels de la NAMPT.

Pour prédire l'affinité de ces similaires nous avons utilisé la commande « dock_list » du logiciel Surflex :

```
surflex-dock dock_list ligarchive pl-protomol.mol2 protein.mol2 log
```

Les résultats des affinités seront ordonnés de la façon suivante : (log-0....log9; log-10....log19; log-20....log29; etc....). On peut remplacer la signification “ log ” par une autre (par exemple : final, résultat...etc.) comme suivant :

surflex-dock dock_list ligarchive pl-protomol.mol2 protein.mol2 final

Cette commande ne s'applique qu'après une préparation indispensable comme suit :

- Répertorier dans un dossier les similaires.
- Créer un fichier que l'on nomme « ligarchive » incluant l'adresse de chaque similaire dans son répertoire précis.
- Fournir la protéine ainsi que le protomol au format *.mol2*.

6. La modélisation moléculaire par substitution

Afin de créer de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de la NAMPT, nous avons effectué 2 types de substitutions (65 mono-substitutions et 52 bi-Substitutions) au niveau de 5 positions du composé N°260 qui est le meilleur parmi les 299 similaires, en ajoutant de nouveaux groupements chimiques fonctionnels qui permettent d'améliorer son affinité.

La substitution a été faite avec le programme de construction moléculaire Chem3D. Il permet de minimiser l'énergie potentielle des ligands similaires par deux types : MM2 et MMFF94.

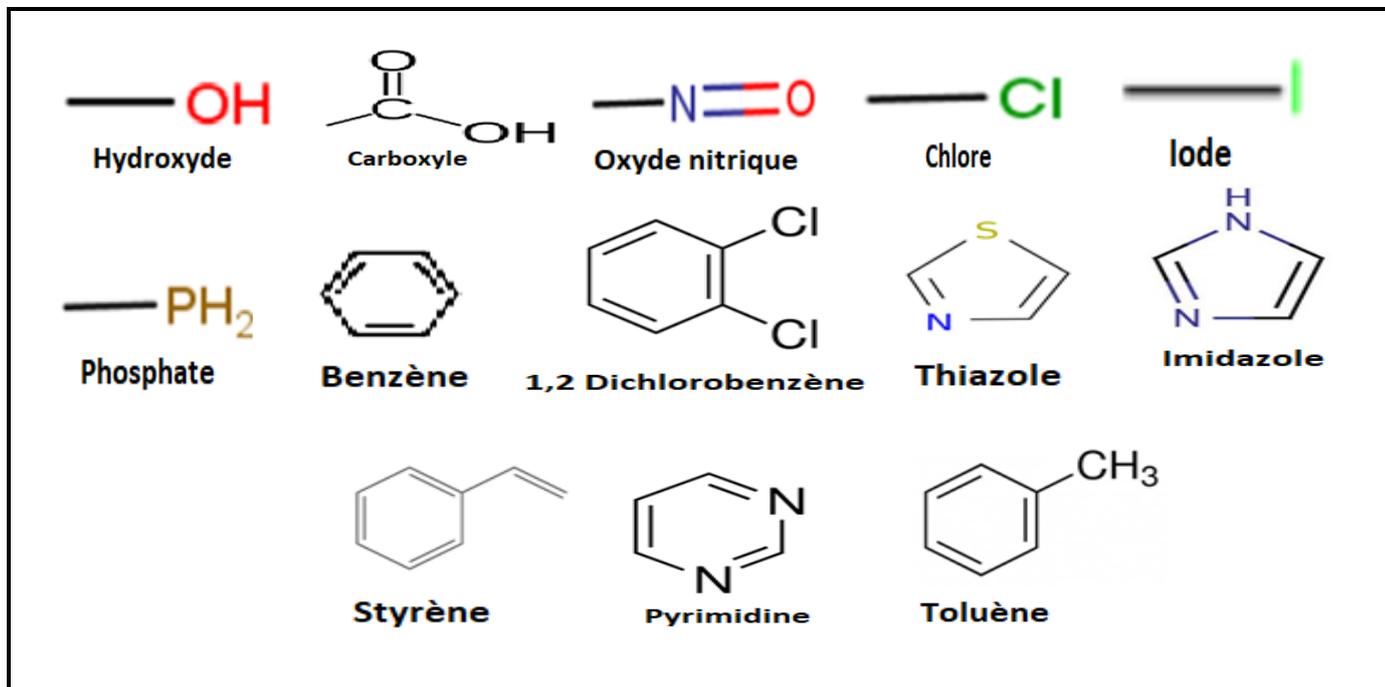


Figure N° 25 : les groupements ajoutés lors de la substitution.

7. Filtrage ADME/Tox

Les propriétés ADME-Tox (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination et Toxicité) sont des critères qui décrivent la disposition d'une molécule bioactive dans un organisme. Ils expriment les concentrations du produit dans les différents tissus et système circulatoire de l'organisme. Les résultats obtenus par ces critères permettent d'analyser la performance et l'efficacité d'un produit afin de juger sa capacité à devenir un médicament et l'intérêt à poursuivre son développement pour des études cliniques. [75]

7.1. Propriétés physico-chimiques

Les méthodes rapides d'évaluation des propriétés ADMET de petites molécules impliquent souvent l'application d'un ensemble de règles empiriques simples, ces règles ne peuvent pas évaluer toute la complexité du corps humain mais peuvent fournir des informations précieuses et aider à la prise de décision. [76]

Lipinski en 1997 a défini un ensemble de règles permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle. Ces règles concernant les propriétés physico-chimiques ont été définies après l'analyse de 2245 médicaments commercialisés ou en phase finale de développement.

Selon cette règle, un composé possède toutes les chances d'être biodisponible oralement s'il respecte au moins 3 des 5 critères suivants :

- Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da).
- Le coefficient de partage Octanol / eau ($\log P$) doit être ≤ 5 .
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être ≤ 5 .
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être ≤ 10 .
- Le nombre de liaisons rotatives doit être ≤ 15 .

La valeur du $\log P$ permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule. En effet, si $\log P$ est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement.

En complément de ces règles, Veber a introduit deux critères supplémentaires à ce qui est aujourd'hui communément appelé "la règle des 5". La surface polaire (PSA) du composé doit être inférieure à 140 \AA^2 et le nombre de liaisons de rotation doit être inférieur à 10. [77]

De plus, d'autres règles sont prises en compte dans la sélection de molécules potentiellement candidates :

Filtre de Ghose : Ce filtre définit les contraintes de ressemblance aux médicaments :

- Poids moléculaire entre 160 et 480
- LogP entre -0,4 et +5,6
- Nombre d'atomes entre 20 et 70
- Réfractivité molaire entre 40 et 130 [78] [79]

Règles d'Oprea :

- Le nombre de liaisons rigides ≥ 18
- Le nombre de liaisons rotatives ≥ 6

Règles de Varma :

- Masse moléculaire ≤ 500
- TPSA ≤ 125
- LogD entre -5 et 2
- Donneur et Accepteur de liaison hydrogène ≤ 9
- Le nombre de liaisons rotatives ≤ 12 [56]

7.2. Propriétés pharmacocinétiques

Ce sont des mesures quantifiables qui peuvent concerner les différentes phases de la vie d'un médicament, à savoir le système ADME. Les paramètres pharmacocinétiques sont déterminés lors du développement clinique des médicaments (études de phase I) dans des groupes homogènes de sujets. Ils doivent également être définis dans des groupes de sujets ayant des caractéristiques physio-pathologiques variables (sujets âgés, patients insuffisants rénaux...) afin de quantifier l'impact de ces facteurs individuels sur les valeurs des paramètres et donc sur l'évolution des concentrations. [41]

Absorption intestinale humaine (HIA) : cette propriété fait référence au processus par lequel les médicaments administrés par voie orale sont absorbés par le système gastro-intestinal dans la circulation sanguine du corps humain. [80]

La perméabilité BBB (Blood-Brain-Barrier) : ce critère indique la capacité d'une substance à traverser la barrière hémato-encéphalique. Ceci est important pour les médicaments psychotropes, qui doivent exercer leur action dans le système nerveux central. [81]

Inhibition de CYP 450 : Un médicament est un inhibiteur d'un cytochrome quand il bloque le métabolisme que doit effectuer un cytochrome pour éliminer un autre médicament ou substance. Cette association médicamenteuse a pour effet de diminuer le métabolisme du médicament inhibé, d'en augmenter sa concentration plasmatique, de prolonger ses effets thérapeutiques et de déclencher éventuellement des effets indésirables si la dose de ce médicament dont le métabolisme est inhibé n'est pas diminuée. [82]

La demi-vie d'élimination ($t_{1/2}$) : C'est un indicateur de la durée de persistance du médicament dans l'organisme. [80]

7.3. Toxicité

La toxicité d'une molécule peut être estimée à partir de sa structure chimique, ce qui contribue à réduire les échecs dus à ces mauvaises propriétés d'ADME-T. Pour cela, Il est donc très important de tenter de prédire la toxicité d'un composé à partir de sa structure dans cette phase (étude in silico) dans le but d'éviter la présence des effets secondaires graves lors des phases cliniques.

Test d'Ames : est un test pour déterminer la capacité d'un produit chimique ou d'un médicament à induire des mutations dans l'ADN. [80]

Inhibition de hERG : hERG, également connu sous le nom de gène apparenté à l'éther-a-go-go, code pour le canal potassique Kv11.1 et joue un rôle clé dans la génération de potentiels d'action cardiaque. Par conséquent, l'inhibition des canaux hERG est associée à une mort cardiaque. [80]

DL50 de toxicité aiguë : La DL50 correspond à la dose d'une substance pouvant causer la mort de 50 % d'une population animale dans des conditions d'expérimentation précises. Plus ce chiffre est petit, plus la substance est toxique.

Sensibilisation cutanée (LLNA) : est un modèle murin développé pour évaluer le potentiel de sensibilisation cutanée des produits chimiques (médicaments). [83]

CHAPITRE 5

RESULTATS ET

DISCUSSION

1. Introduction

Généralement, les techniques de docking moléculaire permettent de prédire, par des méthodes de calcul, les structures du complexe ligand-protéine en partant d'un ensemble variable de conformations et d'orientations du ligand et parfois du récepteur.

Dans ce chapitre on va aborder principalement les interprétations des résultats obtenus, il est scindé en trois parties. La première partie consiste aux résultats des tests d'évaluation de la performance du programme de docking moléculaire "Surflex" utilisé dans cette étude. Ensuite, la deuxième partie dédiée aux résultats du criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques de notre ligand de référence téléchargés de la Pubchem, puis la substitution (la mono et la bi substitution) du meilleur similaire afin de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs plus puissants. Dans une dernière partie, en nous appuyant sur les résultats précédents, nous avons évalué les propriétés physico-chimiques et pharmacologiques dans le but d'identifier de nouvelles molécules susceptibles de devenir des médicaments administrés par voie orale.

2. L'évaluation du programme de docking utilisé

Avant de débiter notre étude, nous avons tenté d'évaluer la fiabilité du programme de docking moléculaire Surflex. Pour cela deux tests, le test RMSD et le test de corrélation, sont utilisés pour vérifier sa reproductibilité théorique par rapport aux résultats expérimentaux.

2.1. Le test RMSD (Root Mean Square Deviation)

La caractéristique clé d'un bon programme de docking est sa capacité à reproduire les modes de liaison expérimentaux des ligands. Une prédiction est considérée réussie si le RMSD est au-dessous ou égal à la valeur (2,0 Å).

Pour établir le taux de réussite d'un programme de docking, un grand ensemble des complexes protéine-ligand est nécessaire. Nous avons ainsi évalué l'efficacité du logiciel Surflex en nous servant du test RMSD appliqué sur 200 complexes protéines-ligands téléchargés de façon arbitraire de la PDB afin de nous assurer que ce logiciel peut être utilisé sans trop de risque d'erreurs dans notre étude sur le NAMPT.

Les valeurs obtenues sont classées selon le critère suivant : bonne ($\text{RMSD} \leq 2,0\text{Å}$), acceptable ($\text{RMSD} > 2\text{Å}$ et $\leq 3,0\text{Å}$), imprécise lorsque la solution du docking est loin du site actif ou dans une position inversée ou incorrecte ($\text{RMSD} > 3\text{Å}$). Les codes PDB des complexes

et de leurs inhibiteurs ainsi que les valeurs de leurs RMSD obtenus par Surfex sont mentionnés dans le tableau (Annexe 1). Les résultats sont illustrés dans la figure ci – dessous :

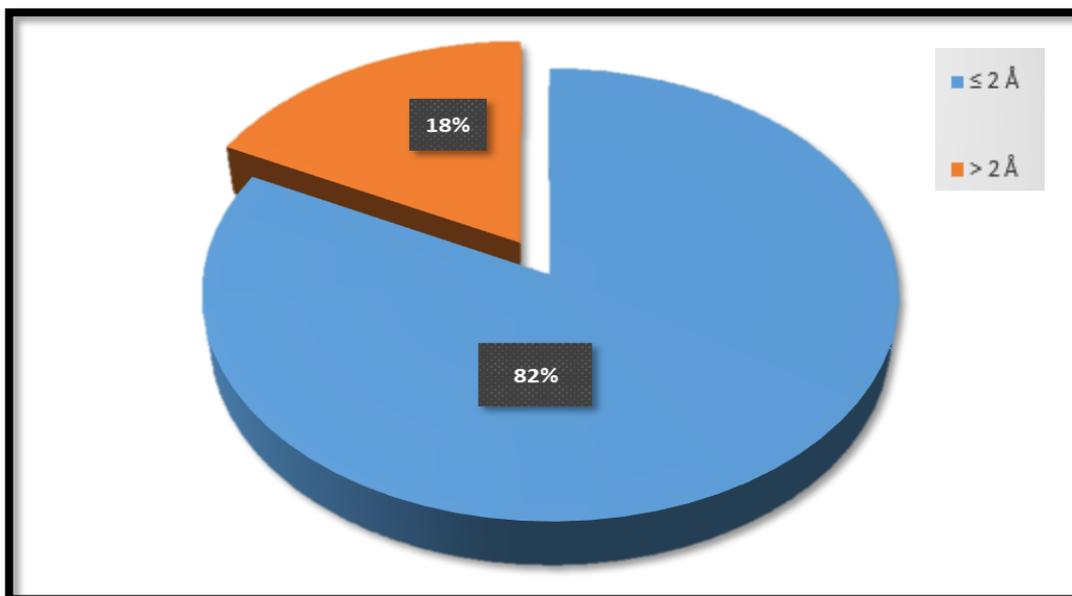


Figure N° 26 : Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles obtenus par Surfex.

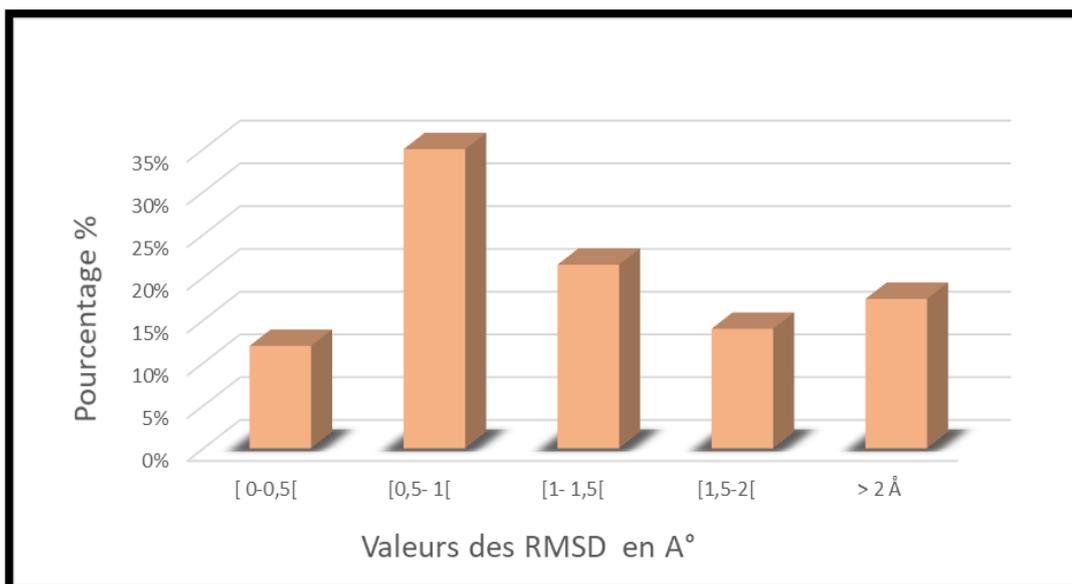


Figure N° 27 : Histogramme en % des valeurs de RMSD à divers intervalles.

D'après ces résultats, nous remarquons que la valeur de RMSD des modèles conçus par le logiciel Surfex vis-à-vis des structures cristallines ne dépasse pas 2Å dans la plupart des complexes. En effet, il apparait que seulement 18% des valeurs sont supérieures à 2Å, tandis

que 82% des complexes ont des valeurs inférieures à 2Å. La majorité des bonnes valeurs de RMSD sont comprises dans la gamme de 0,5 –1,0 Å avec un rapport de 35 %.

Nous avons remarqué que la présence de liaisons rotatives dans certains ligands était probablement la raison pour laquelle leur RMSD est supérieur à 2 Å. En effet, un nombre élevé de ce type de liaison est défavorable à l'interaction avec l'enzyme car il génère un très grand nombre de conformations. [42]

En revanche, Nos résultats sont conformes aux résultats de Chikhi et Bensegueni (2008) (63%) [84], Teniou. S., (2012) (85,8%) [85] qui montrent que chaque programme de docking est réussi lorsque le RMSD est inférieur ou égal à 2 Å.

➤ **Analyse visuelle**

Afin de nous assurer de la fiabilité du programme surflex et aussi confirmer les résultats du RMSD, nous avons procédé à une analyse visuelle qui permet de déterminer si un ligand simulé se superpose avec le ligand Co-cristallisé.

En effet, nous avons mené une analyse visuelle sur trois complexes « nicotinamide phosphoribosyltransferase – inhibiteurs » disponibles au niveau de la PDB et présentant des valeurs RMSD assez différentes : le 4LVA (le meilleur), le 3DKL (l'intermédiaire) et le 5WI0 (le mauvais).

Tableau N° 10 : Valeurs de RMSD des trois complexes étudiés.

Complexe	RMSD (Å)	Description du RMSD	Description du ligand
4LVA	0,822	Meilleur	Coloré en rouge
3DKL	2,589	Intermédiaire	Coloré en vert
5WI0	4,159	Mauvais	Coloré en bleu

La comparaison de la conformation expérimentale des trois complexes avec les conformations calculées par le logiciel surflex est montrée dans les figures suivantes :

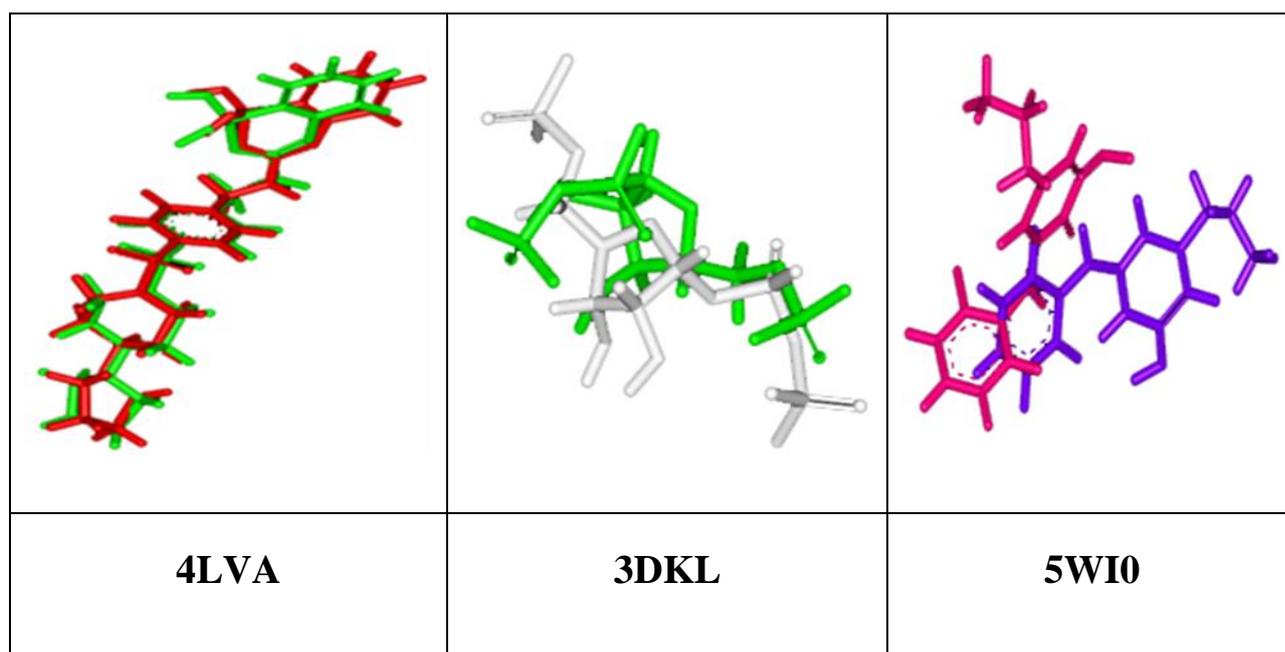


Figure N° 28 : Visualisation des différents résultats RMSD.

Dans le cas du complexe 4LVA, avec un RMSD de 0.822 Å, on obtient une conformation spatiale parfaitement superposable à celle déterminée expérimentalement par cristallographie. Dans le deuxième cas du complexe 3DKL, avec un RMSD dépassant le seuil de 2Å (2.589 Å), il est moins superposé indiquant l'existence d'une petite différence conformationnelle. Alors que dans le troisième complexe 5WI0 pour lequel nous avons obtenu une valeur de RMSD nettement supérieur à 2Å (4.159 Å), l'analyse visuelle montre une mauvaise superposition résultant d'un éloignement important entre le ligand docké et celui co-cristallisé.

2.2. Test de corrélation linéaire

Le test de corrélation linéaire est le deuxième moyen pour tester la fiabilité de programme Surflex et qui consiste à évaluer le degré de la corrélation entre deux variables.

Cette corrélation a permis donc d'obtenir un coefficient de corrélation entre l'affinité simulée par le programme Surflex et l'IC50 (c'est la concentration d'inhibiteur nécessaire pour atteindre 50% d'inhibition de l'enzyme) déterminée expérimentalement de chaque complexe. Cette grandeur a été exprimée dans cette étude en log IC50 afin de réduire l'échelle de la courbe de corrélation à tracer.

Nous avons réalisé ce test sur 40 complexes de la NAMPT téléchargés de la PDB. Les affinités des inhibiteurs étudiés ainsi que les valeurs de leur IC50 et Log IC50 sont affichées dans le tableau N°11.

Tableau N° 11 : Les 40 inhibiteurs de la NAMPT ainsi leurs affinités.

	Le complexe	IC50 (nM)	Log IC50	Affinité
1	4O1B	11	1,04	6,75
2	4O13	15	1,17	6,66
3	4O15	95	1,97	6,84
4	4WQ6	26	1,41	6,68
5	5WI0	360000	5,55	1,71
6	5WI1	10000	4	3,1
7	2G96	52800	4,72	4,74
8	4M6Q	6,1	0,78	6,36
9	4N9B	91000	4,95	4,55
10	4LVA	62	1,79	7,66
11	4LTS	6,2	0,79	7,76
12	4O1D	9	0,95	5,64
13	2ANO	4300	3,63	5,35
14	4QJC	150	2,17	7,61
15	4QHV	52	1,71	7,32
16	3FYW	2,9	0,46	7,97
17	3GYF	12,3	1,08	8,85
18	1DRE	1	0	10,02
19	3E0B	890	2,94	7,83
20	4M6P	54	1,73	5,92
21	3FRF	2,9	0,46	8,32
22	3GHW	20	1,3	7,5
23	4M7V	4,5	0,65	9,67
24	4HOF	20	1,3	6,86
25	4HOE	16	1,2	7,76
26	4G95	6900	3,83	5,1
27	4XE6	19	1,27	8,25
28	3FY8	2,9	0,46	7,63
29	4TU5	18	1,25	8,31
30	4OR7	23	1,36	7,61
31	4XEC	19	1,27	8,27
32	3JVX	942	2,97	8,57
33	2C2S	150	2,17	4,19
34	1M79	9	0,95	7,57
35	1M78	52	1,71	7,46
36	1M7A	9	0,95	9,47
37	1KLK	210	2,32	5,36
38	1IA1	130	2,11	5,18
39	1IA3	8	0,9	9,38
40	3FRA	2,4	0,38	6,8

Ces résultats sont représentés par une courbe de corrélation linéaire entre les Log IC50 et les affinités, en utilisant le programme « Excel » (voir figure N°29).

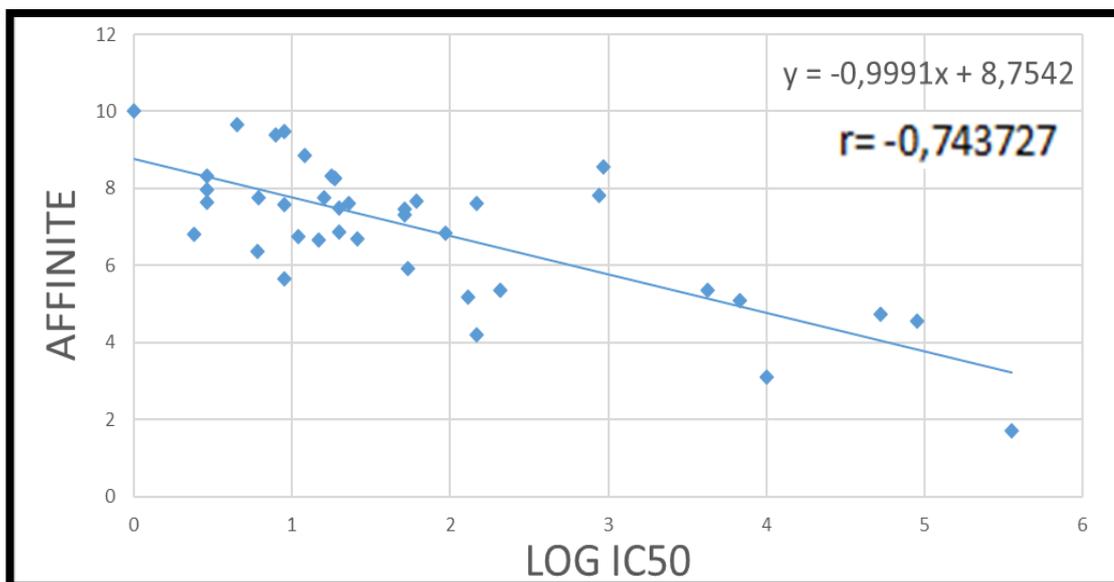


Figure N° 29 : Courbe de corrélation linéaire entre Log IC50 des 40 inhibiteurs et leurs affinités.

Nous remarquons d'après ces résultats qu'il y a une forte relation linéaire descendante « négative » entre les deux variables étudiées (variables inversement proportionnelles) avec un coefficient de corrélation $r = -0,74$.

Surflex établit une bonne corrélation, ce qui est en accord avec les résultats de Chikhi A. et Bensegueni A. (2007) qui montrent qu'un programme de docking moléculaire est performant quand la valeur du coefficient de corrélation linéaire dépasse 0.5. [86]

2.3. Conclusion

Le test RMSD, l'analyse visuelle et l'analyse par régression linéaire sont des bons moyens pour tester la performance des programmes. A l'issue de résultats obtenus par ces tests, nous pouvons confirmer que Surflex est un programme de docking fiable et peut être utilisé en toute confiance pour simuler la formation des complexes enzyme-inhibiteur de la NAMPT et la recherche de nouvelles molécules biologiquement actives.

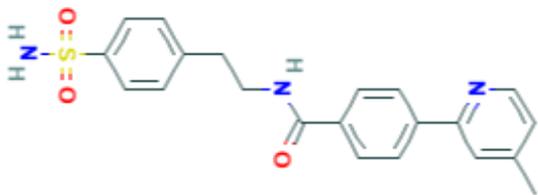
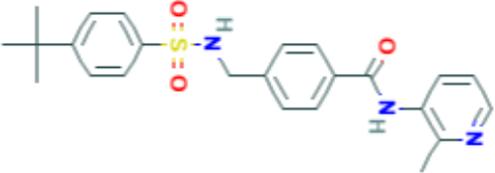
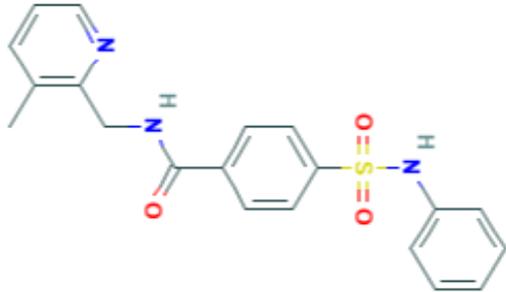
3. Recherche de nouveaux inhibiteurs de la nicotinamide phosphoribosyltransferase

3.1. Le criblage virtuel des similaires

Dans la perspective de recherche de nouveaux inhibiteurs de la NAMPT, un criblage *in silico* ou virtuel à l'aide du logiciel Surflex a été réalisé sur une collection de molécules similaires à notre ligand de référence issues de la Pubchem. En effet, cette chimiothèque nous a fourni 302 similaires à notre ligand de référence 2HJ avec un taux d'homologie structurale allant jusqu'au 92%. Nous n'avons téléchargé que 299 similaires car trois d'entre eux n'étaient pas disponibles en structure tridimensionnelle et au format .sdf. Les affinités de docking de ses composés similaires sont représentées dans le tableau N° 2 (Annexe 2).

À l'issue de cette recherche, il ressort que 20 similaires de cette collection chimique présentent des affinités supérieures à celle du ligand de référence 2HJ ($4,81 \text{ M}^{-1}$). Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau N° 12 : Les 20 meilleurs similaires, leurs affinités et leurs structures.

	Nom du composé et N° CID	Affinité (M^{-1})	La structure
A	DSKWTZUXGCHJMJ-UHFFFAOYSA-N 59672742	6,83	
B	LMAQPZTZRRLEE-UHFFFAOYSA-N 66888624	6,74	
C	YMGLIMHMKBPTMV-UHFFFAOYSA-N 60260158	6,70	

D	JBQHPANUWBYKSG- UHFFFAOYSA-N 59673518	6,64	
E	SQVTVTGGQSWPKQE- UHFFFAOYSA-N 49850072	6,52	
F	VBWRPUONFSCHEK- UHFFFAOYSA-N 50913431	6,46	
G	KYNBWJLHTVQZPW- UHFFFAOYSA-N 56363099	6,41	
H	GMFVNVSGRNNMNC- UHFFFAOYSA-N 56363356	6,40	
I	GMOBVVIVCDDQEE- UHFFFAOYSA-N 50914752	6,35	
J	RBYWPFAUHCULQU- UHFFFAOYSA-N 15982902	6,34	

K	XIBWBTKHZUOVFL- UHFFFAOYSA-N 50914163	6,30	
L	DQKIGMPKTBTVGY- UHFFFAOYSA-N 109060889	6,30	
M	OEZXEVNTNXVLDV- UHFFFAOYSA-N 15983279	6,29	
N	JLVYOMBNJSSHRL- UHFFFAOYSA-N 70655454	6,15	
O	LXMYBJWLPXSKPD- UHFFFAOYSA-N 50914162	6,01	
P	NIUFYXZYPDZVMV- UHFFFAOYSA-N 26422895	5,99	
Q	YRBFMBDITWWAG- UHFFFAOYSA-N 2608548	5,91	
R	MUUBCQNMHRGESQ- UHFFFAOYSA-N 59053711	5,89	

S	NGQPRVWTFNBUHA- UHFFFAOYSA-N 984333	5,83	
T	YLSHODWPXQGDDS- UHFFFAOYSA-N 66899141	5,80	

3.1.1. Application de la règle de Lipinski sur les 20 meilleurs similaires

Avant d'étudier les interactions entre la NAMPT et les inhibiteurs étudiés, il était important de compléter cette étape par l'application de la règle de Lipinski, également connue par la règle de cinq, afin de déterminer si une molécule avec une activité biologique connue a des propriétés chimiques et des propriétés physiques adéquates pour une biodisponibilité par voie orale.

Dans ce contexte nous avons appliqué cette règle sur les 20 similaires présentant des affinités supérieures à celle de ligand de référence. Soulignons que les paramètres de la règle de Lipinski ont été obtenus en utilisant la banque de ligands Pubchem. Les résultats sont représentés dans le tableau N°13.

Tableau N° 13 : Les paramètres de la règle de cinq de Lipinski des 20 meilleurs similaires.

	N° CID	PM (g/mol)	Donneur de H	Accepteur de H	Liaison rotable	Log P
A	59672742	395,5	2	5	6	2,7
B	66888624	437,6	2	5	7	4,2
C	60260158	381,4	2	5	6	2,5
D	59673518	381,4	2	5	6	2,3
E	49850072	465,6	2	7	7	2,1
F	50913431	491,5	2	8	7	4,7
G	56363099	466,5	3	7	9	1,2
H	56363356	481,5	4	7	9	0,7
I	50914752	382,4	3	6	6	1,5
J	15982902	410,5	3	6	7	1,6
K	50914163	479,6	2	7	8	1,8
L	109060889	395,5	2	5	7	3
M	15983279	410,5	2	6	7	1,4
N	70655454	450,6	2	6	8	2,5
O	50914162	391,4	2	5	7	2,4

P	26422895	291,33	2	5	4	0,7
Q	2608548	451,6	2	5	9	4,3
R	59053711	395,5	2	5	6	2,9
S	984333	423,5	2	5	7	3,8
T	66899141	417,5	2	5	6	3,4

Les résultats des deux tableaux montrent que les 20 meilleurs similaires avec une affinité (final-0) supérieure à 5 M^{-1} présentent les meilleurs effets inhibiteurs pour la NAMPT et sont en parfaite conformité avec les critères imposés par la règle de Lipinski. Ils seraient donc susceptibles d'être de bons candidats pour l'inhibition de la NAMPT et peuvent être administrés par voie orale sans aucun problème.

3.1.2. Analyse visuelle et discussion des interactions

Il est utile de rappeler que parmi les vingt meilleurs similaires, les similaires A, B, C, D et E avec les meilleurs résultats d'affinité se présentent comme les inhibiteurs les plus puissants de la NAMPT. Ces résultats s'expriment visuellement par la mise en place de nombreuses interactions prédites par le docking qui sont en général électrostatiques et parmi elles, les liaisons Hydrogènes qui sont très importantes du fait de leur force. D'autres types d'interactions assurent la stabilité des complexes : Pi-Pi stacking, Pi-Anion, Pi-Sulfur, Alkyl...etc.

➤ Etude des interactions du composé A (59672742)

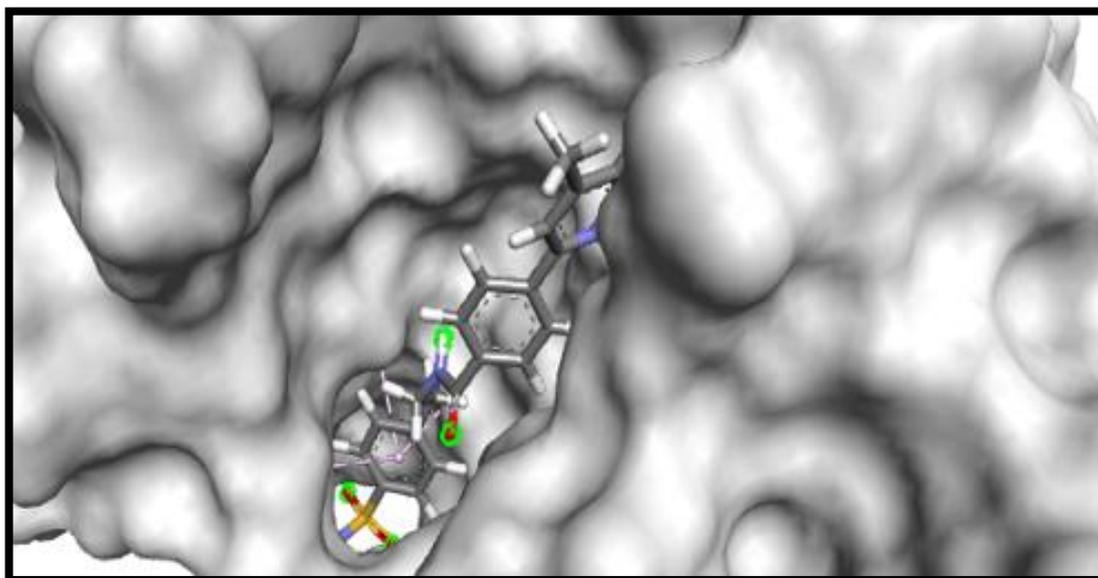


Figure N° 30 : Visualisation du composé A au sein du site actif de l'enzyme NAMPT.

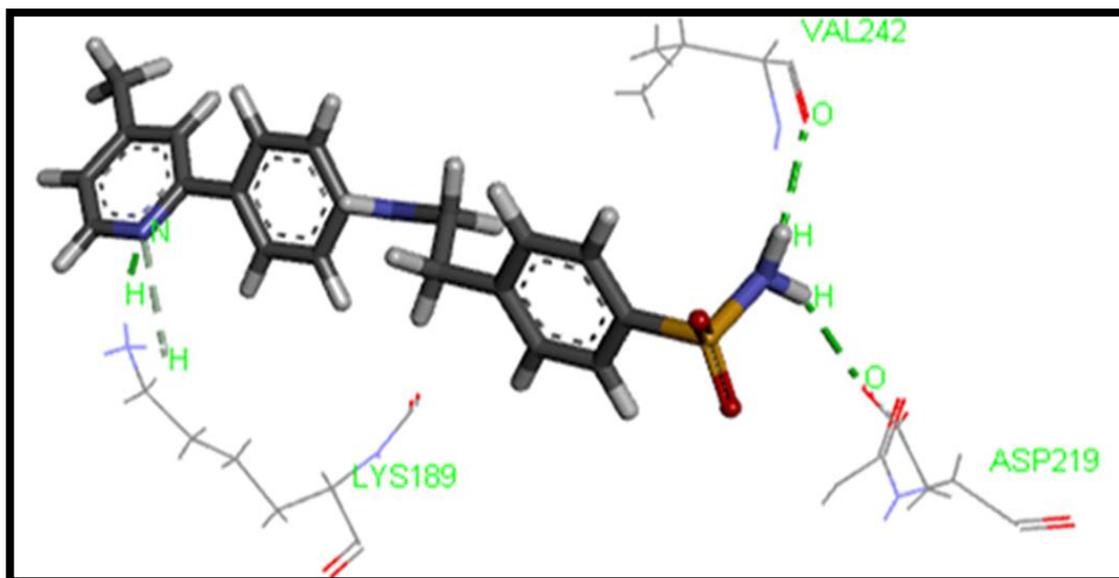


Figure N° 31 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé A avec le site actif de la NAMPT.

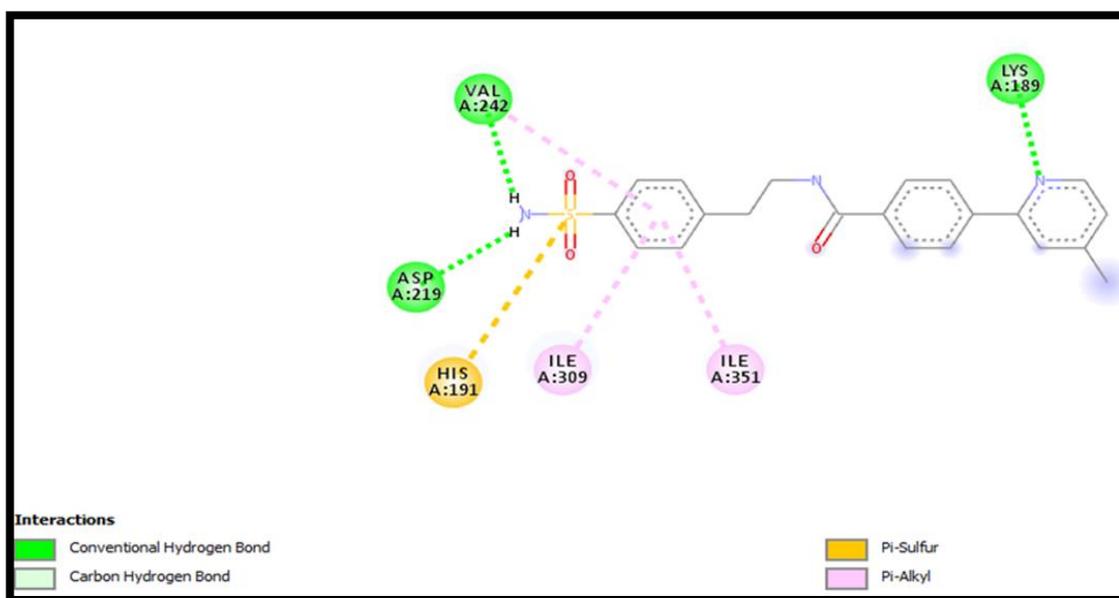


Figure N° 32 : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé A en schéma 2D.

Le docking moléculaire du ligand A au sein du site actif de l'enzyme NAMPT donne le meilleur résultat d'affinité $6,83 \text{ M}^{-1}$, permettant d'obtenir ainsi un complexe plus stable (Voire figure N°30). Cette affinité résulte de la mise en place de 4 liaisons hydrogènes présentées en couleur verte (de type Conventional Hydrogen Bond et Carbon hydrogen bond) avec différentes distances entre les atomes du ligand A et les acides aminés du site actif de la NAMPT. Les détails sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau N° 14 : Les liaisons hydrogènes établies par le composé A avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	N (N°7)..... H (N°2876) de l'AA : LYS189	Conventional Hydrogen Bond	1,943787
02	H (N°43)..... O (N°3297) de l'AA : ASP219	Conventional Hydrogen Bond	2,200765
03	H (N°44)..... O (N°3644) de l'AA : VAL242	Conventional Hydrogen Bond	2,201487
04	N (N°7)..... H(N°2872) de l'AA : LYS189	Carbon hydrogen bond	2,997202

Il est également important de noter que de nombreuses interactions hydrophobes participent à la stabilisation du complexe NAMPT-Composé A :

- Interaction Pi-Alkyl présentés en rose, par effet des alkyles qui sont les radicaux à chaînes aliphatiques apolaires (dont la terminaison est un groupement non-fonctionnel CH₃) faisant intervenir les résidus des aminoacides Valine 242 ; Isoleucines 309 et 351 avec l'un des cycles du composé.
- Interaction Pi-Sulfure entre le soufre du ligand et l'acide aminé Histidine191.

➤ **Etude des interactions du composé B (66888624)**

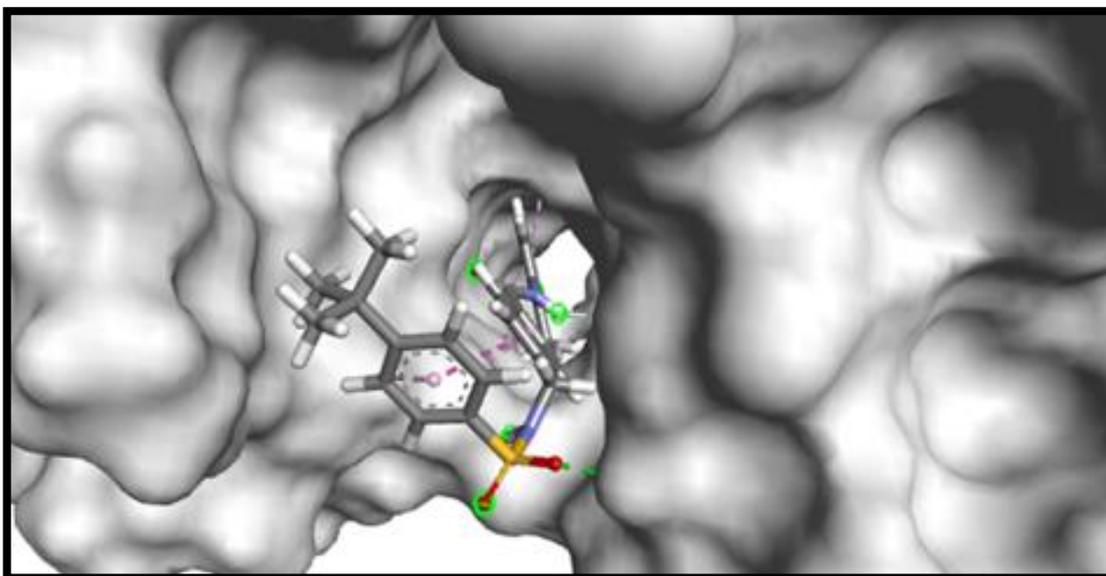


Figure N° 33 : Visualisation du composé B au sein du site actif de l'enzyme NAMPT.

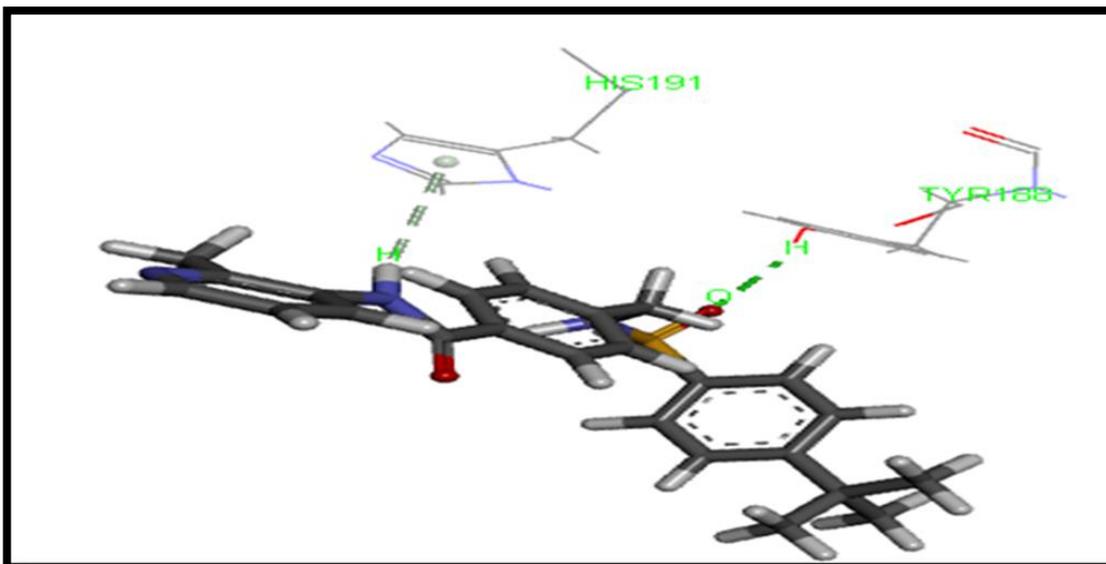


Figure N° 34 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé B avec le site actif de la NAMPT.

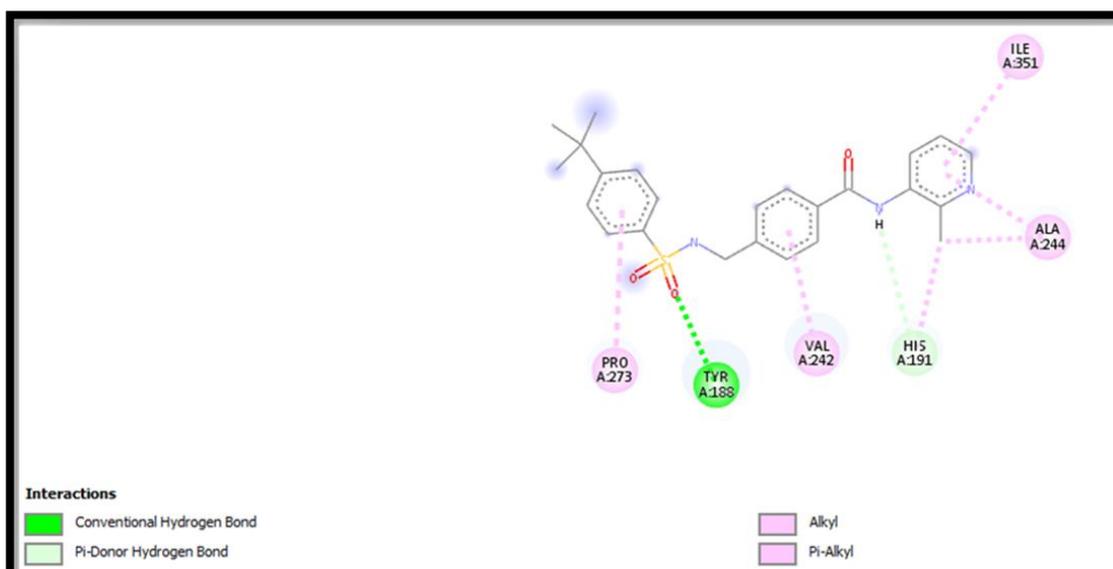


Figure N° 35 : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé B en schéma 2D.

Le composé B est stabilisé dans le site actif par 2 liaisons hydrogènes (de type Conventional Hydrogen Bond et Pi-Donor Hydrogen Bond). Les détails sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau N° 15 : Les liaisons hydrogènes établies par le composé B avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	O (N°52)..... H (N°2854) de l'AA : TYR188	Conventional Hydrogen Bond	2,317631
02	H (N°56).....O (N°2) de l'AA : HIS191	Pi-Donor Hydrogen Bond	3,271917

Le composé B forme aussi des interactions hydrophobes en rose que nous retrouvons entre : Le méthyle (CH₃) du ligand et les radicaux des aminoacides Alanine 244 ; Histidine 191.

Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides Alanine 244 ; Isoleucine 351 ; Valine 242 et Proline 273.

➤ **Etude des interactions du composé C (60260158)**

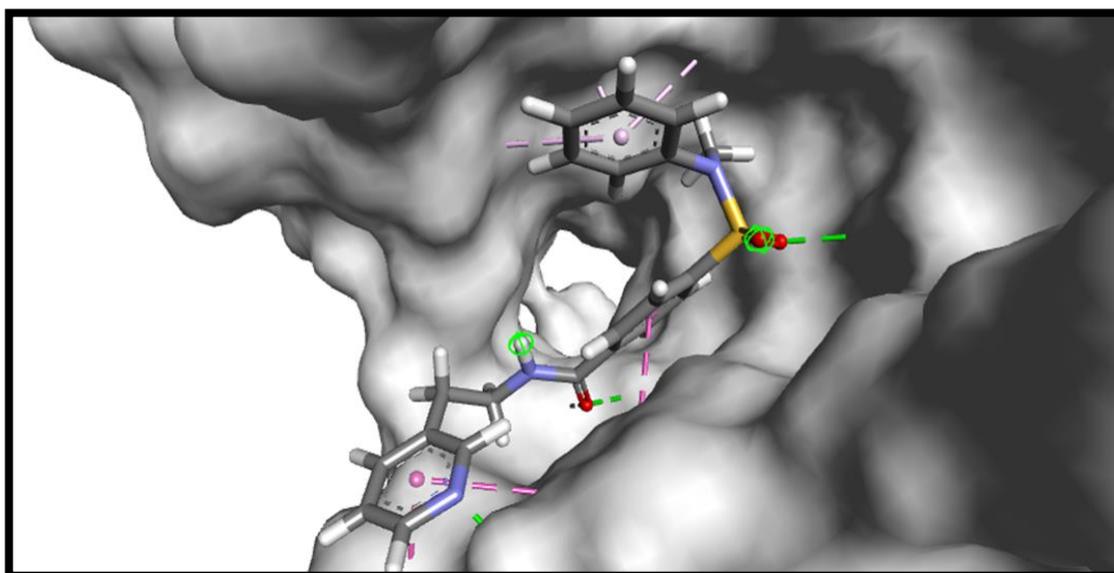


Figure N° 36 : Visualisation du composé C au sein du site actif de l'enzyme NAMPT.

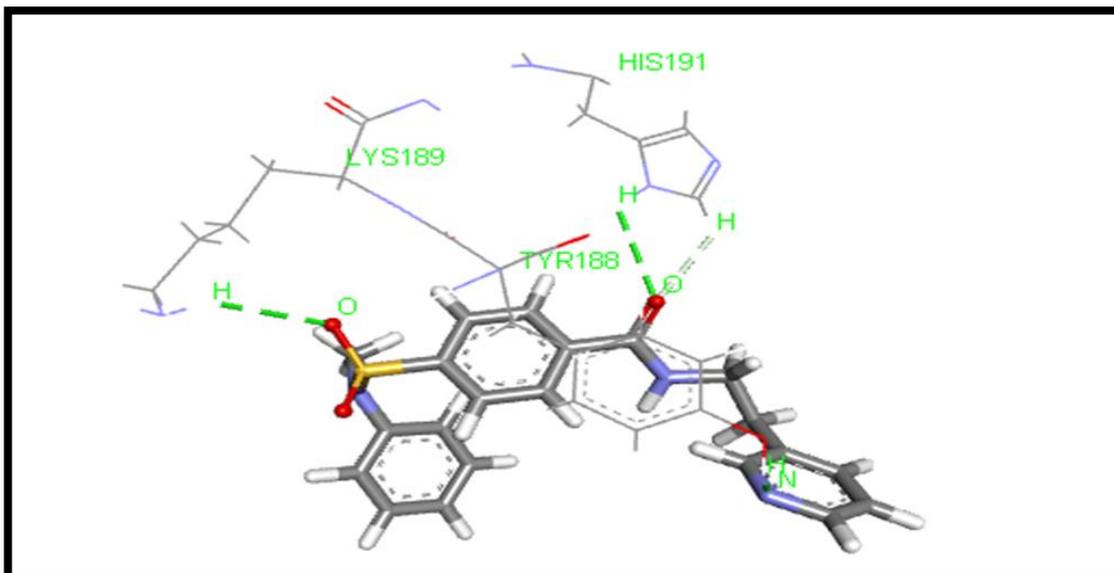


Figure N° 37 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé C avec le site actif de la NAMPT.

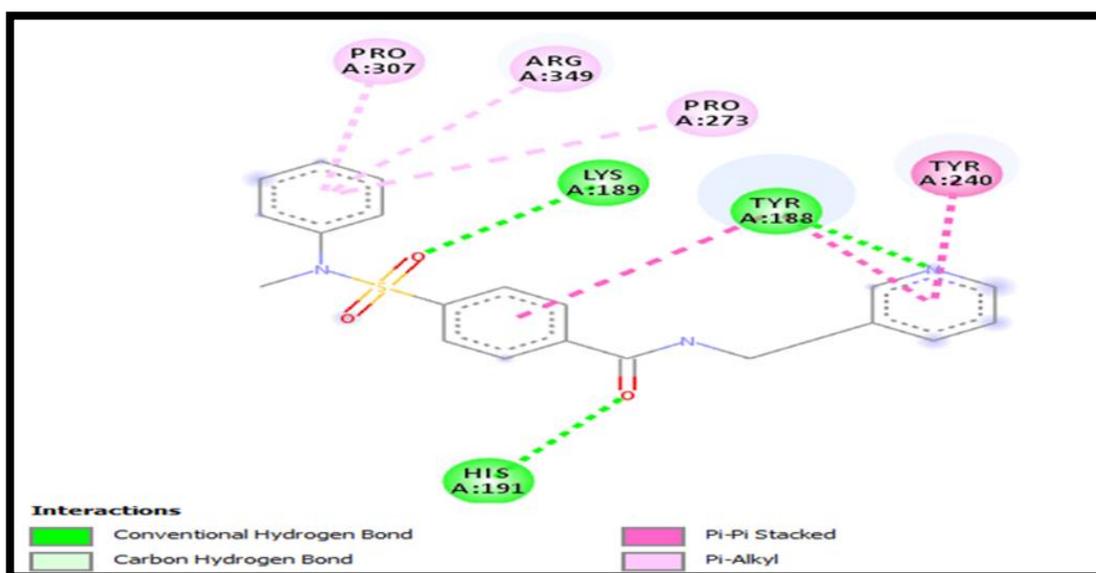


Figure N° 38 : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé C en schéma 2D.

La visualisation des résultats du docking montre que la formation du complexe (NAMPT – ligand C) est due à la présence de quatre liaisons hydrogènes conventionnelles (Conventional Hydrogen Bond) qui lient deux atomes électronégatifs discutées dans le tableau ci-dessous :

Tableau N° 16 : Les liaisons hydrogènes établies par le composé C avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	N (N°7).....H (N°2854) de l'AA : TYR188	Conventional Hydrogen Bond	1,90715
02	O (N°3).....H (N°28764) de l'AA : LYS189	Conventional Hydrogen Bond	2,71225
03	O (N°4).....H (N°2910) de l'AA : HIS191	Conventional Hydrogen Bond	2,95221
04	O (N°4).....H (N°2912) de l'AA : HIS191	Carbon Hydrogen Bond	2,94274

Le complexe est également stabilisé par des interactions hydrophobes formées par les alkyles hydrocarbonés apolaires que nous retrouvons entre les cycles du ligand C et les prolines numérotées 273 ; 307 et l'arginine 349. Ces interactions sont représentées dans la figure N° par des lignes discontinues de couleur rose clair.

En plus, l'un des cycles du ligand C et les tyrosines 188 et 240 forment des interactions hydrophobes nommées Pi-Pi Stacking. Ce type d'interaction s'établit entre deux cycles aromatiques assurant l'augmentation de l'affinité de liaison entre l'inhibiteur et le site actif contenant des résidus aromatiques.

➤ **Etude des interactions du composé D (59673518)**

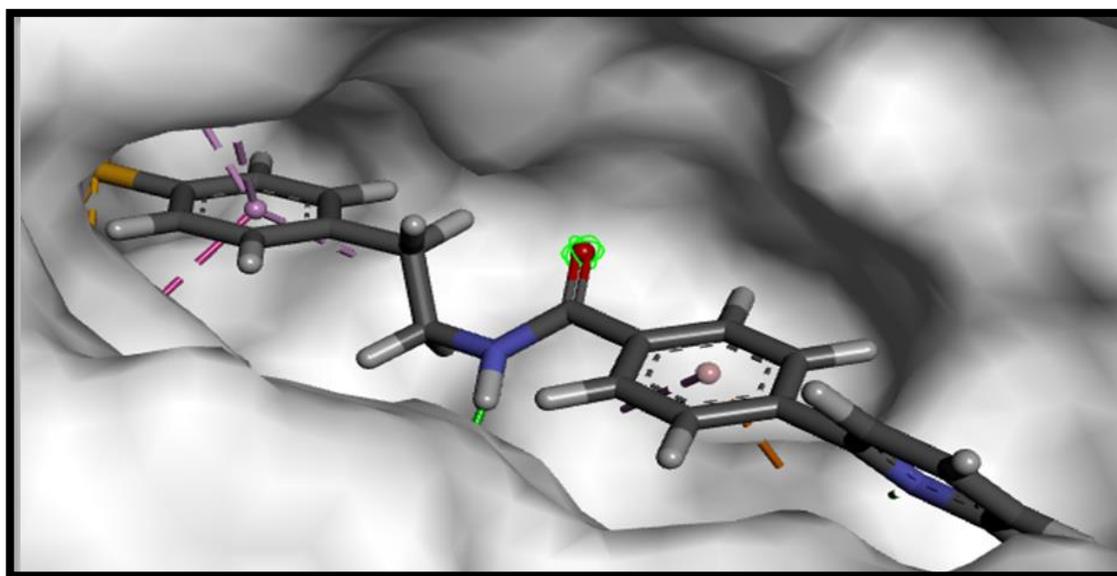


Figure N° 39 : Visualisation du composé D au sein du site actif de l'enzyme NAMPT.

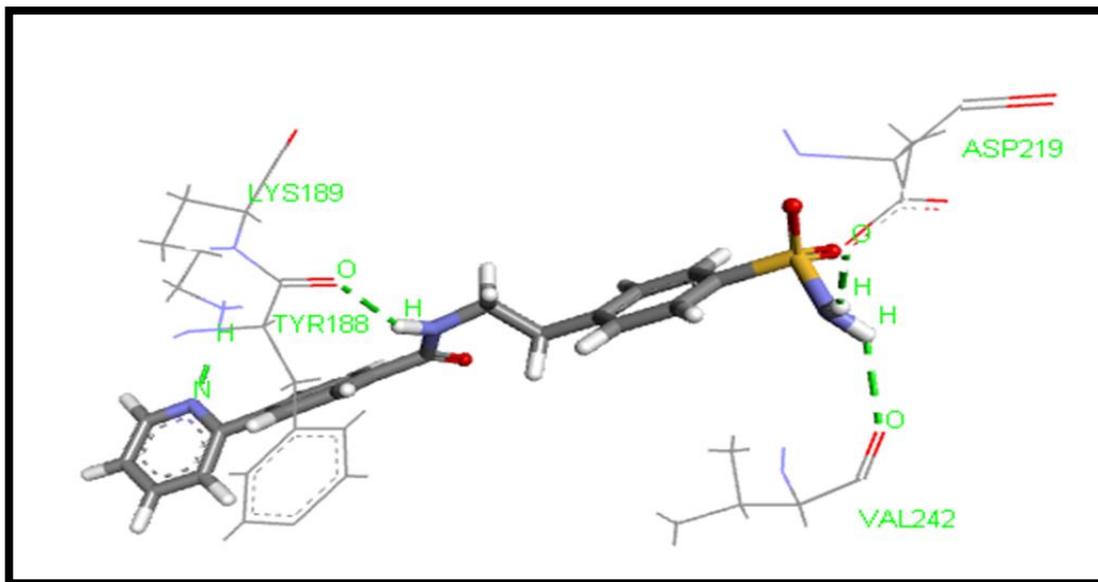


Figure N° 40 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé D avec le site actif de la NAMPT.

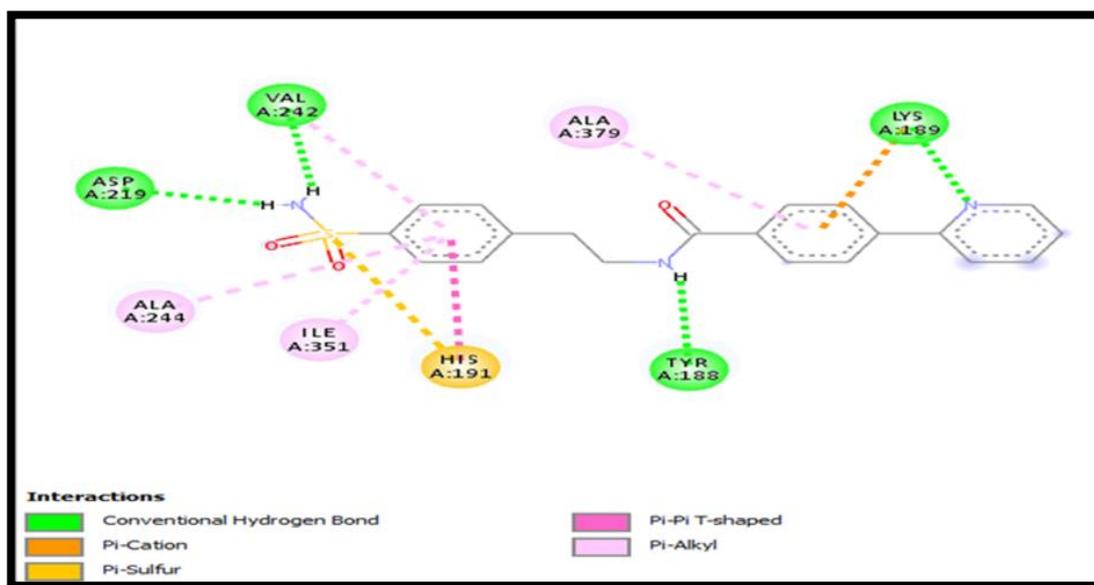


Figure N° 41 : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé D en schéma 2D.

Le docking moléculaire du complexe NAMPT-Ligand D a fourni les modes d'interaction illustrés dans la figure N°41. Ce complexe forme quatre liaisons hydrogènes conventionnelles (Conventional Hydrogen Bond) qui lient deux atomes électro-négatifs discutées dans le tableau ci-dessous :

Tableau N° 17 : Les liaisons hydrogènes établies par le composé D avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	N (N°7).....H (N°2876) de l'AA : LYS189	Conventional Hydrogen Bond	1,92671
02	H (N°37).....O (N°2837) de l'AA : TYR188	Conventional Hydrogen Bond	2,32019
03	H (N°41).....O (N°3297) de l'AA : ASP219	Conventional Hydrogen Bond	2,13369
04	H (N°42).....O (N°3644) de l'AA : VAL242	Conventional Hydrogen Bond	2,35311

Nous avons aussi visualisé à travers le schéma graphique 2D la présence des interactions hydrophobiques formées par les alkyles hydrocarbonés apolaires entre les cycles du ligand D et les alanines numérotées 244 ; 379 et l'isoleucine 351.

Une autre interaction hydrophobe nommé Pi-Pi T-shaped présente entre l'un des cycles du ligand et le radical de l'histidine 191.

Le soufre du ligand D et le radical de l'acide aminé Histidine 191 forment une interaction hydrophobe de type Pi-sulfure.

De plus, Une interaction non covalente impliquant l'un des cycles du ligand est l'interaction Pi-cation suite à la charge positive de la lysine.

Ces interactions sont importantes pour la liaison et la stabilisation du ligand dans le site actif.

➤ **Etude des interactions du composé E (49850072)**

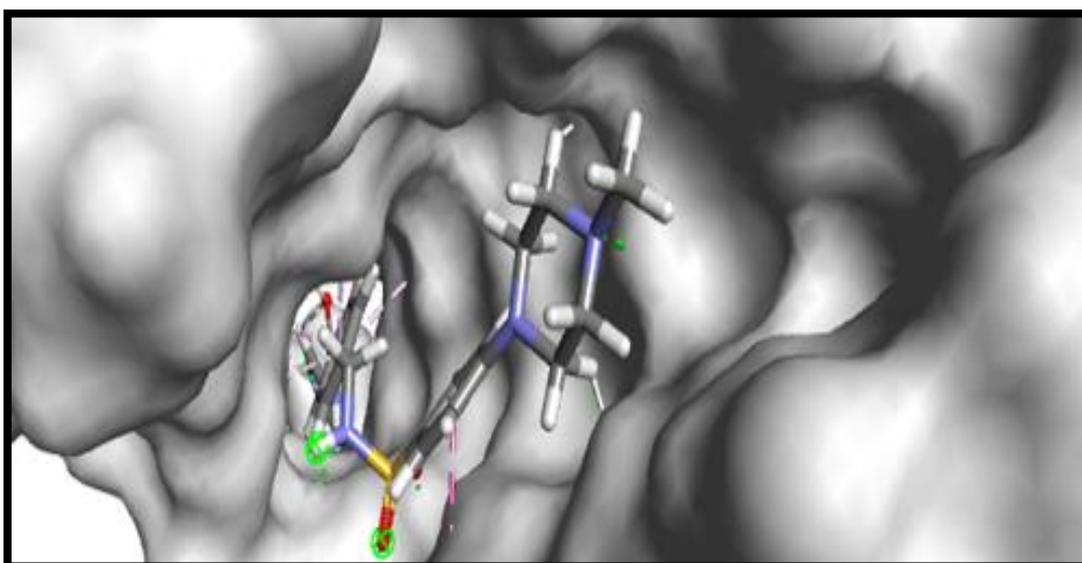


Figure N° 42 : Visualisation du composé E au sein du site actif de l'enzyme NAMPT.

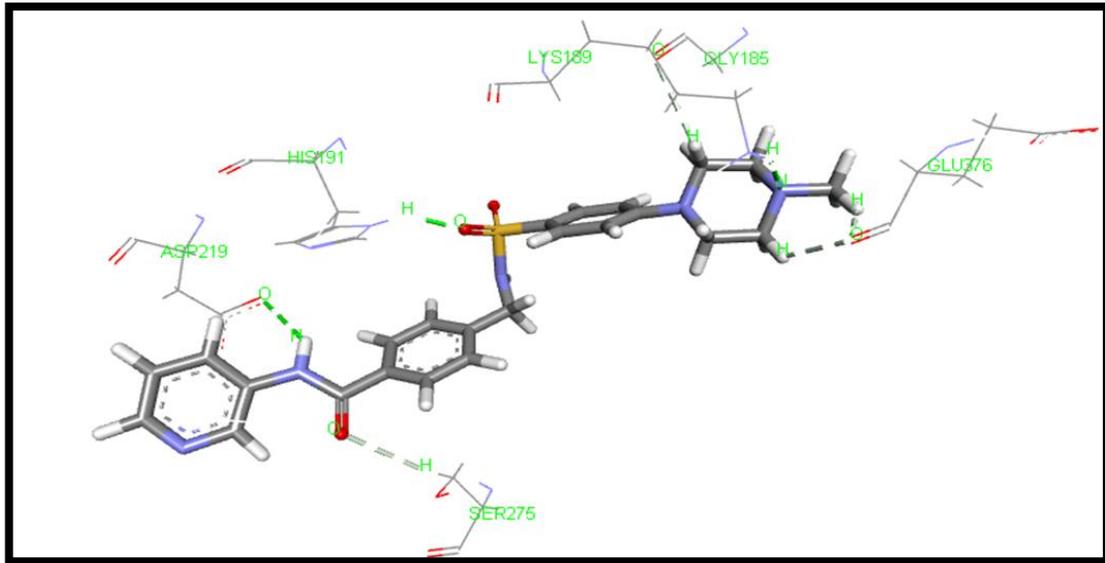


Figure N° 43 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé E avec le site actif de la NAMPT.

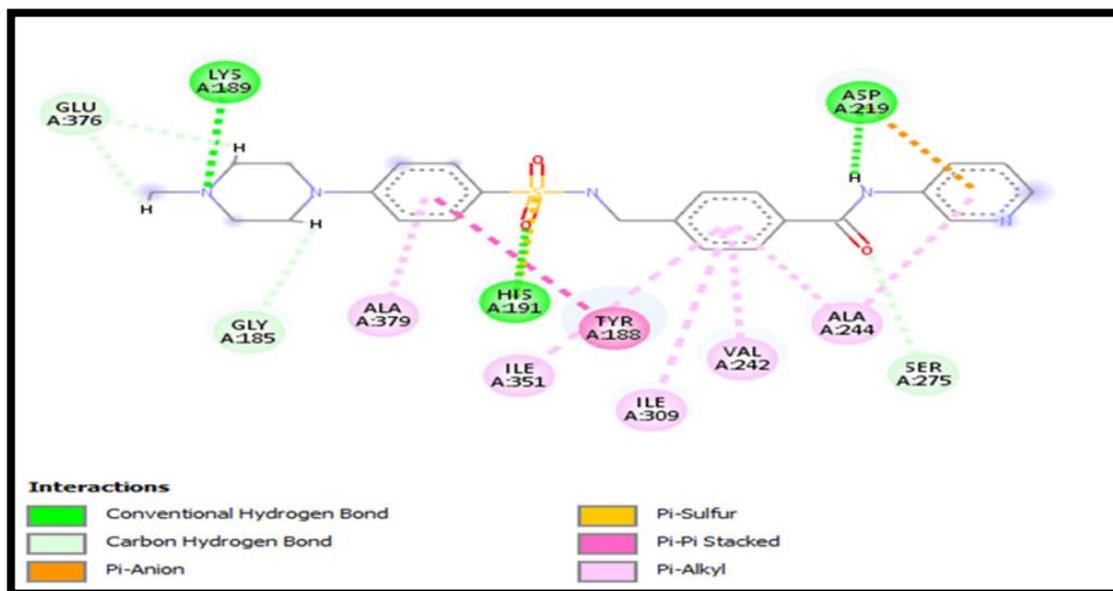


Figure N° 44 : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé E en schéma 2D.

Le complexe formé par le ligand E présente sept liaisons hydrogènes (Conventional Hydrogen Bond et Carbon hydrogen bond) montrées dans le tableau ci-dessous :

Tableau N° 18 : Les liaisons hydrogène établies par le composé E avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	N (N°6).....H(N°2876)) de l'AA: LYS189	Conventional Hydrogen Bond	2,0756
02	O (N°2).....H(N°2910) de l'AA : HIS191	Conventional Hydrogen Bond	1,77875
03	H (N°56).....O(N°3297) de l'AA : ASP219	Conventional Hydrogen Bond	2,97506
04	O (N4).....H(N°4146) de l'AA : SER275	Carbon Hydrogen Bond	2,96686
05	H (N°36).....O(N°2796) de l'AA : GLY185	Carbon Hydrogen Bond	2,99759
06	H (N°39).....O(N°5765) de l'AA : GLU376	Carbon Hydrogen Bond	2,41375
07	H (N°42).....O(N°5765) de l'AA :GLU376	Carbon Hydrogen Bond	2,13318

Mises à part les liaisons hydrogènes, Le complexe est également stabilisé par des interactions hydrophobiques figurant en rose claire avec les résidus des aminoacides suivants :

- Les alanines numérotées 244 ; 379
- Les isoleucines 309 ; 351 et la valine 242.

Il se rajoute à ces forces, d'autres interactions hydrophobes de type :

- Pi-sulfure entre le soufre du ligand E et le radical de l'acide aminé Histidine 191.
- Pi-Anion entre l'un des cycles du ligand suite à la charge négative du COO⁻ de l'acide aminé asparagine 219.

3.2. Essais de modélisation moléculaire

Dans le but de développer des nouveaux inhibiteurs du NAMPT plus efficaces et plus puissants que le meilleur similaire de l'étude précédente, nous avons essayé de proposer des nouvelles structures avec une meilleure affinité, pour cela le composé 59672742 a été pris comme structure de base afin d'améliorer son affinité, sur laquelle nous avons réalisé 2 types de substitution : mono substitution et bi substitution en introduisant des modifications structurales par plusieurs groupements fonctionnels chimiques en utilisant le programme Chem3D.

3.2.1. Mono-substitution

Dans cette section, nous avons effectué de nombreuses substitutions, par l'ajout de 13 groupements chimiques par position (au total de 5 positions du composé illustrées sur la figure N°45) ce qui a contribué à la formation de 65 composés monosubstitués. Ces groupements ont la capacité d'établir des liaisons hydrogène avec le site actif de l'enzyme.

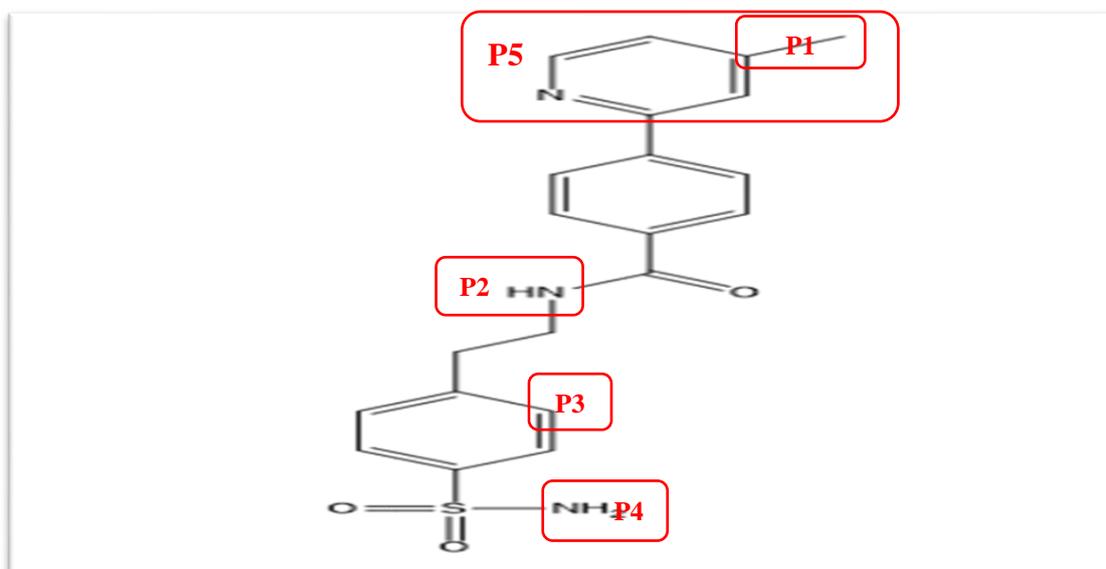


Figure N°45 : structure de base du composé 59672742.

Le docking moléculaire des composés mono-substitués a été évalué à l'aide du programme Surflex. Les résultats sont affichés dans le tableau ci-dessous :

Tableau N° 19 : Structure et affinité des 65 composés issus de la mono-substitution.

Composé	P1	P2	P3	P4	P5	Affinités
1	OH					5,76
2	COOH					7,07
3	NO					6,35
4	Cl					7,28
5	I					5,77
6	PH2					6,19
7	Benzène					6,33
8	Toluène					6,87
9	Thiazole					6,96
10	Styrène					6,63
11	Pyrimidine					6,97
12	Imidazole					6,84
13	1,2 Dichlorobenzène					6,14
14		OH				6,20
15		COOH				5,83

16		NO			6,61
17		Cl			5,56
18		I			4,60
19		PH2			4,94
20		Benzène			5,50
21		Toluène			7,46
22		Thiazole			6,18
23		Styrène			4,31
24		Pyrimidine			6,87
25		Imidazole			6,00
26		1,2 Dichlorobenzène			5,74
27			OH		6,05
28			COOH		7,76
29			NO		6,44
30			Cl		5,43
31			I		5,92
32			PH2		7,04
33			Benzène		8,79
34			Toluène		7,74
35			Thiazole		4,30
36			Styrène		5,45
37			Pyrimidine		7,57
38			Imidazole		4,83
39			1,2 Dichlorobenzène		6,91
40				OH	6,67
41				COOH	7,35
42				NO	7,67
43				Cl	4,47
44				I	5,30
45				PH2	7,52
46				Benzène	6,05
47				Toluène	5,38
48				Thiazole	4,15
49				styrène	7,58
50				pyrimidine	6,97
51				Imidazole	8,68
52				1,2 Dichlorobenzène	4,00
53				OH	5,24
54				COOH	5,08
55				NO	6,01
56				Cl	4,63
57				I	6,54
58				PH2	6,83
59				Benzène	6,16
60				Toluène	5,05
61				Thiazole	5,13
62				Styrène	6,48
63				Pyrimidine	5,52
64				Imidazole	5,22

65					1,2 Dichlorobenzène	3,13
----	--	--	--	--	------------------------	------

Le tableau montre que parmi les 65 mono-substitutions réalisées, 20 composés ont présenté des affinités supérieures à celle du composé 59672742 qui est de $6,83 \text{ M}^{-1}$. Les résultats indiquent que la meilleure affinité ($8,79 \text{ M}^{-1}$) a été obtenue par le composé N° 33 sur lequel nous avons introduit le groupement Benzène en positions P3.

3.2.2. Bi-substitution

Dans la deuxième partie, nous avons réalisé les bi-substitutions à partir du meilleur composé mono-substitué obtenu précédemment sur lequel nous avons appliqué les mêmes groupements utilisés lors de la mono-substitution. Au total, nous avons effectué 52 bi-substitutions dans différentes positions (voir figure N°46).

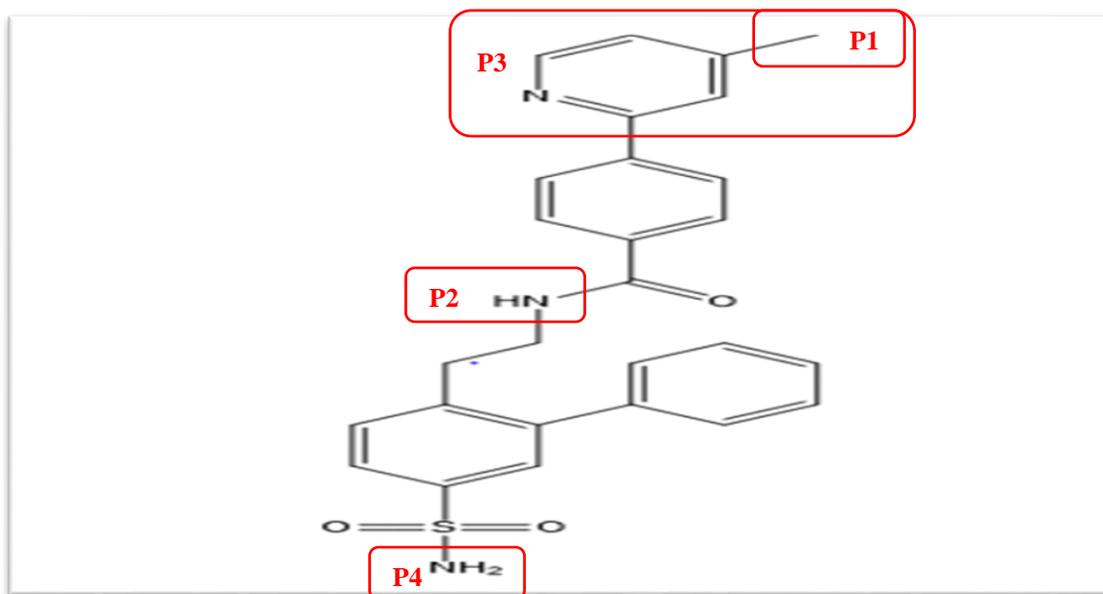


Figure N° 46 : structure de base du meilleur composé mono substitué.

Les résultats de la bi-substitution sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau N°20 : Structure et affinité des 52 composés issus de la bi-substitution.

Composé	P1	P2	P3	P4	Affinités
66	OH				7,63
67	COOH				10,87
68	NO				6,05
69	CL				6,66
70	I				5,54
71	PH2				7,43
72	Benzène				7,78

73	Toluène				5,74
74	Thiazole				9,64
75	Styrène				7,52
76	Pyrimidine				7,97
77	Imidazole				9,24
78	1,2 Dichlorobenzène				7,72
79		OH			4,94
80		COOH			4,75
81		NO			3,78
82		CL			4,99
83		I			5,56
84		PH2			4,77
85		Benzène			5,58
86		Toluène			4,52
87		Thiazole			4,76
88		Styrène			6,16
89		Pyrimidine			5,43
90		Imidazole			4,39
91		1,2 Dichlorobenzène			6,03
92			OH		6,94
93			COOH		6,42
94			NO		4,85
95			CL		6,33
96			I		6,51
97			PH2		4,86
98			Benzène		6,21
99			Toluène		4,88
100			Thiazole		5,01
101			Styrène		4,13
102			Pyrimidine		5,28
103			Imidazole		6,61
104			1,2 Dichlorobenzène		4,26
105				OH	6,37
106				COOH	6,68
107				NO	5,40
108				CL	6,96
109				I	6,82
110				PH2	7,80
111				Benzène	6,27
112				Toluène	5,98
113				Thiazole	5,78
114				Styrène	6,28
115				Pyrimidine	7,26
116				Imidazole	5,60
117				1,2 Dichlorobenzène	5,89

Le tableau montre que parmi les différentes bi-substitutions réalisées, seuls 3 composés ont présenté des affinités supérieures à celle du meilleur composé mono-substitué (8.79 M⁻¹). Il s'agit des composés portant les numéros 67, 74 et 77.

Ainsi, l'introduction d'un groupement COOH dans la position P1 du composé N° 67 donne le meilleur résultat d'affinité estimé à $10,87 \text{ M}^{-1}$. En effet, ce composé qui possède une très bonne affinité peut être considéré comme l'inhibiteur le plus sélectif et le plus puissant de la NAMPT.

3.2.3. L'analyse visuelle et discussion des interactions

➤ Étude des interactions du composé 33

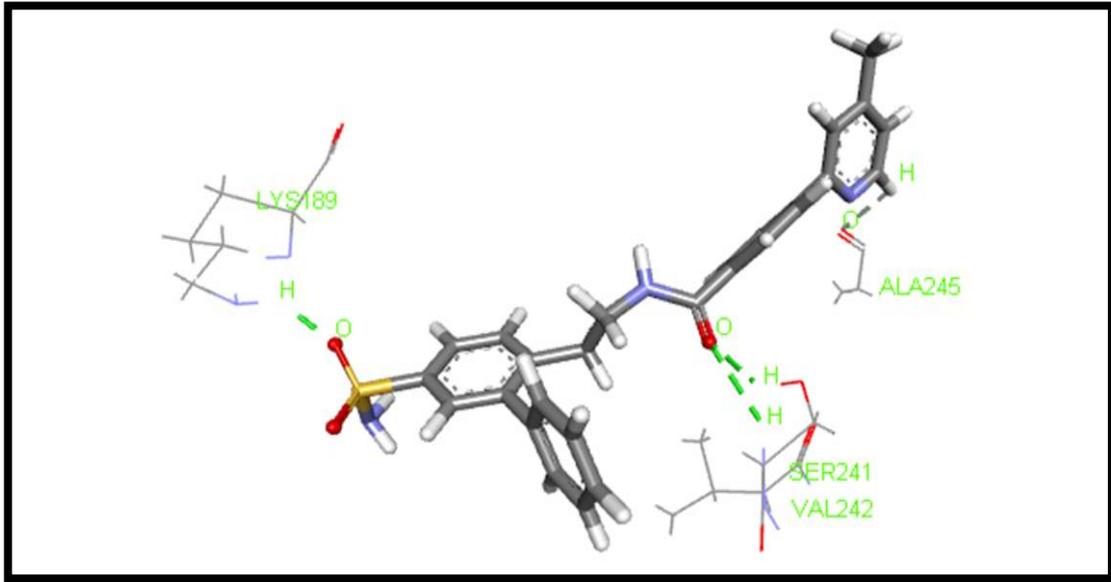


Figure N° 47 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé 33 avec le site actif de la NAMPT.

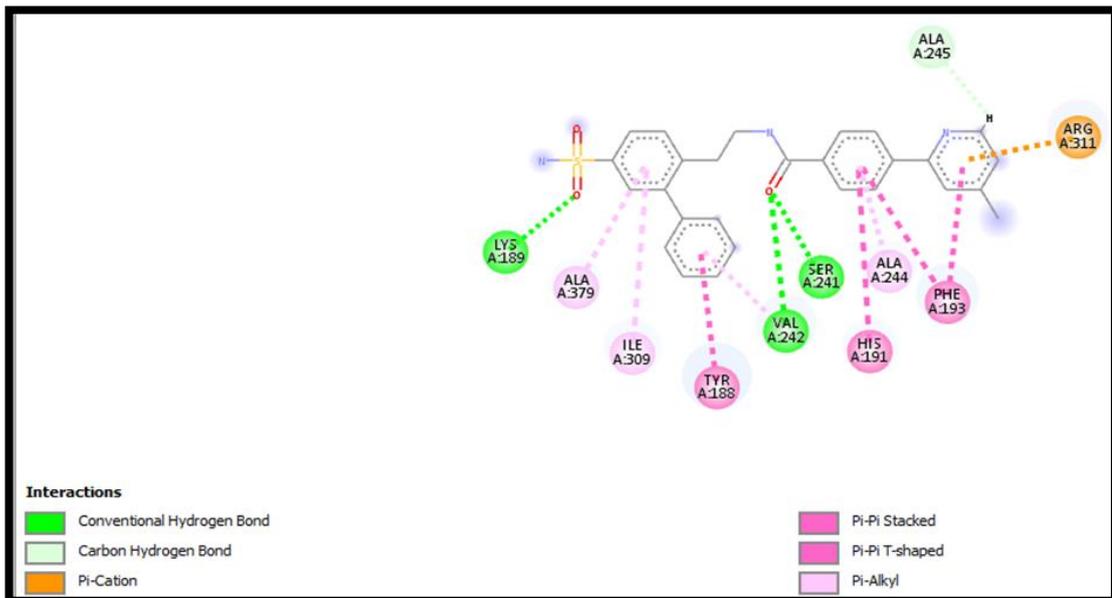


Figure N°48 : La présentation des interactions récepteur-composé 33 en schéma 2D.

L'analyse visuelle du composé mono-substitué N°33 révèle la présence de 4 ponts hydrogène de type (Conventional Hydrogen Bond et Carbon hydrogen bond) schématisés dans la figure N°47 et détaillés dans le tableau N°21 :

Tableau N° 21 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 33 avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	O (N°3)..... H (N°2874) de l'AA : LYS189	Conventional Hydrogen Bond	1,945060
02	O (N°2).....H(N°3640) de l'AA : SER241	Conventional Hydrogen Bond	2,102630
03	O (N°2)..... H (N°3648) de l'AA : VAL242	Conventional Hydrogen Bond	2,660765
04	H (N°45).....O(N°3684) de l'AA : ALA245	Carbon Hydrogen Bond	2,554253

D'autres interactions de type hydrophobe sont mises en jeu lors de la formation de ce complexe moléculaire :

Interaction Pi-Alkyl en rose, par les alkyles hydrocarbonés apolaires que nous retrouvons entre les cycles du composé 33 et les radicaux des aminoacides Alanine 244 et 379 ; Isoleucine 309 et Valine 242.

Interactions Pi-Pi Stacking et Pi-Pi T-shaped qui s'établissent entre l'un des cycles du composé et le noyau aromatique des acides aminés Tyrosine 188 ; Phénylalanine 193 ; Histidine 191

Interactions Pi-Cation entre l'un des cycles du composé et l'acide aminé Arginine 311 (charge positive du NH3+).

➤ **Etude des interactions du composé 67**

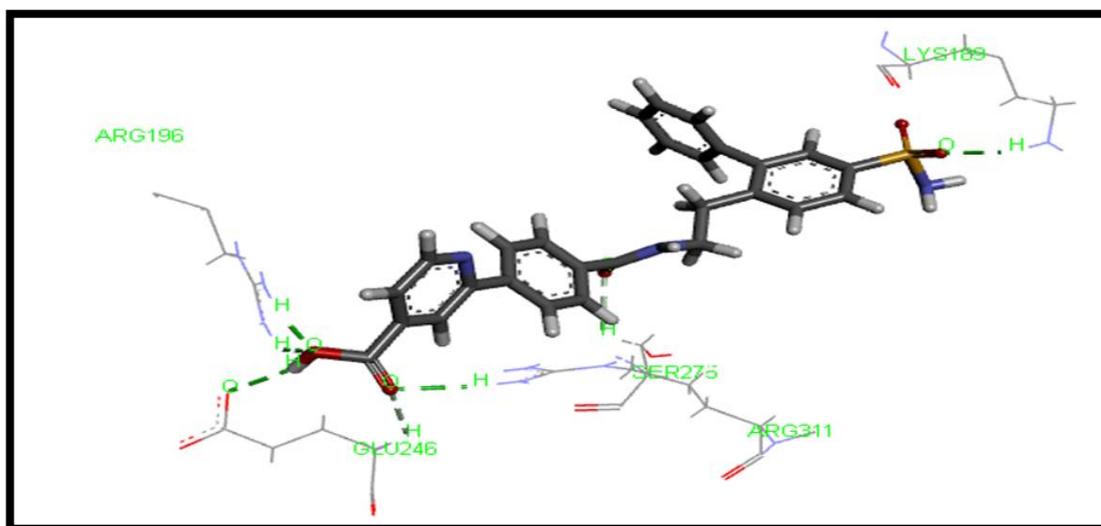


Figure N°49 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé 67 avec le site actif du NAMPT.

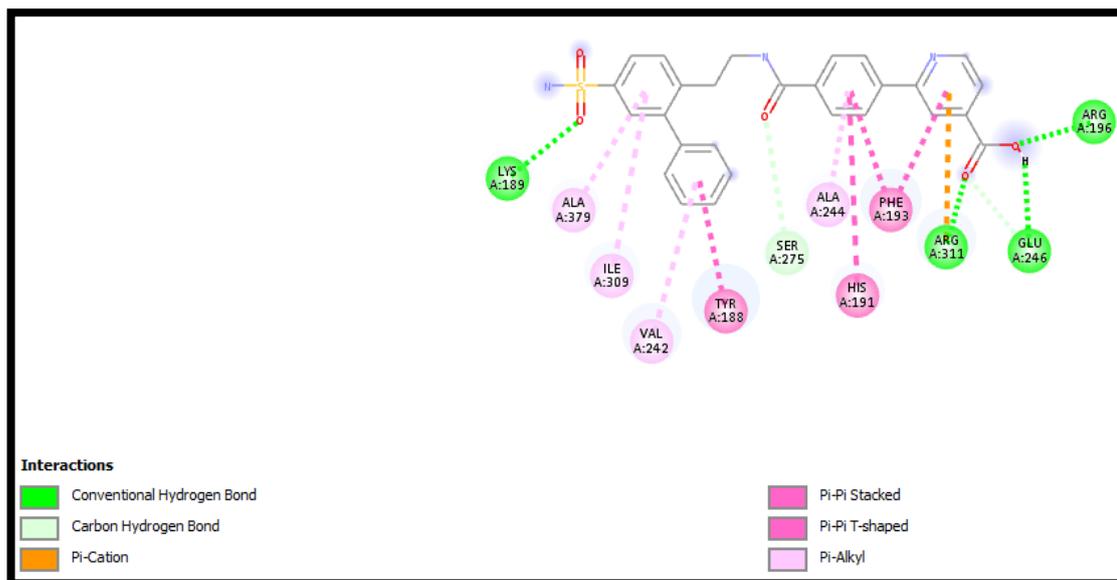


Figure N°50 : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé 67 en schéma 2D.

La visualisation des interactions montre que le composé 67 établit avec l'enzyme NAMPT 7 liaisons hydrogènes (Conventional Hydrogen Bond et Carbon Hydrogen Bond) schématisées dans la figure N°49 et détaillées dans le tableau ci-dessus :

Tableau N°22 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 67 avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	O (N°3)..... H (N°2874) de l'AA : LYS189	Conventional Hydrogen Bond	2,011834
02	O (N°47).....H (N°2994) de l'AA : ARG196	Conventional Hydrogen Bond	2,892910
03	O (N°47)..... H (N°2995) de l'AA : ARG196	Conventional Hydrogen Bond	1,859120
04	O (N°46)..... H (N°4732) de l'AA : ARG311	Conventional Hydrogen Bond	2,082997
05	H (N°48).....O (N°3698) de l'AA : GLU246	Conventional Hydrogen Bond	2,310347
06	O (N°46).....H (N°3701) de l'AA : GLU246	Carbon Hydrogen Bond	2,425830
07	O (N°2)..... H (N°4147) de l'AA : SER275	Carbon Hydrogen Bond	2,518546

Le remplacement du groupement méthyle en position 1 par un groupement carboxyle a augmenté l'affinité du composé 67, ce qui a mené à la formation de quatre nouvelles liaisons hydrogènes réalisées entre le groupement carboxyle et les aminoacides suivants : ARG196 et 311 et GLU 246.

Il existe aussi d'autres liaisons et interactions qui sont aussi importantes dans le maintien de la stabilisation de la molécule dans le site actif grâce aux interactions hydrophobiques :

Interactions Pi-Alkyl faisant intervenir les radicaux des aminoacides Alanines 244-379 ; Isoleucine 309 ; Valine 242 avec les cycles du ligand.

Interaction Pi-Pi Stacking et Pi-Pi T-shaped qui s'établissent entre l'un des cycles du ligand et le noyau aromatique des acides aminés Tyrosine 188 ; Phénylalanine 193 ; Histidine191.

Interactions Pi-Cation entre l'un des cycles du ligand et acide aminé Arginine 311 (charge positive du NH₃⁺).

➤ **Étude des interactions du composé 74**

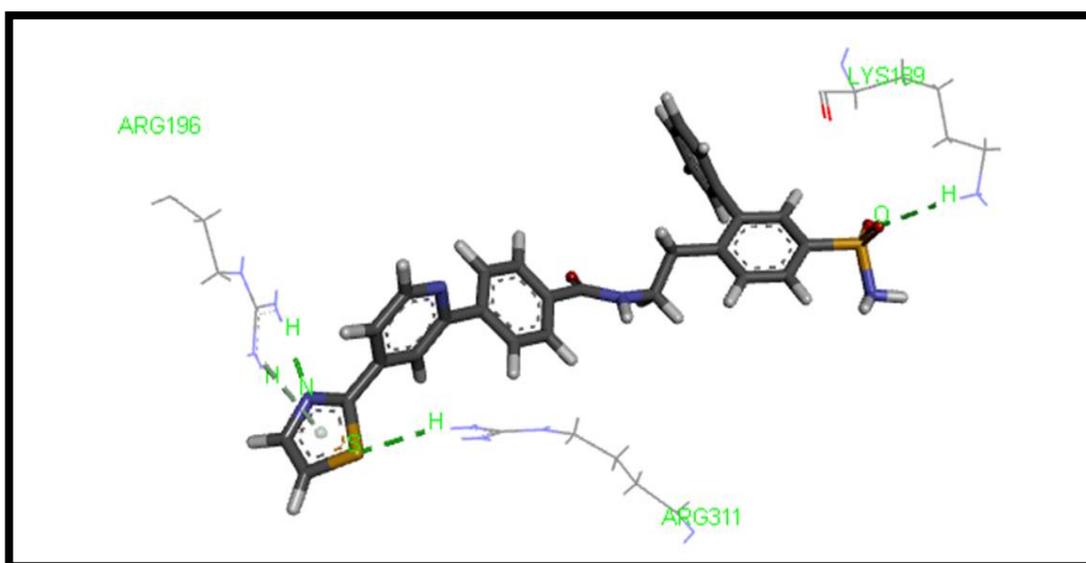


Figure N°51 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé 74 avec le site actif de la NAMPT.

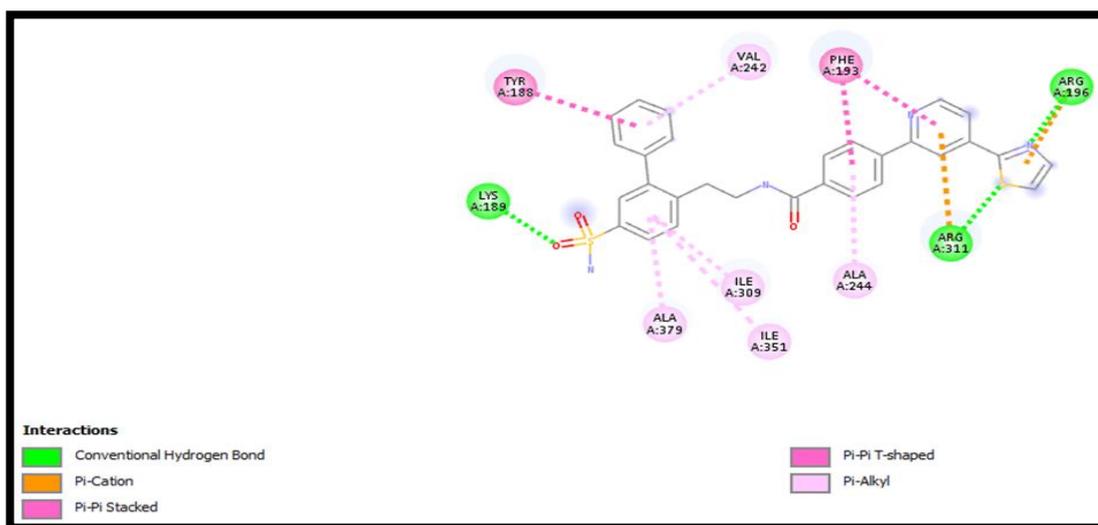


Figure N°52 : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé 74 en schéma 2D.

Dans le cas du composé 74, nous avons visualisé à travers le schéma graphique 2D la formation de quatre liaisons hydrogènes discutées dans le tableau N°23 :

Tableau N°23 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 74 avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	O (N°10)..... H (N°2874) de l'AA : LYS189	Conventional Hydrogen Bond	2,356777
02	N (N°3)..... H (N°2995) de l'AA : ARG 196	Conventional Hydrogen Bond	1,911293
03	S (N°1)..... H (N°4730) de l'AA : ARG 311	Conventional Hydrogen Bond	2,370950
04	Cycle thiazole H (N°2994) de l'AA : ARG196	Pi-Donor Hydrogen Bond	3,455519

Le remplacement du groupement méthyle en position 1 par un noyau thiazole a permis d'améliorer l'affinité du composé 74, provoquant la formation de deux nouvelles liaisons hydrogènes, de type Pi-Donor Hydrogen Bond entre le soufre du noyau thiazole et la deuxième fonction amine de l'Arginine 311, et de type Conventional Hydrogen Bond entre la fonction NH du noyau thiazole et celle de l'Arginine 196.

De plus, le noyau thiazole a permis la formation d'une interaction non covalente de type Pi-cation suite à la charge positive de l'Arginine 196.

Il se rajoute à ces forces, des interactions hydrophobes par les alkyles hydrocarbonés apolaires entre les cycles du composé et les résidus : Valine 242, Alanines 244 ; 379, et Isoleucines 309 ; 351.

Interaction Pi-Pi Stacking et Pi-Pi T-shaped qui s'établissent entre l'un des cycles du ligand et le noyau aromatique des acides aminés Tyrosine 188 ; phénylalanine193.

➤ Etude des interactions du composé 77

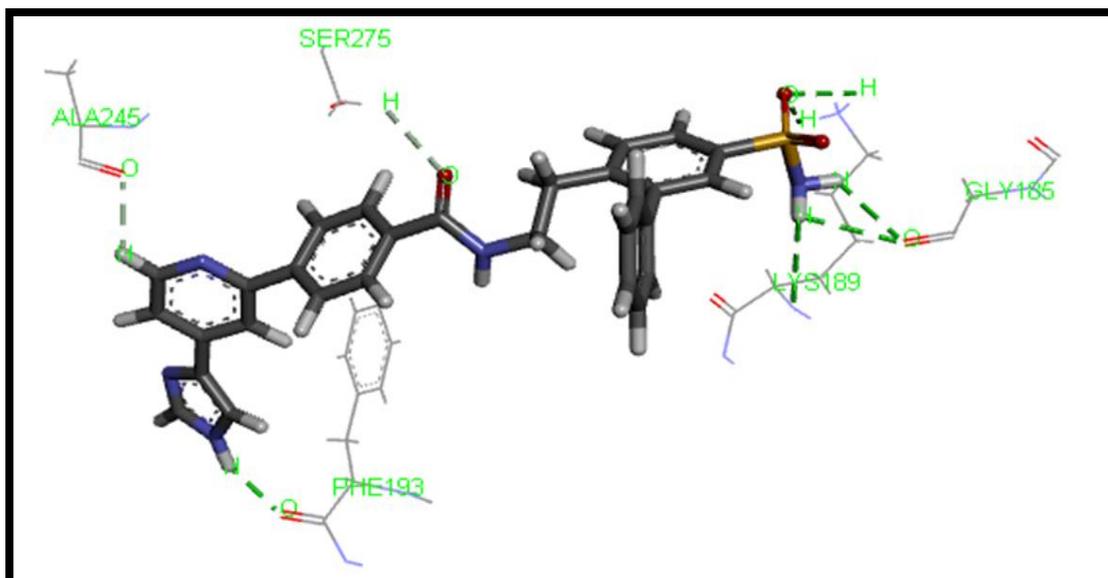


Figure N°53 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du composé 77 avec le site actif du NAMPT.

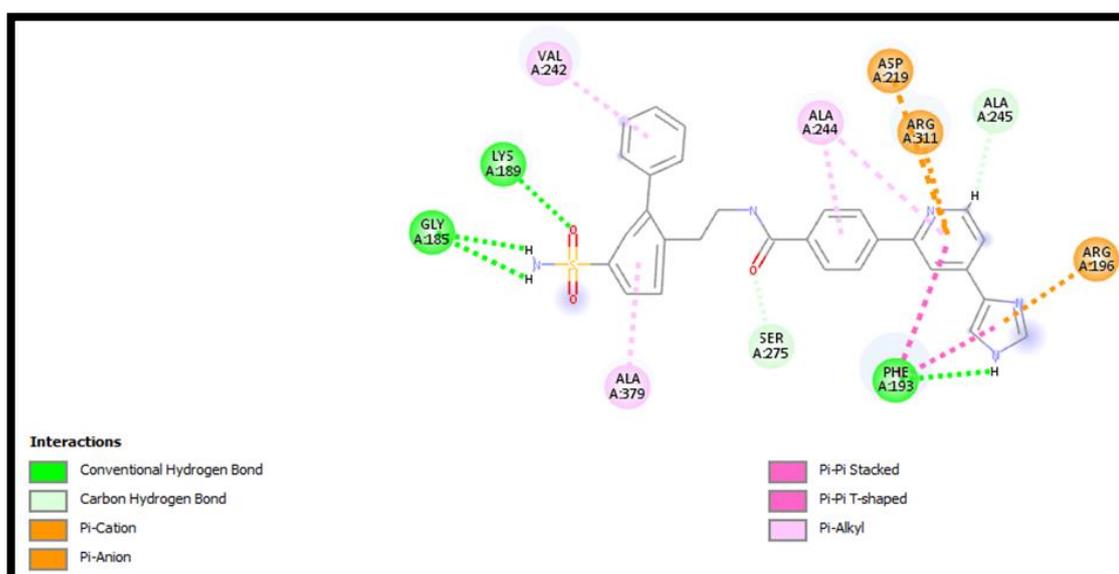


Figure N°54 : La présentation des interactions récepteur-ligand du composé 77 en schéma 2D.

Nous avons obtenu ce composé par l'addition du cycle imidazole en position P1 du meilleur ligand mono-substitué. Cette substitution a permis d'augmenter le nombre de liaisons H et de liaisons hydrophobes, entraînant ainsi une augmentation de l'affinité du composé ($9,24 \text{ M}^{-1}$) par rapport à celle du meilleur composé mono-substitué ($8,79 \text{ M}^{-1}$). Nous avons observé sept liaisons hydrogènes, l'une de cette liaison a été formée entre la fonction NH du cycle

imidazole et la Phénylalanine 193, comme illustrés dans la figure N°54 et détaillés dans le tableau N°24.

Tableau N°24 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 77 avec le site actif.

Liaisons H	Mode de liaison d'inhibiteur avec les résidus du site actif	Types	Distance (Å)
01	O(N°12)..... H (N°2874) de l'AA : LYS189	Conventional Hydrogen Bond	2,510037
02	O(N°12)..... H (N°2876) de l'AA : LYS189	Conventional Hydrogen Bond	2,748923
03	H(N°8).....H (N°2928) de l'AA : PHE193	Conventional Hydrogen Bond	2,020865
04	H(N°43)..... H (N°2796) de l'AA : GLY185	Conventional Hydrogen Bond	2,720786
05	H(N°44)..... H (N°2796) de l'AA : GLY185	Conventional Hydrogen Bond	2,515553
06	O(N°10)..... H (N°4146) de l'AA : SER275	Carbon Hydrogen Bond	2,705405
07	H(N°58)..... H (N°3684) de l'AA : ALA245	Carbon Hydrogen Bond	2,245434

Il s'ajoute à ces forces, des interactions hydrophobes effectuées par les alkyles hydrocarbonés apolaires que nous retrouvons entre les cycles du composé 77 et les radicaux des aminoacides : Valine 242 et Alanine 244 ; 379.

D'autres interactions électrostatiques s'ajoutent aux précédentes comme :

Interactions Pi-Pi Stacking et Pi-Pi T-shaped qui s'établissent entre l'un des cycles du ligand et le noyau aromatique de l'acide aminé phénylalanine 193.

Interaction Pi-cation qui s'établit entre le cycle imidazole et l'acide aminé Arginine 196 (charge positive du NH₃⁺), et l'autre se forme entre le cycle du ligand et l'Arginine 311.

Interaction Pi-Anion suite à la charge négative du COO⁻ de l'acide aminé Aspartique 219.

4. L'évaluation des propriétés ADMET

Dans nos études précédentes, nous avons construit une série de modèles *in silico* afin de découvrir les meilleurs composés issus de la mono-substitution (33 ; 51) et de la bi-substitution (67 ; 74) pour les proposer comme étant de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la NAMPT. Une autre application importante pour compléter cette approche consiste à prédire les propriétés physico-chimiques, pharmacocinétiques et la toxicité de ces composés par utilisation du filtre ADME/Tox.

Par conséquent, il est nécessaire de trouver des molécules efficaces avec de bonnes propriétés ADMET pour réduire le risque d'échec aux étapes expérimentales.

Les résultats sont montrés dans les tableaux ci-dessous (Tableaux N°26, N°27 et N°28), sachant que les tableaux N°27 et N°28 sont sous forme de probabilités avec également une description de catégorie de type 1 et 0 :

- Catégorie 0 : une propriété négative (-).
- Catégorie 1 : une propriété positive (+).

Aussi, ces composés sont comparés au ligand de référence S260 extrait de la banque de données PubChem et présenté dans l'annexe N°2.

4.1. Propriétés physico-chimiques

Chaque médicament éventuel doit de se conformer à plusieurs critères de base, tel son faible coût de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés physico-chimiques comme : le coefficient de partage logP, la superficie topologique de la surface polaire (TPSA), le nombre d'atomes, le poids moléculaire...etc. Dans ce contexte, Nous avons complété l'étude de nos meilleurs composés par l'évaluation de leurs propriétés physico-chimiques afin de déterminer si ces composés peuvent agir comme médicament, par l'application des règles suivantes :

Tableau N°25 : les règles appliquées lors de l'évaluation des propriétés physico-chimiques.

Règle de Lipinski	Règle de Veber	Règle de Ghose	Règle d'Oprea	Règle de Varma
Mm <= 500 logP <= 5 H acc <= 10 H don <= 5	n.Rot.bond <= 10; TPSA <= 140 H acc, H don <= 12	- 0.4 <logP <5.6 moyennes : 2,52 160 <Mm <480 moyennes : 357 40 <RM <130 moyennes : 97 20 <n.atoms <70 moyennes : 48	n.rigid.bond >= 18 n.Rot.bond ≥ 6	Mm <= 500 TPSA <= 125 -2 < logD < 5 H acc + H don <= 9 n. Rot. Bond <= 12

Tableau N°26 : Propriétés physicochimiques.

	S260	33	51	67	74
Formule	C21 H21 N3 O3 S	C27 H25 N3 O3 S	C24 H22 N4 O3 S	C28 H24 N2 O5 S	C29 H24 N4 O3 S2
PM (g/mol)	395.484	471,582	446.532	501,564	540,67
Log P	2.677	4.344	3.585	3,734	5.159
Liaison Rotative	7	8	8	9	9
Accepteur d'Hydrogène.	4	4	5	5	6
Donneur d'Hydrogène.	2	2	2	3	2
TPSA Å² (Surface Polaire)	102.15	102.15	104.81	113,43	115.04
Réfractivité molaire	108.262	133,698	120.929	135,921	150.069
Nombre total d'atomes	49	59	54	59	62
Nombre de liaisons rigides	23	29	27	30	33
LogD	2.055	2.816	2.527	0,785	2.853
Règle de Lipinski	100% Parfaitement conforme	100% Parfaitement conforme	100% Parfaitement conforme	75% Conforme	50% Moyenne
Règle de Veber	100% Parfaitement conforme				
Règle de Ghose	100% Parfaitement conforme	75% Conforme	100% Parfaitement conforme	50% Moyenne	50% Moyenne
Règle d'Oprea	100% Parfaitement conforme				
Règle de Varma	100% Parfaitement conforme	100% Parfaitement conforme	100% Parfaitement conforme	60% Conforme	80% Conforme

Les résultats du tableau N° 26 montrent que, comme pour le ligand de référence S260, les composés mono-substitués 33 et 51 répondent parfaitement aux critères des règles proposés par le serveur ADMET lab, concernant le nombre de liaisons rotatives, accepteurs et donneurs d'hydrogène, la surface polaire TPSA...etc, donc ils ont une bonne perméabilité à travers la membrane biologique.

Cependant, les composés bi-substitués 67 et 74 possèdent un poids moléculaire et une réfractivité molaire supérieurs aux normes, cette augmentation réduit l'absorption et la

concentration en composé à la surface de l'épithélium intestinal, donc ces composés sont peu solubles et risquent de ne pas traverser facilement les membranes cellulaires, de même que le composé 74 qui a un LogP élevé, cette valeur de LogP signifie que ce composé est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau (difficile à se dissoudre dans les milieux aqueux) et qui reflète son caractère lipophile, donc une faible absorption et pénétration en raison d'une faible perméabilité à travers les membranes biologiques.

D'après la règle de Lipinski la réalisation de 3 critères est suffisante pour que le composé soit administré par voie orale, donc les composés 33, 51, et 67 peuvent être utilisés sans poser des problèmes de biodisponibilité.

4.2. Propriétés pharmacocinétiques

Un élément essentiel de la découverte et du développement de médicaments consiste à mener des études pharmacocinétiques, souvent appelées études ADME (absorption, distribution, métabolisme, élimination). Ces études aident à déterminer la viabilité d'un candidat-médicament et décomposer le circuit du médicament dans l'organisme en quatre phases :

- Absorption, c'est le passage du médicament à travers les membranes biologiques de son site d'absorption jusqu'à la circulation sanguine (biodisponibilité),
- Distribution, correspondant à la diffusion du médicament dans les différents tissus de l'organisme,
- Métabolisme, décrivant la transformation du médicament par l'organisme,
- Elimination, s'intéressant aux processus d'élimination du médicament par l'organisme.

Dans notre travail, nous avons complété l'étude de nos composés par la prédiction de plusieurs propriétés pharmacocinétiques. Les résultats sont montrés dans le tableau suivant :

Tableau N°27 : Propriétés pharmacocinétiques.

Catégorie	Propriété	S260	33	51	67	74
Absorption	Absorption intestinale humaine (HIA)	0.736 (1)	0.731 (1)	0.664 (1)	0,462 (0)	0.609 (1)
Distribution	BBB perméabilité	0.217 (0)	0.314 (0)	0.207 (0)	0.125 (0)	0.351 (0)

Métabolisme	CYP1A2 inhibition	0.279 (0)	0.437 (0)	0.258 (0)	0.249 (0)	0.525 (1)
	CYP2C19 inhibition	0.207 (0)	0.364 (0)	0.532 (1)	0.024 (0)	0.344 (0)
	CYP2C9 inhibition	0.566 (1)	0.716 (1)	0.710 (1)	0.419 (0)	0.671 (1)
	CYP2D6 inhibition	0.591 (1)	0.530 (1)	0.597 (1)	0.53 (1)	0.541 (1)
	CYP3A4 inhibition	0.409 (0)	0.576 (1)	0.749 (1)	0.295 (0)	0.731 (1)
Excrétion	T 1/2	1.738	1.843	1.546	1.63	1.754

➤ Absorption

Les propriétés ADMET, dérivées du serveur ADMETlab, révèlent que les composés 33, 51, 74, et le composé de départ S260 ont une HIA élevée (catégorie 1) indiquant que ces composés peuvent être bien absorbés par le tractus gastro-intestinal lors d'une administration orale. Les valeurs de HIA des composés se situent dans la plage de 0.66 à 0.73. Cependant le composé 33 a une meilleure absorption intestinale (HIA) par rapport aux autres. Par contre, le composé 67 présente une HIA négative (catégorie 0) indiquant une faible absorption gastro-intestinale.

➤ Distribution

Parmi les paramètres pouvant être étudiés *in silico*, on peut citer la traversée de la barrière hémato-encéphalique (BBB) ou du système nerveux central (SNC). Le test BBB présente un résultat négatif pour tous les composés testés (catégorie 0), ce qui signifie que ces composés, comme le ligand S260, ont une faible capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique. Ceci peut protéger le cerveau d'un effet néfaste probable de ces composés.

➤ Métabolisme

Les enzymes CYP, en particulier les isoformes les plus importantes 1A2, 2C9, 2C19, 2D6 et 3A4 sont responsables d'environ 90% des réactions métaboliques oxydatives et la clairance du foie, leur inhibition peut provoquer des interactions médicamenteuses indésirables dans lesquelles les médicaments administrés ne sont pas métabolisés et s'accumulent à des niveaux toxiques. Selon le tableau N° 27 nous constatons que la majorité des composés étudiés possèdent un effet inhibiteur variable vers les isomères du cytochrome P450, sauf le composé

67 qui présente un effet inhibiteur seulement sur l'iso-forme CYP2D6, donc son inhibition du CYP est la plus favorable.

➤ **Elimination**

La demi-vie ($t_{1/2}$) généralement exprimée en heures, correspond au temps nécessaire pour que la quantité (ou la concentration) d'un médicament dans le plasma diminue de moitié. Le test révèle que toutes les molécules ont donné des résultats ($t_{1/2}$) proches du composé de départ S260.

4.3. Toxicité

Cette étude a été complétée par des prédictions *in silico* des propriétés de toxicité qui couvrent une gamme de paramètres importants, notamment le test d'Ames, hERG, H-HT, DL50, etc...

Tableau N°28 : Résultats de la toxicité.

Catégorie	Propriété	S260	33	51	67	74
Toxicité	Test d'Ames	0.118 (0)	0.152 (0)	0.178 (0)	0.176 (0)	0.138 (0)
	Inhibition de hERG	0.902 (1)	0.896 (1)	0.902 (1)	0.828 (1)	0.826 (1)
	Hépatotoxicité humaine (H-HT)	0.938 (1)	0.86 (1)	0.896 (1)	0.768 (1)	0.824 (1)
	Sensibilisation cutanée (LLNA)	0.23 (0)	0.24 (0)	0.274 (0)	0.298 (0)	0.248 (0)
	DL50 (DL50 de toxicité aiguë)	2296	2609	2659	3350	2891

Le tableau dégage les résultats suivants :

Le contrôle de toxicité AMES est utilisé pour évaluer si une substance est mutagène ou bien non, les résultats indiquent que tous les composés testés avaient un test de toxicité AMES négatif (catégorie 0) comme le composé de référence, avec un faible pourcentage variant de 10% à 20%, ce qui signifie que les ligands sont non mutagènes.

Les résultats du tableau indiquent aussi que tous les composés testés sont des inhibiteurs de la hERG (catégorie 1) avec une probabilité (0,8 à 0,89) inférieure à celle du composé de

référence. Rappelons que l'inhibition de ce gène peut entraîner une arythmie cardiovasculaire grave, et même des cas de mort subite ont été rapportés.

L'hépatotoxicité humaine prédit la nature hépatotoxique des composés chimiques. Les valeurs H-HT des composés se situent dans la plage de 0.7 à 0.89 et sont inférieures à celle du ligand de référence. Par conséquent, les composés sont susceptibles de présenter une hépatotoxicité. Des études complémentaires sont requises pour préciser le niveau des doses hépatotoxiques.

Concernant la sensibilisation cutanée (LLNA), on note un résultat négatif total pour tous les composés testés, ce qui indique que ces composés ne provoquent aucune allergie, irritation...etc.

Parmi les informations importantes obtenues du serveur ADMETlab on a la dose DL50 calculée. Un composé présentant une dose de DL50 faible est plus mortel que le composé ayant une DL50 élevée. D'après nos observations, nous avons constaté que tous les ligands avaient une DL50 plus élevée que le composé S260.

4.4. Conclusion

L'étude théorique que nous avons menée sur l'inhibition de la NAMPT a révélé après une comparaison et une analyse de tous les paramètres que les composés 33,51 et 67 peuvent être proposés comme des nouveaux inhibiteurs de l'enzyme Nicotinamide phosphoribosyltransferase. Ces composés ont présenté les meilleures affinités ainsi qu'un profil ADMET acceptable pour une application biologique. Cependant, d'autres tests *in vitro* et *in vivo* sont nécessaires pour leur validation en tant que médicament potentiel.

**CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES**

Conclusion et perspectives

Cette étude qui entre dans le cadre de l'axe de recherche *in silico* avait pour but de développer des nouveaux inhibiteurs puissants de la nicotinamide phosphoribosyltransferase : une nouvelle cible thérapeutique pour le traitement du cancer colorectal.

Le docking moléculaire a été réalisé par Surflex afin d'étudier les interactions mises en jeu lors de la formation du complexe récepteur-ligand. Pour mener à bien cette étude, nous avons tenté au préalable de tester la fiabilité de ce programme au moyen de deux tests. Le premier test consiste à calculer la déviation quadratique moyenne ou RMSD pour mieux juger la déviation de la pose du ligand docké par Surflex avec celle déterminée expérimentalement. Sur l'ensemble de 200 complexes tirés arbitrairement de la PDB, 82% ont présenté un RMSD parfaitement dans les normes (inférieur ou égal à 2 Å). Ces résultats ont été ensuite confortés par une analyse visuelle du positionnement des différents ligands au sein du site actif. Le deuxième test sert à déterminer le coefficient de corrélation linéaire « r » entre les affinités de 40 complexes téléchargés de manière arbitraire de la PDB et les valeurs de leurs IC50 déterminées expérimentalement. Avec un coefficient de corrélation égal à -0.74, avec 82% de valeurs de RMSD inférieures à 2 Å et après une vérification de la superposition des modèles de ligands de références et théoriques, nous avons conclu que le programme Surflex est suffisamment fiable pour étudier l'inhibition *in silico* de la NAMPT.

Nous avons, par la suite, poursuivi notre travail en procédant à la recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques plus efficaces que notre ligand de référence 2HJ. Pour cela, la chimiothèque "Pubchem" nous a proposé 302 structures similaires avec un taux de similarité de 92% à notre ligand de référence, puis nous avons évalué leurs affinités envers l'enzyme NAMPT. Il ressort que 20 similaires de cette collection chimique présentent des affinités supérieures à celle du ligand de référence 2HJ (4,81 M⁻¹).

Les ligands similaires A, B, C, D et E, en tête de liste des résultats du criblage virtuel par le logiciel Surflex, avec des affinités respectives de : 6,83 ; 6,74 ; 6,70 ; 6,64 et 6,52 M⁻¹, peuvent être proposés comme de meilleurs inhibiteurs potentiels de la cible enzymatique NAMPT. Ensuite, La sélection de ces 5 meilleurs inhibiteurs a été complétée et vérifiée par l'analyse de divers types d'interactions réalisées avec notre cible : les liaisons hydrogène, Pi-Pi stacking, Pi-Anion, Pi-Sulfur, Alkyl...etc. Nous avons confirmé par la suite, en appliquant la règle cinq de Lipinski, que ces cinq composés peuvent être de bons candidats et qu'ils peuvent être administrés par voie orale sans difficultés.

Nous avons poursuivi notre étude en choisissant le meilleur similaire : le composé «59672742 », sur lequel nous avons effectué des modifications structurales par 65 mono-substitutions et 52 bi-substitutions. Le docking moléculaire des 117 composés substitués envers le site actif de l'enzyme a fait découvrir les composés 33, 51, 67 et 74 comme de nouveaux inhibiteurs potentiellement puissants envers la NAMPT avec des affinités égales à $8,79 \text{ M}^{-1}$; $8,68 \text{ M}^{-1}$; $10,78 \text{ M}^{-1}$; $9,64 \text{ M}^{-1}$ respectivement. Nous n'avons retenu que ces quatre meilleurs composés substitués pour effectuer l'analyse du mode d'interactions.

Enfin, l'évaluation des différentes propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques a montré que les composés 33, 51 et 67 possèdent un bon profil ADMET.

En termes de perspectives, notre étude n'étant que préliminaire, Il est nécessaire d'approfondir cette recherche théorique par plus de tests *in silico* qu'il faut par la suite confirmer par des études expérimentales *in vitro* et *in vivo*.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1] Bouchouk M., Bougheriou L. Aspects anatomo-histopathologiques du cancer colorectal. Mémoire de master en Biochimie et Biologie Moléculaire : Université A. MIRA. Bejaia. Algérie. 2017. 41p.
- [2] Laouar H., Daoudi S. Le cancer colorectal Profil épidémiologique-anatomopathologique-immunohistochimique. Mémoire de master en Immunologie-Oncologie : Université des Frères Mentouri. Constantine. Algérie. 2016. 45p.
- [3] (PDF) Cancer colorectal. [En ligne] https://www.researchgate.net/publication/293133775_Colorectal_cancer. [Consulté le : 20/07/2020].
- [4] Hioual K. Etude comparative de l'efficacité de deux programmes de docking et application à l'inhibition de la neuraminidase. Mémoire de magister en Biochimie : Université Mentouri. Constantine. Algérie. 2012. 79p.
- [5] Ghenam A., Gasmi Ch. Inhibition in Silico du Facteur XI impliqué dans la formation de thrombose veineuse. Mémoire de master en Biochimie Appliquée : Université Mentouri. Constantine. Algérie. 2018. 44p.
- [6] Bogdan B. Caractérisation multiparamétrique des cancers colorectaux. Thèse de doctorat en Sciences Biologiques et Santé : Université de BRETAGNE OCCIDENTALE. France. 2018. 138p.
- [7] Guillemot E. Étude des couples Chimiokines/Récepteurs comme nouvelles cibles thérapeutiques des cancers colorectaux métastasés : études précliniques. Thèse de doctorat en Sciences de la Vie et de la Santé : UNIVERSITÉ de NICE SOPHIA-ANTIPOLIS, UFR SCIENCES. France.2013. 154p.
- [8] Ludovic B. Thérapie photodynamique (PDT) dans un modèle in vitro et in vivo de cancer colorectal : utilisation d'un photosensibilisateur nanovectorisé. Thèse de doctorat en Sciences Biologiques et Santé (SBS) : Université de Limoges. France.2019. 280p.
- [9] Cheniti M., Djebli I. Étude statistique des facteurs de risque liés à la survenue du Cancer Colorectal dans la région de Constantine. Mémoire de master en Génétique Moléculaire : Université des Frères Mentouri Constantine. Algérie. 2016. 84p.
- [10] Facteurs de risque - Cancer du côlon. [En ligne] <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-colon/Facteurs-de-risque>. [Consulté le : 04/07/2020].
- [11] Causes et facteurs de risque du cancer colorectal | MediPedia. [En ligne] <https://fr.medipedia.be/cancer-colorectal/comprendre/causes-et-facteurs-de-risque-du-cancer-colorectal>. [Consulté le : 04/07/2020].
- [12] Sahli A., EL Attafi M. Le cancer colorectal : Etude épidémiologique et dosage des marqueurs tumoraux ACE et CA19.9. Mémoire de master en Biochimie de la Nutrition : Université des Frères Mentouri Constantine. Algérie. 2018. 60p.
- [13] Achouche A., Belibel K. Etude rétrospective, biochimique et moléculaire du cancer colorectal dans la région de Constantine. Mémoire de master en Génétique : Université des Frères Mentouri Constantine. Algérie. 2019. 55p.

[14] Lucile D. Etude du rôle d'un donneur de monoxyde d'azote (Glycéril Trinitrate) dans la mort cellulaire immunogène induite par des chimiothérapies (FOX) et/ou radiothérapie dans le cancer colique. Mémoire en Sciences de la Vie et de la Terre de l'école Pratique des Hautes Etudes. Paris. France. 2017. 122p.

[15] Oxaliplatine – Recherche Google. [En ligne]. https://www.google.com/search?q=Oxaliplatine&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwibia71mZbrAhUOCWMBHaOoA9EQ_AUoAXoECBYQAw&biw=1366&bih=657. [Consulté le 5/7/2020].

[16] 5-fluorouracil – Recherche Google. [En ligne]. https://www.google.com/search?q=5-fluorouracil&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwiUrfH_mZbrAhWHEBQKHRPwDGAQ_AUoAXoECBcQAw&biw=1366&bih=657. [Consulté le 5/7/2020].

[17] leucovorine – Recherche Google. [En ligne]. https://www.google.com/search?q=leucovorine&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwio2O73mZbrAhWB2eAKHb8QBCEQ_AUoA3oECBMQBQ&biw=1366&bih=657. [Consulté le 5/7/2020].

[18] Structure chimique de l'irinotécan – Recherche Google. [En ligne]. https://www.google.com/search?q=Structure+chimique+de+l%E2%80%99irinot%C3%A9can&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwiKg6KrnZbrAhU98uAKHb2lCvoQ_AUoAXoECAoQAw&biw=1366&bih=657. [Consulté le 5/7/2020].

[19] Structure chimique de la capécitabine – Recherche Google. [En ligne]. https://www.google.com/search?q=Structure+chimique+de+la+cap%C3%A9citabine&tbn=isch&ved=2ahUKEwi07939m5brAhVYPhoKHaoiDOIQ2-cCegQIABAA&oq=Structure+chimique+de+la+cap%C3%A9citabine&gs_lcp=CgNpbWcQA1DVwgJY1cICYIPHAMgAcAB4AIABAIgBAJIBAJgBAKABAaoBC2d3cy13aXotaW1nwAEB&sc_lent=img&ei=pSo0X_SIDj8aKrFvJAE&bih=657&biw=1366. [Consulté le 5/7/2020].

[20] Structure chimique du tégafur – Recherche Google. [En ligne]. https://www.google.com/search?q=Structure+chimique+du+t%C3%A9gafur&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwj88NK6nZbrAhWNmBQKHZWECiMQ_AUoAXoECBsQAw&biw=1366&bih=657. [Consulté le 5/7/2020].

[21] Trifluridine – Recherche Google. [En ligne]. https://www.google.com/search?q=Trifluridine&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwii6bGnZbrAhWIDWMBHbL8DIQQ_AUoAXoECBUQAw&biw=1366&bih=657. [Consulté le 5/7/2020].

[22] Raltitrexed – Recherche Google. [En ligne]. https://www.google.com/search?q=Raltitrexed&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwivpcfYnZbrAhWqA2MBHRh3Bz8Q_AUoAXoECBUQAw&biw=1366&bih=657. [Consulté le 5/7/2020].

[23] Hara, Nobumasa, Kazuo Yamada, Tomoko Shibata, Harumi Osago, et Mikako Tsuchiya. « Nicotinamide Phosphoribosyltransferase/Visfatin Does Not Catalyze Nicotinamide Mononucleotide Formation in Blood Plasma ». 6, no 8 (3 août 2011). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022781>.

- [24] Garten, Antje, Stefanie Petzold, Antje Körner, Shin-ichiro Imai, et Wieland Kiess. « Nampt: Linking NAD biology, metabolism, and cancer ». *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 20, no 3 (avril 2009): 130-38. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2008.10.004>.
- [25] Carbone F et al. « Regulation and Function of Extracellular Nicotinamide Phosphoribosyltransferase/Visfatin ». In *Comprehensive Physiology*, édité par Ronald Terjung, 603-21. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2017. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160029>.
- [26] Zhang, Li Qin, Daniel P. Heruth, et Shui Qing Ye. « Nicotinamide Phosphoribosyltransferase in Human Diseases ». *Journal of Bioanalysis & Biomedicine* 03, no 01 (2011). <https://doi.org/10.4172/1948-593X.1000038>.
- [27] NAMPT | Tocris Bioscience. [En ligne] <https://www.tocris.com/pharmacology/nampt> [Consulté le 10/07/2020].
- [28] Grolla, Ambra A, Cristina Travelli, Armando A Genazzani, et Jaswinder K Sethi. « Extracellular Nicotinamide Phosphoribosyltransferase, a New Cancer Metabokine : ENAMPT and Cancer ». *British Journal of Pharmacology* 173, no 14 (juillet 2016) : 2182-2194. <https://doi.org/10.1111/bph.13505>.
- [29] Sayers, Sophie R., Rebecca L. Beavil, Nicholas H. F. Fine, Guo C. Huang, Pratik Choudhary, Kamila J. Pacholarz, Perdita E. Barran, et al.wu « Structure-Functional Changes in ENAMPT at High Concentrations Mediate Mouse and Human Beta Cell Dysfunction in Type 2 Diabetes ». *Diabetologia* 63, no 2 (1 février 2020): 313-323. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-05029-y>.
- [30] View Image. [En ligne]. http://www.cancertm.com/viewimage.asp?img=CancerTranslMed_2018_4_4_109_240293_f4.jpg . [Consulté le 10/7/2020].
- [31] Wang, Tao, Xiangbin Zhang, Poonam Bheda, Javier R. Revollo, Shin-ichiro Imai, et Cynthia Wolberger. « Structure of Nampt/PBEF/Visfatin, a Mammalian NAD + Biosynthetic Enzyme ». *Nature Structural & Molecular Biology* 13, no 7 (juillet 2006) : 661-62. <https://doi.org/10.1038/nsmb1114>.
- [32] Burgos, Emmanuel S., Meng-Chiao Ho, Steven C. Almo, et Vern L. Schramm. « A Phosphoenzyme Mimic, Overlapping Catalytic Sites and Reaction Coordinate Motion for Human NAMPT ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, no 33 (18 août 2009) : 13748-53. <https://doi.org/10.1073/pnas.0903898106>.
- [33] Wu, Dan, Dilyara Cheranova, Daniel Heruth, Li Zhang, et Shui Ye. « Nicotinamide Phosphoribosyltransferase Inhibitors », 2012. <https://doi.org/10.5772/34981>.
- [34] Zhao, Genshi, Colin F. Green, Yu-Hua Hui, Lourdes Prieto, Robert Shepard, Sucai Dong, Tao Wang, et al. « Discovery of a Highly Selective NAMPT Inhibitor That Demonstrates Robust Efficacy and Improved Retinal Toxicity with Nicotinic Acid Coadministration ». *Molecular Cancer Therapeutics* 16, no 12 (1 décembre 2017) : 2677-2688. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-16-0674>.
- [35] Ye, Chenyang, Lina Qi, Xiaofen Li, Ji Wang, Jiekai Yu, Biting Zhou, Cheng Guo, Jiani Chen, et Shu Zheng. « Targeting the NAD+ Salvage Pathway Suppresses APC Mutation-Driven

Colorectal Cancer Growth and Wnt/ β -Catenin Signaling via Increasing Axin Level ». *Cell Communication and Signaling* 18, no 1 (2020): 16. <https://doi.org/10.1186/s12964-020-0513-5>.

[36] Yaku, Keisuke, Keisuke Okabe, Keisuke Hikosaka, et Takashi Nakagawa. « NAD Metabolism in Cancer Therapeutics ». *Frontiers in Oncology* 8 (2018). <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00622>.

[37] PubChem. « Daporinad ». <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Daporinad>. [Consulté le 13/7/2020].

[38] Lone S. L'agent anticancéreux CHS 828 supprime l'activité du facteur nucléaire kappa B dans les cellules cancéreuses par une régulation négative de l'activité IKK. *International Journal of Cancer*, 2004. 111 (2) : 198-205. DOI : 10.1002 / ijc.20255.

[39] CHS 828 (CAS 200484-11-3). [En ligne] https://www.rndsystems.com/products/chs-828_6753. [Consulté le 13/7/2020].

[40] Sethi, Aaftaab, Khusbhoo Joshi, K. Sasikala, et Mallika Alvala. « Molecular Docking in Modern Drug Discovery : Principles and Recent Applications ». In *Drug Discovery and Development - New Advances*, édité par Vishwanath Gaitonde, Partha Karmakar, et Ashit Trivedi. IntechOpen, 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85991>.

[41] Merzoug A. Etude *in silico* de l'inhibition de la peptide deformylase. Mémoire de magister en Biochimie : Université Mentouri. Constantine. Algérie. 2012.64p.

[42] Bouchrit H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de mycobacterium tuberculosis par diverses molécules. Mémoire de magister en Biochimie : Université Mentouri. Constantine. Algérie. 2012. 70p.

[43] Ben mohamed I., Mekki H. Synthèse et étude docking moléculaire de quelques dérivés de chalcones. Mémoire de master en chimie pharmaceutique : Université Mohamed Khider. Biskra. Algérie. 2019. 67p.

[44] Tifourak D. Etude par Docking Moléculaire de l'inhibition des CYP3A4 par le jus de pamplemousse. Mémoire de master en chimie physique : Université 8 Mai 1945. Guelma. Algérie. 2019. 76p.

[45] Louacheni F. Développement d'un portail web pour le criblage virtuel sur la grille de calcul]. Mémoire de Master 2 Informatique : Institut de la Francophonie pour l'Informatique. 2013.

[46] 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. Mémoire de Magister en Biochimie : Université Mentouri. Constantine. Algérie. 2012.75p.

[47] Docking protéine-ligand – Recherche Google. [En ligne]. https://www.google.com/search?q=Docking+prot%C3%A9ine-ligand&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjZqZ6frJbrAhWhzYUKHeE_DQ8Q_AUoAXoECA8QAw&biw=1366&bih=657. [Consulté le 8/5/2020].

[48] Aurélien G. 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. 90p.

- [49] Ayaz, M.D., Shafia, M. Molecular-docking-approaches-types-applications-and-basic-challenges. Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques. (2017), volume 8, p.1-3. DOI : 10.4172/2155-9872.1000356.
- [50] Maffrand, Jean-Pierre. « La chimie thérapeutique : de la biologie chimique à la découverte de nouveaux médicaments », s. d., 17.
- [51] Bouchair F. Modélisation de nouveaux inhibiteurs sélectifs de l'oxyde nitrique synthase (NOS). Mémoire de Magister en chimie théorique : Université Mentouri. Constantine. Algérie. 2012. 64p.
- [52] Hoffer L. Développement et validation du logiciel S4MPLE. Application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du Fragment-Based Drug Design. Thèse de doctorat en Chimoinformatique : l'Université de Strasbourg. France. 2013. 301p.
- [53] Dsaphy J. L'analyse structurale de complexes protéine/ligand et ses applications en chimogénomique. Thèse de doctorat en chimoinformatique : Université strasbourg. France. 2013. 200p.
- [54] « Une liaison hydrogène entre une molécule d'eau et une molécule... | Download Scientific Diagram ». [En ligne]. https://www.researchgate.net/figure/Une-liaison-hydrogene-entre-une-molecule-deau-et-une-molecule-dammoniac-La-molecule_fig40_325956424. [Consulté le 8/5/2020].
- [55] « Les liaisons ioniques – Recherche Google ». [En ligne]. https://www.google.com/search?q=:+Les+liaisons+ioniques&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjVtZzTmPnrAhX8TRUIHc0VAPQQ_AUoAXoECBIQAw&biw=1366&bih=608. [Consulté le 8/5/2020].
- [56] Bouchagra S. MODELISATION DES INTERACTIONS PROTEINE-PETITES MOLECULES : ETUDE DE LA RELATION STRUCTURE – FONCTION DANS LE CAS DES LIPASES. Thèse de doctorat en Chimie Organique et Bioorganique : UNIVERSITE BADJI MOKHTAR- ANNABA. Algérie. 2018. 145p.
- [57] Labonté, Vickie. « DÉPOSITION D'UN REVÊTEMENT ORGANIQUE PAR VOIE PHOTOCHEMIE SUR DES PARTICULES EMPLOYÉES DANS LE CONTRÔLE QUALITÉ DES MÉDICAMENTS INJECTABLES », s. d., 130.
- [58] Salahi D. Modélisation de la structure d'une protéine impliquée dans le cancer et de ses interactions avec quelques ligands. Mémoire de master en Chimie Pharmaceutique : Université MOULOU MAMMERI. TIZI OUZOU. Algérie. 2014. 51p.
- [59] Receptor (biochemistry). In Wikipedia. [En ligne] [https://fr.wikipedia.org/wiki/Receptor_\(biochemistry\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Receptor_(biochemistry)). Consulté le [9/5/2020].
- [60] Protein Data Bank. In Wikipedia. [En ligne] https://en.wikipedia.org/wiki/Protein_Data_Bank. Consulté le [9/5/2020].

- [61] Boutrif C., Merdassi A. Etude in silico de la 5-lipoxygénase en tant qu'enzyme impliquée dans les maladies inflammatoires. Mémoire de master en Biochimie : Université Mentouri. Constantine. Algérie. 2014. 41p.
- [62] Krid A. Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant. Mémoire de magister en chimie théorique : Université Mentouri. Constantine. Algérie. 2008. 72p.
- [63] Ligand (Biochemistry). In Wikipedia. [En ligne] [https://en.wikipedia.org/wiki/Ligand_\(biochemistry\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Ligand_(biochemistry)). Consulté le [9/5/2020].
- [64] Nathalie Lagarde. Méthodes de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Bio-Informatique, Biologie Systémique [qbio. QM]. Conservatoire national des arts et métiers - CNAM, 2014. Français. NNT: 2014CNAM0943. Tel-01132490.
- [65] Protein Data Bank (PDB). [En ligne] https://fr.wikipedia.org/wiki/Protein_Data_Bank. Consulté le [20/5/2020].
- [66] Protein Data Bank. In Wikipédia. [En ligne]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consulté le [20/5/2020].
- [67] Data Sources - PubChem. [En ligne]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/DrugBank>. Consulté le [20/5/2020].
- [68] ArgusLab. [En ligne]. <http://www.arguslab.com/arguslab.com/ArgusLab.html>. Consulté le [20/5/2020].
- [69] Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptides deformylase-substances antibactériennes à l'aide de techniques de Docking (Arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat d'état en Microbiologie. Université Mentouri Constantine. 2007.95p.
- [70] ChemDraw. In Wikipedia. [En ligne]. <https://en.wikipedia.org/wiki/ChemDraw>. Consulté le [21/5/2020].
- [71] Home-ADMElab: ADMET Prediction|ADMET Predictor|QSAR|ADMET Database. [En ligne]. <http://admet.scbdd.com/>. Consulté le [21/5/2020].
- [72] WhatIs.com. « What Is Correlation Coefficient ? - Definition from WhatIs.Com ». [En ligne]. <https://whatis.techtarget.com/definition/correlation-coefficient>. [Consulté le 18/5/2020].
- [73] Bank, RCSB Protein Data. « RCSB PDB - 4N9D : Fragment-Based Design of 3-Aminopyridine-Derived Amides as Potent Inhibitors of Human Nicotinamide Phosphoribosyltransferase (NAMPT) ». [En ligne]. <https://www.rcsb.org/structure/4N9D>. [Consulté le 18/5/2020].
- [74] Bank, RCSB Protein Data. « RCSB PDB - 2HJ Ligand Summary Page ». [En ligne]. <https://www.rcsb.org/ligand/2HJ>. [Consulté le 21/5/2020].
- [75] Darveau, P. Étude des propriétés des dendrimères pour le transport de molécules bioactives. Mémoire maîtrise en chimie : Université de LAVAL. Québec, Canada. 2018. 141p.
- [76] Lagorce, David, Olivier Sperandio, Hervé Galons, Maria A Miteva, et Bruno O Villoutreix. « FAF-Drugs2 : Free ADME/tox filtering tool to assist drug discovery and chemical biology

projects ». *BMC Bioinformatics* 9 (24 septembre 2008): 396. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-396>.

[77] Corinne, H. RECHERCHE D'INHIBITEURS DE HAUTE AFFINITE DE L'ADN POLYMERASE BETA PAR CRIBLAGE VIRTUEL ET RMN. Thèse de doctorat en Biologie structurale : Université Toulouse III - Paul Sabatier. France. 2008. 258p.

[78] Squonk Computational Notebook. [En ligne]. [https://squonk.it/docs/cells/Ghose%20filter%20\(CXN\)/](https://squonk.it/docs/cells/Ghose%20filter%20(CXN)/). Consulté le [19/5/2020].

[79] [En ligne]. <https://docs.chemaxon.com/display/docs/Search+Filters>. Consulté le [19/5/2020].

[80] DrugBank. [En ligne]. <https://www.drugbank.ca/>. Consulté le [19/5/2020].

[81] Perméabilité de la barrière hémato-encéphalique. In Wikipédia. [En ligne]. https://fr.wikipedia.org/wiki/Perm%C3%A9abilit%C3%A9_de_la_barri%C3%A8re_h%C3%A9mato-enc%C3%A9phalique. Consulté le [19/5/2020].

[82] Amélie, M. Rôle des cytochromes P450 dans les interactions médicamenteuses et environnementales rencontrées à l'officine. Thèse de doctorat en pharmacie : Université de LORRAINE. France. 2012. 119p.

[83] Gerberick, G. Frank, Cindy A. Ryan, Rebecca J. Dearman, et Ian Kimber. « Local Lymph Node Assay (LLNA) for Detection of Sensitization Capacity of Chemicals ». *Methods (San Diego, Calif.)* 41, no 1 (janvier 2007): 54-60. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2006.07.006>.

[84] Chikhi A., Bensegueni A. Docking Efficiency Comparison of Surfex, a Commercial Package and Arguslab, a Licensable Freewar. *Journal of Computer Science and Systems Biology*. 2008 ; 1 : 081-086.

[85] Teniou S. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Mémoire de magistère en biochimie : Université Mentouri. Constantine. Algérie. 2012. 59p.

[86] Bensegueni A. Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxigénase et la cyclooxygénase. Thèse de doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2007. 76p.

ANNEXES

❖ **Annexes 1** : Les valeurs de RMSD de 200 complexes.

	Code PDB des complexes	Code PDB des ligands	RMSD (Å)	RMSD (Å) optimisé
Complexe 1	3G8E	IS1	2,665	0,964
Complexe 2	2H3D	NMN	1,325	/
Complexe 3	4O1B	DGB	2,790	0,388
Complexe 4	5KIT	6TA	1,618	/
Complexe 5	4O13	2PI	2,574	0,595
Complexe 6	4O15	2PI	5,173	/
Complexe 7	6ATB	BWA	8,758	/
Complexe 8	3DHD	NMN	0,873	/
Complexe 9	3DKJ	PRP	2,467	0,802
Complexe 10	4WQ6	3TQ	3,470	0,623
Complexe 11	6PEB	OE4	2,094	1,716
Complexe 12	6B76	CNJ	2,967	1,477
Complexe 13	5LX5	7A0	2,825	0,595
Complexe 14	5UPE	8HY	14,101	/
Complexe 15	5WI0	AQ1	4,159	/
Complexe 16	5WI1	AOY	12,462	/
Complexe 17	3DHF	NMN	4,528	/
Complexe 18	3DKL	PRP	2,589	1,224
Complexe 19	2GVJ	DGB	15,678	/
Complexe 20	4JNM	1LJ	4,762	/
Complexe 21	5U2M	7T7	13,028	/
Complexe 22	5U2N	7TA	2,697	1,500
Complexe 23	5UPF	8HV	7,038	/
Complexe 24	6E68	HVM	1,592	/
Complexe 25	4L4L	1XC	4,468	/
Complexe 26	4L4M	1XD	3,500	/
Complexe 27	1KMV	LII	1,424	/
Complexe 28	2G96	NMN	4,629	/
Complexe 29	2G97	DGB	1,426	/
Complexe 30	4M6Q	20T	7,324	/
Complexe 31	4N9B	2HH	1,825	/
Complexe 32	1G0N	PHH	1,672	/
Complexe 33	1KMS	LIH	2,729	0,470
Complexe 34	4LVA	20M	0,822	/
Complexe 35	4LWW	LWW	3,023	0,255
Complexe 36	4O16	1XC	1,521	/
Complexe 37	2EGH	FOM	3,096	1,449
Complexe 38	1IA2	TQ4	2,078	0,115
Complexe 39	2ANQ	C1A	2,072	0,592
Complexe 40	2ANO	817	2,347	1,090
Complexe 41	1DAJ	MOT	0,599	/
Complexe 42	1DRE	MTX	2,709	0,867
Complexe 43	3E0B	N22	0,783	/

Complexe 44	1RA3	MTX	1,585	/
Complexe 45	1RB3	MTX	1,654	/
Complexe 46	1RG7	MTX	0,623	/
Complexe 47	1RH3	MTX	1,429	/
Complexe 48	1DDR	MTX	1,595	/
Complexe 49	1RX3	MTX	1,653	/
Complexe 50	5HI6	MTX	1,213	/
Complexe 51	1AOE	GW3	1,042	/
Complexe 52	2FZH	DH1	0,742	/
Complexe 53	2W3V	TOP	1,688	/
Complexe 54	6A7E	9QR	0,904	/
Complexe 55	6CQA	PQD	1,494	/
Complexe 56	5ISP	U06	1,151	/
Complexe 57	1DLS	MTX	1,119	/
Complexe 58	4QHV	IXF	0,910	/
Complexe 59	6E4E	MMV	2,943	0,884
Complexe 60	4QJC	IXE	1,093	/
Complexe 61	6CXM	MMV	0,745	/
Complexe 62	6DAV	G3V	3,348	1,982
Complexe 63	6DE4	G6Y	0,991	/
Complexe 64	6DDW	G7D	2,500	1,726
Complexe 65	4TU5	06W	1,371	/
Complexe 66	4XEC	06U	0,705	/
Complexe 67	4OR7	25U	2,646	0,224
Complexe 68	4HOE	18G	1,350	/
Complexe 69	4HOF	18H	2,333	0,179
Complexe 70	4M7V	PAR	5,205	/
Complexe 71	4LAE	1VM	0,596	/
Complexe 72	4LAG	1VN	1,201	/
Complexe 73	4LAH	1VO	0,412	/
Complexe 74	4LEK	1DN	0,424	/
Complexe 75	4G95	OAG	3,920	/
Complexe 76	4XE6	06U	0,706	/
Complexe 77	3M08	PAR	4,470	/
Complexe 78	3M09	PAR	0,776	/
Complexe 79	3I8A	N22	1,324	/
Complexe 80	3IX9	MTX	1,581	/
Complexe 81	3FRA	I2H	2,070	0,118
Complexe 82	3ERB	TOP	2,064	0,817
Complexe 83	3FRE	TOP	2,102	0,134
Complexe 84	3FRF	XCF	2,405	0,289
Complexe 85	2W3B	VG9	1,296	/
Complexe 86	3GYF	51P	1,187	/
Complexe 87	3K45	519	1,169	/
Complexe 88	3K47	D09	1,138	/
Complexe 89	3GHC	GHC	1,036	/
Complexe 90	3GHV	GHC	0,744	/
Complexe 91	3GHW	GHC	3,084	0,683

Complexe 92	3F8Y	DH1	0,621	/
Complexe 93	3F8Z	DH1	1,196	/
Complexe 94	3FS6	DH1	0,615	/
Complexe 95	3FY8	XCF	0,608	/
Complexe 96	3FY9	XCF	2,426	0,566
Complexe 97	3FYV	XCF	0,819	/
Complexe 98	3FYW	XCF	0,674	/
Complexe 99	2W9G	TOP	2,127	0,905
Complexe 100	2W9H	TOP	2,250	0,886
Complexe 101	1BOZ	PRD	0,910	/
Complexe 102	1DG7	WRB	2,512	1,046
Complexe 103	1DLR	MXA	0,854	/
Complexe 104	1DOH	NID	3,310	0,059
Complexe 105	1G0O	PYQ	2,220	0,770
Complexe 106	1IA1	TQ3	0,784	/
Complexe 107	1AI3	NDO0	0,849	/
Complexe 108	1AI4	DHY	0,775	/
Complexe 109	1JPZ	140	0,984	/
Complexe 110	1KLK	PMD	1,509	/
Complexe 111	1LY3	COG	2,509	0,654
Complexe 112	1LY4	COQ	4,068	/
Complexe 113	1M7A	MQU	0,827	/
Complexe 114	1M78	CLZ	0,610	/
Complexe 115	1M79	MQ1	1,453	/
Complexe 116	1OHK	COP	2,487	0,518
Complexe 117	1YBV	BEA	0,887	/
Complexe 118	2C2S	34B	1,990	/
Complexe 119	2CIG	1DG	5,251	/
Complexe 120	2FLZJ	DH3	5,109	/
Complexe 121	2W3M	FOL	1,022	/
Complexe 122	3D80	Q22	2,664	2,013
Complexe 123	3E0B	N22	0,783	/
Complexe 124	3FL8	RAR	0,725	/
Complexe 125	3JVX	EKB	0,716	/
Complexe 126	3JWC	EKB	0,782	/
Complexe 127	3JWF	5WA	0,606	/
Complexe 128	3JWK	5WB	1,462	/
Complexe 129	3JWM	5WB	2,346	1,270
Complexe 130	3KFY	JZM	2,465	0,122
Complexe 131	3L3R	OAG	2,452	0,624
Complexe 132	4JR5	1LS	14,150	/
Complexe 133	4KFO	1QS	1,673	/
Complexe 134	4LTS	LTS	1,163	/
Complexe 135	4LV9	20J	5,586	/
Complexe 136	4LVB	20N	2,953	0,343
Complexe 137	4LVD	1EB	10,818	/
Complexe 138	4M6P	20R	5,616	/
Complexe 139	4N9C	2ZM	0,726	/

Complexe 140	4N9D	2HJ	3,561	/
Complexe 141	4O1D	DGB	4,369	/
Complexe 142	4O28	1QS	5,722	/
Complexe 143	5NSD	96Q	3,546	/
Complexe 144	4N9E	2HL	2,323	1,561
Complexe 145	4LVG	20O	6,707	/
Complexe 146	4LVF	20P	2,725	1,672
Complexe 147	4KFP	1R7	1,141	/
Complexe 148	4KFN	1QR	3,164	0,297
Complexe 149	3LG4	52V	3,076	1,410
Complexe 150	3NOH	TOP	3,350	1,224
Complexe 151	3NTZ	3TZ	0,832	/
Complexe 152	3NU0	3TU	1,273	/
Complexe 153	3NXO	D2B	0,557	/
Complexe 154	3NXR	D2D	1,607	/
Complexe 155	3NXT	D2E	1,284	/
Complexe 156	3NXV	D2F	0,678	/
Complexe 157	3NXX	D2D	2,023	1,560
Complexe 158	3NXY	D2H	1,786	/
Complexe 159	3NZD	D2Q	2,489	0,453
Complexe 160	3NZ6	D2J	1,820	/
Complexe 161	3NZ9	D2K	1,512	/
Complexe 162	3NZA	D2K	1,628	/
Complexe 163	3NZB	D2N	5,469	/
Complexe 164	3NZC	D2O	1,148	/
Complexe 165	3OAF	OAG	2,556	0,795
Complexe 166	3OCH	2MX	8,055	/
Complexe 167	3QLR	QLR	1,026	/
Complexe 168	3QLS	55V	2,871	1,024
Complexe 169	3QLW	N22	0,878	/
Complexe 170	3QYL	7ME	0,376	/
Complexe 171	3QYO	Q24	0,410	/
Complexe 172	3R33	6ME	0,302	/
Complexe 173	3S3V	TOP	1,594	/
Complexe 174	3S7A	684	1,362	/
Complexe 175	3S9U	5DR	0,590	/
Complexe 176	3SAI	9DR	2,663	0,153
Complexe 177	3SGY	O6W	0,667	/
Complexe 178	3SH2	SDR	12,852	/
Complexe 179	3SRQ	Q19	1,906	/
Complexe 180	3SR5	Q12	0,813	/
Complexe 181	3SQY	Q11	0,692	/
Complexe 182	3SRR	Q20	4,334	/
Complexe 183	3SRS	M23	0,458	/
Complexe 184	3SRU	Q26	0,405	/
Complexe 185	3SRW	Q27	1,150	/
Complexe 186	3TD8	D2R	1,402	/
Complexe 187	3TQ8	TOP	0,964	/

Complexe 188	4DDR	MMV	1,205	/
Complexe 189	4FGG	0U5	5,141	/
Complexe 190	4FGH	0U6	3,073	1,033
Complexe 191	4H95	06U	1,863	/
Complexe 192	4H97	53S	0,831	/
Complexe 193	4KAK	06U	0,914	/
Complexe 194	4KBN	25U	3,354	0,736
Complexe 195	4KD7	9DN	2,777	0,700
Complexe 196	4KEB	1QZ	2,396	1,928
Complexe 197	4KFJ	1R0	4,035	/
Complexe 198	4KM0	CP6	0,343	/
Complexe 199	4KM2	ATR	0,582	/
Complexe 200	4KME	1CY	3,055	0,057

❖ **Annexes 2** : Les résultats du criblage par Surfex des similaires du ligand 2HJ.

	Molécules	Affinité (M-1)
01	Conformer3D_CID_133893757	5,69
02	Conformer3D_CID_134000056	2,72
03	Conformer3D_CID_139390942	4,95
04	Conformer3D_CID_144127235	5,01
05	Conformer3D_CID_133853379	3,82
06	Conformer3D_CID_126417083	4,58
07	Conformer3D_CID_110727274	3,77
08	Conformer3D_CID_110727273	3,69
09	Conformer3D_CID_110634740	4,45
10	Conformer3D_CID_110406314	5,80
11	Conformer3D_CID_109061063	4,28
12	Conformer3D_CID_109060990	5,71
13	Conformer3D_CID_109060989	4,40
14	Conformer3D_CID_109060889	6,30
15	Conformer3D_CID_109060888	3,84
16	Conformer3D_CID_109060883	3,74
17	Conformer3D_CID_109060879	4,15
18	Conformer3D_CID_109060878	4,07
19	Conformer3D_CID_109060877	5,50
20	Conformer3D_CID_109060876	5,49
21	Conformer3D_CID_109060866	4,63
22	Conformer3D_CID_109060857	5,55
23	Conformer3D_CID_109060853	4,57
24	Conformer3D_CID_109060842	3,69
25	Conformer3D_CID_109060707	2,89
26	Conformer3D_CID_109060697	3,27
27	Conformer3D_CID_109060678	5,18

28	Conformer3D_CID_109060668	5,06
29	Conformer3D_CID_100424505	4,76
30	Conformer3D_CID_100424489	4,03
31	Conformer3D_CID_100423209	3,76
32	Conformer3D_CID_100420650	4,86
33	Conformer3D_CID_100420623	4,33
34	Conformer3D_CID_100419071	4,83
35	Conformer3D_CID_100415338	5,09
36	Conformer3D_CID_100415314	4,70
37	Conformer3D_CID_100412834	3,34
38	Conformer3D_CID_100396063	3,73
39	Conformer3D_CID_100393562	3,34
40	Conformer3D_CID_100388435	4,78
41	Conformer3D_CID_100387203	3,86
42	Conformer3D_CID_99960046	3,52
43	Conformer3D_CID_99951450	4,44
44	Conformer3D_CID_99950305	2,76
45	Conformer3D_CID_86958644	2,75
46	Conformer3D_CID_84244533	3,83
47	Conformer3D_CID_78784319	4,31
48	Conformer3D_CID_75396404	4,77
49	Conformer3D_CID_60417734	3,84
50	Conformer3D_CID_60260169	5,69
51	Conformer3D_CID_60260158	6,70
52	Conformer3D_CID_60258889	5,02
53	Conformer3D_CID_60258814	3,64
54	Conformer3D_CID_60258788	4,03
55	Conformer3D_CID_60258780	3,22
56	Conformer3D_CID_60258746	4,62
57	Conformer3D_CID_60258714	4,51
58	Conformer3D_CID_60258679	5,14
59	Conformer3D_CID_60258605	3,98
60	Conformer3D_CID_60258541	2,89
61	Conformer3D_CID_60258536	5,81
62	Conformer3D_CID_60258533	3,12
63	Conformer3D_CID_60258476	3,53
64	Conformer3D_CID_60258474	4,36
65	Conformer3D_CID_60258473	3,95
66	Conformer3D_CID_60258348	4,39
67	Conformer3D_CID_60258342	4,89
68	Conformer3D_CID_56363743	5,78
69	Conformer3D_CID_56363356	6,40
70	Conformer3D_CID_56363230	4,29
71	Conformer3D_CID_56363103	5,16
72	Conformer3D_CID_56363099	6,41
73	Conformer3D_CID_56362977	4,91
74	Conformer3D_CID_56348617	3,61
75	Conformer3D_CID_46520221	5,21

76	Conformer3D_CID_45753728	3,78
77	Conformer3D_CID_45738437	3,38
78	Conformer3D_CID_43921734	3,53
79	Conformer3D_CID_43004612	3,82
80	Conformer3D_CID_43002445	3,17
81	Conformer3D_CID_42957182	3,91
82	Conformer3D_CID_42957176	3,31
83	Conformer3D_CID_42896536	3,96
84	Conformer3D_CID_40607035	4,29
85	Conformer3D_CID_40578486	5,60
86	Conformer3D_CID_40209966	4,33
87	Conformer3D_CID_40209965	4,37
88	Conformer3D_CID_40052711	2,89
89	Conformer3D_CID_40052708	3,31
90	Conformer3D_CID_39431623	4,17
91	Conformer3D_CID_39431617	4,19
92	Conformer3D_CID_38018316	4,40
93	Conformer3D_CID_38012785	5,43
94	Conformer3D_CID_33314267	2,52
95	Conformer3D_CID_32966157	4,59
96	Conformer3D_CID_32209560	5,47
97	Conformer3D_CID_31973424	3,62
98	Conformer3D_CID_31541799	3,56
99	Conformer3D_CID_31399266	3,51
100	Conformer3D_CID_31398878	4,12
101	Conformer3D_CID_30395554	3,74
102	Conformer3D_CID_30384961	3,91
103	Conformer3D_CID_26592473	3,25
104	Conformer3D_CID_26592467	5,06
105	Conformer3D_CID_26592453	4,91
106	Conformer3D_CID_26592419	5,74
107	Conformer3D_CID_26592413	2,60
108	Conformer3D_CID_26592339	4,02
109	Conformer3D_CID_26592338	4,46
110	Conformer3D_CID_26592323	4,23
111	Conformer3D_CID_26592315	5,09
112	Conformer3D_CID_26592249	4,21
113	Conformer3D_CID_26592181	4,50
114	Conformer3D_CID_26592133	3,24
115	Conformer3D_CID_26592103	3,86
116	Conformer3D_CID_26591943	5,13
117	Conformer3D_CID_26591939	3,69
118	Conformer3D_CID_26591849	3,06
119	Conformer3D_CID_26422895	5,99
120	Conformer3D_CID_25383834	5,16
121	Conformer3D_CID_25383831	4,68
122	Conformer3D_CID_25342667	5,33
123	Conformer3D_CID_24672713	4,90

124	Conformer3D_CID_24409329	5,21
125	Conformer3D_CID_19258144	3,75
126	Conformer3D_CID_17647657	2,98
127	Conformer3D_CID_17646593	3,79
128	Conformer3D_CID_17618100	2,81
129	Conformer3D_CID_16311523	4,37
130	Conformer3D_CID_9414581	3,65
131	Conformer3D_CID_6463485	3,43
132	Conformer3D_CID_4107911	5,72
133	Conformer3D_CID_2993264	4,17
134	Conformer3D_CID_2608548	5,91
135	Conformer3D_CID_2353804	4,41
136	Conformer3D_CID_1043737	4,33
137	Conformer3D_CID_56179352	4,42
138	Conformer3D_CID_46522523	4,36
139	Conformer3D_CID_46554597	3,76
140	Conformer3D_CID_46554598	3,50
141	Conformer3D_CID_46554599	4,09
142	Conformer3D_CID_46632540	2,38
143	Conformer3D_CID_46778258	5,27
144	Conformer3D_CID_46798367	4,57
145	Conformer3D_CID_50913133	5,30
146	Conformer3D_CID_55347044	5,49
147	Conformer3D_CID_55348234	5,02
148	Conformer3D_CID_55534967	3,46
149	Conformer3D_CID_56041386	3,26
150	Conformer3D_CID_984333	5,83
151	Conformer3D_CID_984336	2,72
152	Conformer3D_CID_984339	4,60
153	Conformer3D_CID_984359	5,00
154	Conformer3D_CID_1043737	4,33
155	Conformer3D_CID_1043739	4,70
156	Conformer3D_CID_1075627	3,91
157	Conformer3D_CID_1208526	5,58
158	Conformer3D_CID_1210805	4,35
159	Conformer3D_CID_1250324	5,62
160	Conformer3D_CID_1262693	4,74
161	Conformer3D_CID_2221665	4,53
162	Conformer3D_CID_2520240	4,60
163	Conformer3D_CID_2568809	4,02
164	Conformer3D_CID_4796183	4,94
165	Conformer3D_CID_5182054	4,17
166	Conformer3D_CID_6463283	4,95
167	Conformer3D_CID_10344437	3,10
168	Conformer3D_CID_15982902	6,34
169	Conformer3D_CID_15983279	6,29
170	Conformer3D_CID_16390629	3,34
171	Conformer3D_CID_17530594	4,52

172	Conformer3D_CID_17648051	5,24
173	Conformer3D_CID_22170451	4,62
174	Conformer3D_CID_24761977	4,78
175	Conformer3D_CID_24937072	3,63
176	Conformer3D_CID_26592135	2,64
177	Conformer3D_CID_27700485	4,23
178	Conformer3D_CID_39761135	5,76
179	Conformer3D_CID_40132398	5,19
180	Conformer3D_CID_42537956	5,33
181	Conformer3D_CID_43811781	4,08
182	Conformer3D_CID_44416863	5,01
183	Conformer3D_CID_44417074	3,38
184	Conformer3D_CID_48737177	5,00
185	Conformer3D_CID_49850072	6,52
186	Conformer3D_CID_50912856	5,29
187	Conformer3D_CID_50912857	3,64
188	Conformer3D_CID_50912858	3,85
189	Conformer3D_CID_50912859	4,54
190	Conformer3D_CID_50912860	3,81
191	Conformer3D_CID_50912861	5,68
192	Conformer3D_CID_50912990	4,64
193	Conformer3D_CID_50912991	5,45
194	Conformer3D_CID_50912992	4,61
195	Conformer3D_CID_50912994	3,75
196	Conformer3D_CID_50912995	3,72
197	Conformer3D_CID_50913135	4,61
198	Conformer3D_CID_50913136	5,37
199	Conformer3D_CID_50913137	4,20
200	Conformer3D_CID_50913279	3,05
201	Conformer3D_CID_50913284	3,72
202	Conformer3D_CID_50913430	4,88
203	Conformer3D_CID_50913431	6,46
204	Conformer3D_CID_50913432	4,54
205	Conformer3D_CID_50913433	5,34
206	Conformer3D_CID_50913435	4,32
207	Conformer3D_CID_50913581	4,68
208	Conformer3D_CID_50913582	5,19
209	Conformer3D_CID_50913726	5,16
210	Conformer3D_CID_50913727	3,40
211	Conformer3D_CID_50913874	4,64
212	Conformer3D_CID_50913875	4,65
213	Conformer3D_CID_50913877	4,61
214	Conformer3D_CID_50914017	5,58
215	Conformer3D_CID_50914018	5,17
216	Conformer3D_CID_50914162	6,01
217	Conformer3D_CID_50914163	6,30
218	Conformer3D_CID_50914166	5,05
219	Conformer3D_CID_50914321	3,86

220	Conformer3D_CID_50914475	4,35
221	Conformer3D_CID_50914476	5,67
222	Conformer3D_CID_50914609	4,01
223	Conformer3D_CID_50914751	5,52
224	Conformer3D_CID_50914752	6,35
225	Conformer3D_CID_50914753	4,91
226	Conformer3D_CID_50914896	4,89
227	Conformer3D_CID_50914900	4,36
228	Conformer3D_CID_50915034	4,19
229	Conformer3D_CID_50915037	5,50
230	Conformer3D_CID_50915038	4,08
231	Conformer3D_CID_54764921	4,30
232	Conformer3D_CID_58639464	4,48
233	Conformer3D_CID_58639569	5,42
234	Conformer3D_CID_58924028	4,71
235	Conformer3D_CID_58924085	3,84
236	Conformer3D_CID_58924146	4,11
237	Conformer3D_CID_58924174	3,37
238	Conformer3D_CID_58924180	3,50
239	Conformer3D_CID_58924209	4,21
240	Conformer3D_CID_58924228	3,71
241	Conformer3D_CID_58924240	3,80
242	Conformer3D_CID_58924259	3,94
243	Conformer3D_CID_58924286	492
244	Conformer3D_CID_58924295	3,66
245	Conformer3D_CID_58924372	4,31
246	Conformer3D_CID_59053517	5,21
247	Conformer3D_CID_59053518	5,30
248	Conformer3D_CID_59053522	4,75
249	Conformer3D_CID_59053581	4,14
250	Conformer3D_CID_59053582	5,07
251	Conformer3D_CID_59053583	3,77
252	Conformer3D_CID_59053647	3,84
253	Conformer3D_CID_59053707	4,99
254	Conformer3D_CID_59053708	4,20
255	Conformer3D_CID_59053711	5,89
256	Conformer3D_CID_59053775	4,33
257	Conformer3D_CID_59053776	3,76
258	Conformer3D_CID_59053778	4,51
259	Conformer3D_CID_59053779	4,61
260	Conformer3D_CID_59672742	6,83
261	Conformer3D_CID_59672778	4,74
262	Conformer3D_CID_59673518	6,64
263	Conformer3D_CID_66871107	4,24
264	Conformer3D_CID_66888358	5,65
265	Conformer3D_CID_66888624	6,74
266	Conformer3D_CID_66899141	5,80
267	Conformer3D_CID_66900486	2,92

268	Conformer3D_CID_67537199	5,53
269	Conformer3D_CID_69150610	3,78
270	Conformer3D_CID_69163093	4,90
271	Conformer3D_CID_69163641	3,86
272	Conformer3D_CID_70654909	4,64
273	Conformer3D_CID_70654963	4,27
274	Conformer3D_CID_70655216	5,49
275	Conformer3D_CID_70655354	4,63
276	Conformer3D_CID_70655376	4,32
277	Conformer3D_CID_70655410	5,08
278	Conformer3D_CID_70655417	4,04
279	Conformer3D_CID_70655425	4,92
280	Conformer3D_CID_70655449	4,47
281	Conformer3D_CID_70655454	6,15
282	Conformer3D_CID_70655570	3,64
283	Conformer3D_CID_70659874	4,75
284	Conformer3D_CID_70661023	4,94
285	Conformer3D_CID_72131349	3,00
286	Conformer3D_CID_88878238	5,10
287	Conformer3D_CID_91025092	4,42
288	Conformer3D_CID_91057589	5,17
289	Conformer3D_CID_91555532	5,72
290	Conformer3D_CID_91608534	4,11
291	Conformer3D_CID_123257434	5,50
292	Conformer3D_CID_123276140	5,75
293	Conformer3D_CID_123589497	4,44
294	Conformer3D_CID_139811839	4,91
295	Conformer3D_CID_141169124	3,62
296	Conformer3D_CID_141626181	4,77
297	Conformer3D_CID_143428103	3,68
298	Conformer3D_CID_143874528	3,17
299	Conformer3D_CID_144127240	5,63

Année universitaire : 2019/2020.

**Présenté par : BOULFELFEL SANDRA
DJAGHROUD BATOUL**

Thème : Recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la Nicotinamide Phosphoribosyltransférase pour le traitement du cancer colorectal

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en **Biochimie Appliquée**

Résumé

Le docking moléculaire est devenu un élément commun important de la boîte à outils de découverte de médicaments. Il est utilisé pour prédire comment une protéine (enzyme) interagit avec de petites molécules (ligands) afin d'améliorer ou d'inhiber sa fonction biologique. Nous avons utilisé cette technique, réalisée par l'intermédiaire du programme Surflex, pour le développement de nouveaux inhibiteurs de la NAMPT : une nouvelle cible thérapeutique pour le traitement du cancer colorectal. Avec un taux de 82% de valeurs de RMSD inférieures à 2 Å et un coefficient de corrélation de -0.74, les performances du programme Surflex sont avérées. Un criblage virtuel de 302 similaires de notre ligand de référence 2HJ ($4,81 \text{ M}^{-1}$), téléchargés de la Pubchem, nous a permis de sélectionner les 5 meilleurs composés avec des affinités supérieures à 6 M^{-1} . Ensuite le docking moléculaire d'une collection de 65 composés issus de la mono-substitution et 52 issus de la bi-substitution a fait ressortir les composés 33, 51, 67 et 74 avec des affinités respectives de $8,79 \text{ M}^{-1}$; $8,68 \text{ M}^{-1}$; $10,78 \text{ M}^{-1}$; $9,64 \text{ M}^{-1}$ largement supérieures à celle du meilleur similaire ($6,83 \text{ M}^{-1}$). Enfin l'évaluation des différentes propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques nous a permis de proposer les composés 33, 51 et 67 comme de nouveaux inhibiteurs potentiellement puissants envers la NAMPT.

Mots clés : NAMPT, Cancer colorectal, Surflex, Docking moléculaire, Inhibiteur.

Laboratoire de recherche : Biochimie Appliquée

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr. BENSEGUENI A

Pr. Université des Frères Mentouri Constantine1

Rapporteur : Mr. CHIKHI A

Pr. Université des Frères Mentouri Constantine1

Examinatrice : Mme. TENIOU S

M.A. A. Université des Frères Mentouri Constantine1

Date de soutenance : 13/09/2020.