



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

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : de Biochimie et Biologie
Cellulaire et Moléculaire

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

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

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs naturels de l'enzyme de
conversion de l'angiotensine pour le traitement de l'hypertension
artérielle**

Présenté par : SOUILAH Meroua Nihad

Le : 11/06/2024

BOUCHENOUNE Dounia

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Mme GUENDOUZE Assia (MCB- Université Constantine 1-Frères Mentouri).

Encadrant : Mr MOKRANI El Hassen (MCA - Université Constantine 1-Frères Mentouri).

Examinatrice : Mme DEMMAK Rym Gouta (MCA - Université Constantine 3-Salah Boubnider).

Année universitaire

2023 - 2024

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah qui nous a donné la volonté, le courage et la patience.

*Nous voudrions tout d'abord remercier très sincèrement notre encadrant **Mr. MOKRANI E.H**, Maitre de Conférences A à l'Université Constantine 1-Frères Mentouri.*

Merci pour votre encadrement, disponibilité, orientation et surtout vos conseils précieux. Merci de nous avoir donné la possibilité de réaliser ce travail.

*Nos remerciements très chaleureusement à **Mme GUENDOUZE A**, Maitre de conférences B à l'Université Constantine 1-Frères Mentouri, pour le grand honneur de présider le jury de notre mémoire.*

*Nos vifs remerciements vont aussi à **Mme DEMMAK R.G**, Maitre de Conférences A à L'Université Constantine 3-Salah Boubnider pour l'honneur d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

En fin nous voulons remercier tous nos enseignants présents au cours de notre parcours éducatif et surtout de la biochimie appliquée pour leurs efforts fournis. Merci à chaque enseignant qui travaille sérieusement et qui à participer dans le développement et l'amélioration de nos niveaux.

Merci énormément.

Dédicaces

J'aimerais en premier lieu remercier Allah qui m'a donné la volonté et le courage pour la réalisation de ce travail que je le dédie aux personnes qui comptent dans ma vie.

*Mon très cher **Père**, Ma réussite a été et resterait toujours ton souci permanent, papa. Tes conseils et tes prières m'ont toujours accompagné. Je ne trouverai jamais assez de mots pour t'exprimer tout mon Amour, ma reconnaissance et ma profonde gratitude pour les sacrifices consentis. Que Dieu le tout-puissant t'accorde santé, bonheur et une longue vie afin que les efforts que tu as consentis pour ma réussite te soient récompensés.*

*Ma très chère **Maman**, source de ma vie, d'amour et de tendresse Je ne pourrai jamais au plus grand jamais oublier tout ce que tu as fait pour moi. Tu t'es toujours préoccupée de mon avenir, tant de sacrifices, tant d'affections, un engagement sans retenu, un amour sans pareil. Je ne pourrai jamais te remercier assez, que ce modeste travail soit un prélude de l'immense bonheur que je compte te procurer. J'implore Dieu le tout puissant t'accorder meilleure santé et longue vie.*

*Mes très chères petites sœurs **Achouak** et **Malak**, leur compréhension, leur grande tendresse, et leur amour, Merci d'avoir toujours soutenu et merci pour tous les bons moments passé ensemble, et ce n'est pas fini.*

À toute ma famille, pour leurs encouragements, leur amour, leur aide.

*À mon cher binôme **Dounia**, avec laquelle j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler, et qui a partagé avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail. On a vécu cette aventure ensemble. On est devenu plus patient et on a appris que tout est possible quand on a la bonne volonté.*

*Mes adorables amies : **Safa**, **Maroua**, **Djihen**, **Lina** en souvenir de notre sincère amitié et des moments agréables et inoubliables que nous avons passé ensemble.*

Ainsi à tous les autres que j'ai oublié de les mentionner ici et qui me sont chers.

MEROUA-NIHAD

Dédicaces

J'aimerais en premier lieu remercier Allah qui m'a donné la volonté et le courage pour la réalisation de ce travail que je le dédie aux personnes qui comptent dans ma vie.

***Mes chers parents :** Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera pour toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.*

À toute ma famille, pour leurs encouragements, leur amour, leur aide, et leurs conseils, qu'ils trouvent ici l'expression de ma haute gratitude.

*À mes petites anges **Hanine et Takoua** mes sources de l'amour Ton innocence est la source de mon bonheur.*

*À mon chère binôme **Maroua Nihad**, avec laquelle j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler, et qui a partagé avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail. On a vécu cette aventure ensemble. On est devenu plus patient et on a appris que tout est possible quand on a la bonne volonté.*

*Mes adorables amies : **Chiraz, Racha, Achwak, Serin, Lyna**, en souvenir de notre sincère amitié et des moments agréables et inoubliables que nous avons passé ensemble.*

Dounia

Table des matières

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

Partie Bibliographique

Chapitre 1 : L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE (HTA)

1. Généralités	3
2. Epidémiologie de l'hypertension artérielle.....	4
3. Facteurs de risque	5
4. Complications de l'HTA	5
5. Traitements de l'HTA	6
5.1. Mesures hygiéno-diététiques.....	6
5.2. Traitements médicamenteux de l'HTA	6
5.2.1. Les bêtabloquants.....	6
5.2.2. Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine-2 (ARA-II).....	7
5.2.3. Les inhibiteurs calciques (ICa).....	8
5.2.4. Les diurétiques.....	8
5.2.5. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)	9

Chapitre 2 : L'ENZYME DE CONVERSION DE L'ANGIOTENSINE 1(ECA)

1. L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA I)	10
2. Structure de l'ECA.....	10
3. Site actif de l'ECA	11
4. Mécanisme physiopathologique	12

Chapitre 03 : DOCKING MOLÉCULAIRE

1. Introduction	13
2. Principe du docking moléculaire.....	13
3. Historique du docking moléculaire.....	13
4. Reconnaissance moléculaire Protéine-Ligand	14
5. Outils du docking moléculaire.....	14
5.1. Le Récepteur	14
5.2. Le ligand	15
6. Programme de docking moléculaire	16

Partie pratique

Chapitre 4 : MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel	18
1.1. Ordinateurs et logiciels	18
1.1.1 Ordinateurs	18
1.1.2 Logiciels	18
1.2 Banques de données	20
1.2.1 Protein Data Bank (PDB)	20
1.2.2 African Natural Products Database (ANPDB)	22
1.2.3 PubChem	22
1.3 Serveurs	22
1.3.1 SuissADME	22
2. Méthodes	22
2.1 Tests de fiabilité du programme de docking	22
2.1.1 Test RMSD	22
2.1.2 Analyse visuelle	24
2.2 Choix de la cible	24
2.3 Préparation des ligands	25
2.4 Génération du protomol	25
2.5 Docking moléculaire	24
2.6 Recherche de nouveaux inhibiteurs de l'ECA	24
2.7 Analyse visuelle de l'interaction	24
2.8 Propriétés ADME	24
2.8.1 Propriétés physico-chimiques	28
2.8.2 Propriétés pharmacocinétiques	29

Chapitre 5 : RÉSULTAT ET DISCUSSION

1. Test de fiabilité du programme Surflex	28
1.1 RMSD	28
1.2 Analyse visuelle	29
2. Etude des interactions du Enalapril- ECA	30
3. Recherche de nouveaux inhibiteurs naturels de l'ECA par criblage virtuel	32
4. Mode d'interaction des meilleurs inhibiteurs de l'ECA	33
4.1 Composé S697	33
4.2 Composé S451	34
4.3 Composé S1251	36
5. Filtrage ADME	37

5.1. Propriétés physicochimiques	37
5.2. Propriétés pharmacocinétiques.....	39
Conclusion et Perspectives	40
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 01. Caractéristiques des ordinateurs utilisés.....	18
Tableau 02. Code PDB des complexes ECA-Inhibiteur avec leurs caractéristiques.....	23
Tableau 03. Classement, nom et affinité des 3 meilleurs inhibiteurs de l'ECA issus du criblage virtuel.	32
Tableau 04. Propriétés physicochimiques de l'énalapril ainsi que des composés S697, S451, S1251	37
Tableau 05. Les propriétés pharmacocinétiques de l'énalapril ainsi que des composés S697, S451, S1251.	39

Liste des figures

Figure 01. Pression artérielle diastolique et systolique	3
Figure 02. Structure de l'Acébutolol.	7
Figure 03. Structure de la losartan.	7
Figure 04. Structure de l'amlodipine.	8
Figure 05. Structure de l'hydrochlorothiazide.	8
Figure 06. Structure de l'énalapril.	9
Figure 07. Structure 3D de l'Enzyme de Conversion de l'angiotensine Humaine.	10
Figure 08. Structure schématique de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA).....	11
Figure 09. Structure du site actif de l'enzyme de conversion de l'angiotensine1 (ECA).	11
Figure 10. Système rénine angiotensine	12
Figure 11. Principe du docking.....	13
Figure 12. Les statistiques du pdb : la croissance globale des structures libérées par année.	15
Figure 13. Fréquence de citation des programmes de docking.....	16
Figure 14. Interface graphique du BIOVIA Discovery Studio.	19
Figure 15. Interface graphique d'Open Babel.	19
Figure 16. Page d'accueil de la Protein Data Bank (PDB).	20
Figure 17. Page d'accueil de la PubChem.	22
Figure 18. Serveur SwissADME.	22
Figure 19. Résultats du test RMSD en pourcentage (%) obtenus par Surflex.....	28
Figure 20. Superposition de la pose de référence du ligand CEL du complexe 3KK6 (rouge) et la pose simulée par Surflex (bleu).	29
Figure 21. Superposition de la pose de référence du ligand S58 du complexe 1CX2 (rouge) et la pose simulée par Surflex (bleu).	30
Figure 22. Diagramme des interactions de l'énalapril avec site actif de l'ECA.....	31
Figure 23. Représentation 3D du positionnement du l'énalapril au sein du site actif de l'ECA.	31
Figure 24. Diagramme des interactions du composé S697 avec site actif de l'ECA.....	33
Figure 25. Représentation 3D du positionnement du composé S697 au sein du site actif de l'ECA. ...	34
Figure 26. Diagramme des interactions du composé S451 avec site actif de l'ECA.....	35
Figure 27. Représentation 3D du positionnement du composé S451 au sein du site actif de l'ECA. ...	35
Figure 28. Diagramme des interactions du composé S1251 avec site actif de l'ECA.....	36
Figure 29. Représentation 3D du positionnement du composé S1251 au sein du site actif de l'ECA.	37

Liste des abréviations

- **3D** : Tridimensionnelles.
- **Å** : Angstrom.
- **ACE** : Angiotensin-converting enzyme.
- **ADME** : Absorption Distribution Metabolisme Excretion.
- **ANPDB**: African Natural Products Database.
- **ARA-II** : Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine-2.
- **AVC** : Accidents vasculaires cérébraux.
- **BBB** : Blood Brain Barrier.
- **CYP**: Cytochrome P450.
- **Da**: Dalton.
- **EANPDB**: Eastern Africa Natural Products Database.
- **ECA** : L'enzyme de conversion de l'angiotensine.
- **GI** : Gastro-intestinale.
- **HTA** : L'hypertension artérielle.
- **ICa** : Les inhibiteurs calciques.
- **IECA** : Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.
- **LogP** : Coefficient de partition octanol/ eau.
- **MmHg** : Millimètres de mercure.
- **NANPDB**: Northern African Natural Products Database.
- **NCBI** : National Center for Biotechnology Information.
- **nLF** : Nombre de liaisons flexibles.
- **nOHNH** : Nombre de donneurs d'hydrogène.
- **nON** : Nombre d'accepteur d'hydrogène.
- **NP**: Natural product.
- **OMS** : Organisation mondiale de la Santé.
- **PDB**: Protein Data Bank.
- **PM** : Poids moléculaire.
- **PSA** : L'aire de surface polaire.
- **RMN** : Résonance magnétique nucléaire.
- **RMSD** : Root Mean Square Deviation.

- **SDF-GZ** : Structure Data File- GZip.
- **TPSA** : Surface polaire totale.
- **Zn-OH**: Zinc hydroxide.



INTRODUCTION GÉNÉRALE



L'hypertension artérielle (HTA) est une condition médicale caractérisée par une pression sanguine anormalement élevée dans les artères [1]. Souvent surnommée le "tueur silencieux", elle peut évoluer sans symptômes apparents pendant de nombreuses années, augmentant ainsi le risque de développer des maladies cardiovasculaires graves, telles que les crises cardiaques et les accidents vasculaires cérébraux [2].

Un des mécanismes biologiques essentiels dans la régulation de la pression artérielle implique l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA). Cette enzyme hydrolyse l'angiotensine I en angiotensine II, un puissant vasoconstricteur, et dégrade la bradykinine, une substance vasodilatatrice [1]. Ainsi, l'inhibition de l'ECA constitue une stratégie thérapeutique de choix pour traiter l'HTA [2].

L'énalapril est l'inhibiteur de l'ECA le plus utilisé pour traiter l'HTA. Depuis son introduction sur le marché, ce médicament a démontré une efficacité clinique significative, faisant de lui un choix de premier plan parmi les inhibiteurs de l'ECA [3]. Malgré son efficacité pour réduire la pression artérielle, l'énalapril a des limites et peut provoquer divers effets secondaires, tels que la réduction de la fonction rénale, la toux sèche, les interactions médicamenteuses, les éruptions cutanées, et diverses réactions allergiques [4]. Ces limitations mettent en évidence la nécessité de développer des inhibiteurs naturels de l'ECA, qui pourraient offrir des alternatives plus sûres et mieux tolérées, avec moins d'effets secondaires et d'interactions médicamenteuses.

L'objectif essentiel de ce travail est de développer de nouveaux inhibiteurs naturels de l'ECA par criblage virtuel de la chimiothèque EANPDB. Cette base de données contient 1871 composés naturels issus de 302 espèces d'Afrique de l'Est, offrant une vaste diversité chimique propice à la découverte de molécules bioactives [5]. Pour mener à bien cette recherche, nous avons utilisé le programme Surflex-Dock, un outil puissant et sophistiqué pour le docking moléculaire. Ce logiciel permet de modéliser et de prédire l'affinité des composés naturels avec l'ECA, facilitant ainsi l'identification de potentiels inhibiteurs efficaces.

Au préalable, la performance du programme de docking moléculaire Surflex a été évaluée en calculant l'écart quadratique moyen ou RMSD de 100 complexes protéine-ligand tirés de manière arbitraire via la PDB. Ce test a été conforté par une analyse visuelle afin d'avoir un aperçu sur les valeurs numériques du RMSD en visualisant la superposition des modèles des ligands théoriques et expérimentaux. Par la suite, nous avons mené un criblage virtuel de 1871 composés de la chimiothèque précitée afin de révéler les composés potentiellement actifs à l'égard de l'ECA. Ces composés ont fait l'objet par la suite d'une étude prédictive portant sur

leurs propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques afin de vérifier leur profil ADME.

Globalement, notre étude est divisée en deux grandes parties distinctes :

La partie bibliographique, qui comprend trois chapitres :

Le premier chapitre : une étude bibliographique sur l'hypertension artérielle (HTA).

Deuxième chapitre : un aperçu sur la cible « ECA ».

Troisième chapitre : une description du docking moléculaire et de ses logiciels.

La partie pratique, qui comprend deux chapitres :

Matériel et méthodes : regroupe le matériel et les méthodes utilisés dans ce travail.

Résultats et discussion : présente les résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin, ce travail sera conclu par une conclusion générale.



PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE





Chapitre 1 : L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE (HTA)



1. Généralités

L'hypertension artérielle (HTA) est une pathologie dans laquelle la force exercée par le sang contre les parois des artères reste élevée sur une période prolongée. Cette force excessive peut entraîner des dommages aux vaisseaux sanguins, au cœur, et à d'autres organes, augmentant le risque de maladies cardiaques, d'accidents vasculaires cérébraux, et d'autres problèmes de santé [6]. Elle est souvent qualifiée de "tueur silencieux" car elle peut se développer sans symptômes évidents pendant de nombreuses années [7]. La pression artérielle est mesurée en millimètres de mercure (mmHg) et est exprimée par deux nombres, par exemple, 120/80 mmHg.

La **pression systolique** est le chiffre supérieur dans la mesure de la pression artérielle. Elle représente la pression dans les artères lorsque le cœur se contracte ou bat, poussant le sang dans les artères. Une pression systolique élevée indique que le cœur doit travailler plus fort que la normale pour pomper le sang à travers le corps. L'hypertension systolique est définie par une pression systolique supérieure ou égale à 130 mmHg [7].

La **pression diastolique** est le chiffre inférieur dans la mesure de la pression artérielle. Elle indique la pression dans les artères lorsque le cœur est au repos entre les battements, se remplissant de sang. Une pression diastolique élevée suggère que les artères restent plus rigides ou résistantes que la normale même lorsque le cœur est au repos. L'hypertension diastolique est caractérisée par une pression diastolique supérieure ou égale à 80 mmHg [6].

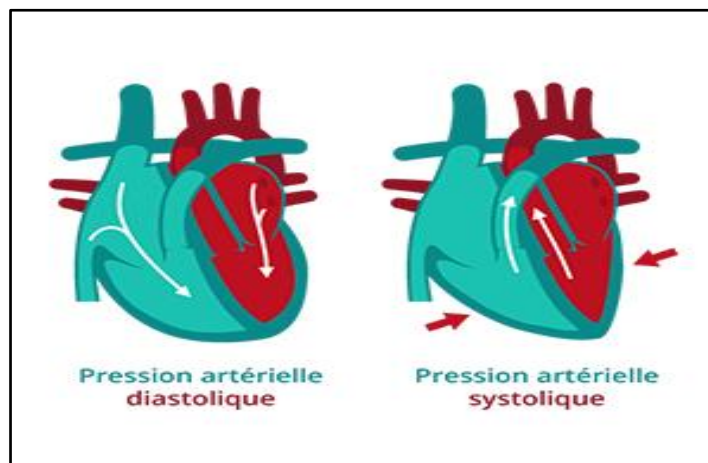


Figure 01.Pression artérielle diastolique et systolique [6].

2. Epidémiologie de l'hypertension artérielle

L'augmentation des cas d'hypertension artérielle à travers le monde représente une préoccupation majeure pour la santé publique, étant donné ses implications graves sur la morbidité et la mortalité globales. Actuellement, on estime que 1,28 milliard de personnes âgées de 30 à 79 ans sont affectées par cette pathologie, avec une concentration alarmante (les deux tiers) dans des pays à revenu faible ou intermédiaire. Malheureusement, près de la moitié (46 %) des adultes souffrant d'hypertension ne sont pas conscients de leur état, ce qui complique les efforts de prévention et de traitement. Plus inquiétant encore, seulement un adulte hypertendu sur cinq (21 %) parvient à maîtriser efficacement sa pression artérielle, soulignant un défi majeur dans la gestion de l'hypertension à l'échelle mondiale. Ce manque de contrôle contribue à faire de l'hypertension l'une des principales causes de décès prématuré à travers le monde. Ces statistiques mettent en lumière l'urgence d'intensifier la sensibilisation, le diagnostic, et le traitement de l'hypertension pour inverser cette tendance préoccupante et réduire son impact dévastateur sur la santé globale [8].

En Afrique subsaharienne, les chiffres relatifs à la prévalence de l'HTA soulignent une réalité préoccupante. En effet, des études récentes menées par l'OMS indiquent que 16,2 % de la population, soit 74,7 millions de personnes sont affectée [9]. Encore plus inquiétant, seulement moins de 20 % des personnes hypertendues en Afrique reçoivent un traitement adéquat, et une fraction encore plus petite parvient à contrôler efficacement leur pression artérielle. Ces chiffres mettent en évidence la nécessité urgente d'améliorer les stratégies de prévention, de dépistage précoce et de prise en charge de l'hypertension sur le continent pour réduire son fardeau et prévenir les complications graves associées [10].

La prévalence de l'hypertension artérielle en Algérie est un sujet d'inquiétude croissante. En effet, il s'agit de la maladie chronique la plus répandue avec une prévalence de 23,6% au sein de la population générale, et atteignait près de 67% chez les adultes de plus de 60 ans. Encore plus inquiétant, environ 35% des Algériens âgés de plus de 20 ans souffrent d'hypertension. Un aspect particulièrement alarmant puisque plus de 50% des personnes atteintes ne sont pas conscientes de leur condition, principalement en raison de l'absence de symptômes évidents [11]. Ces données soulignent la nécessité d'une sensibilisation et d'une action accrues pour lutter contre l'hypertension artérielle en Algérie, en mettant l'accent sur l'importance de la prévention, du dépistage précoce et du traitement adéquat pour réduire le fardeau de cette condition et améliorer la santé publique. La prévalence alarmante de l'hypertension artérielle en Algérie,

reflétée par les statistiques inquiétantes citées plus haut, constitue la principale motivation derrière notre décision de consacrer notre mémoire de master à l'étude de cette maladie.

3. Facteurs de risque

Les facteurs de risque de l'hypertension artérielle (HTA) englobent une combinaison de variables modifiables et non modifiables qui contribuent à augmenter la probabilité de développer cette condition. Parmi les facteurs non modifiables, l'âge, l'hérédité et les antécédents familiaux d'HTA jouent un rôle significatif; à mesure que les individus vieillissent, leur risque d'hypertension augmente, et ceux ayant des proches parents hypertendus sont plus susceptibles d'en souffrir eux-mêmes [12,13]. Sur le plan des facteurs modifiables, une alimentation riche en sel, un faible apport en fruits et légumes, une consommation excessive d'alcool, le tabagisme, et un mode de vie sédentaire figurent parmi les principaux éléments de risque. L'obésité et le surpoids sont également des facteurs déterminants, augmentant la résistance à l'insuline et la pression sur les artères. Le stress chronique et certaines conditions médicales, telles que le diabète et l'insuffisance rénale, peuvent également favoriser l'apparition de l'HTA. La prévention et la gestion de ces facteurs de risque par des changements de mode de vie et, lorsque nécessaire, un traitement médical, sont essentielles pour contrôler l'hypertension et réduire le risque de complications graves associées [14].

4. Complications de l'HTA

L'éventail des complications découlant de l'HTA est large, mettant en péril le bon fonctionnement de nombreux organes essentiels. En effet, une HTA non contrôlée peut provoquer des atteintes significatives au niveau du système cardiovasculaire, se traduisant par l'apparition de pathologies telles que les maladies des artères coronaires, les infarctus du myocarde et l'insuffisance cardiaque [15,16]. Elle constitue aussi un facteur de risque prépondérant pour les accidents vasculaires cérébraux (AVC), résultant de l'impact de la pression artérielle élevée sur les vaisseaux sanguins cérébraux [16]. De plus, l'hypertension est capable d'induire des dommages rénaux qui peuvent évoluer vers une insuffisance rénale chronique, ainsi que de compromettre la santé oculaire par la détérioration des vaisseaux sanguins rétiniens [17]. La persistance d'une hypertension peut également accélérer le processus d'athérosclérose, caractérisé par le durcissement et le rétrécissement des artères, élevant d'autant le risque de complications cardiovasculaires diverses [16]. La prévention ou la réduction de ces complications passe inévitablement par une identification précoce de l'HTA, un

accompagnement médical continu, et une approche thérapeutique intégrée, englobant à la fois les changements de style de vie et, le cas échéant, un traitement médicamenteux.

5. Traitements de l'HTA

Le traitement de l'HTA vise à diminuer la pression artérielle à des niveaux qui minimisent le risque de complications graves telles que les accidents vasculaires cérébraux (AVC), l'insuffisance cardiaque, et l'insuffisance rénale.

5.1. Mesures hygiéno-diététiques

La première action de prise en charge ne passe pas systématiquement par la prescription de médicaments antihypertenseurs, mais par des mesures visant à améliorer l'hygiène de vie en luttant contre les facteurs comportementaux favorisant l'HTA. Les Mesures hygiéno-diététiques constituent la première ligne de défense contre l'HTA et incluent plusieurs recommandations citons à titre d'exemple :

- ✓ La perte et la stabilisation de poids en cas de surcharge pondérale.
- ✓ La pratique d'une activité physique régulière adaptée à l'état de santé.
- ✓ La réduction de la consommation excessive en sel (moins de 5 g/jour).
- ✓ La réduction de la consommation excessive d'alcool (moins de 2 verres par jour).
- ✓ Une alimentation riche en légumes et en fruits et pauvre en graisses d'origine animale.
- ✓ L'arrêt du tabac [18].

5.2. Traitements médicamenteux de l'HTA

Le traitement pharmacologique de l'HTA est indiqué en parallèle avec les mesures hygiéno-diététiques et les modifications de style de vie. Cinq classes d'antihypertenseurs sont préconisées en première intention [19] :

5.2.1. Les bêtabloquants

Les bêtabloquants sont des antihypertenseurs qui bloquent les récepteurs bêta-adrénergiques du cœur et des vaisseaux sanguins. Cette action réduit la fréquence cardiaque, diminue la force de contraction cardiaque et élargit les vaisseaux sanguins, ce qui contribue à abaisser la pression artérielle et à améliorer le flux sanguin. L'Acébutolol (figure 02) est l'un des médicaments faisant partie de cette classe [18].

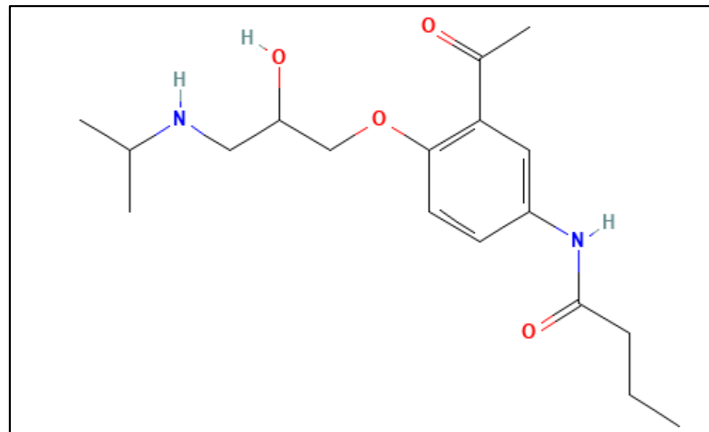


Figure 02. Structure de l'Acébutolol.

5.2.2. Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine-2 (ARA-II)

Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine-2 (ARA-II) agissent en bloquant l'action de l'angiotensine II. Ce dernier est une hormone qui provoque le rétrécissement (contraction) des vaisseaux sanguins, ce qui peut augmenter la pression artérielle. En bloquant les effets de cette hormone, les ARA-II entraînent un relâchement des vaisseaux sanguins réduisant ainsi la pression artérielle et améliore le flux sanguin. La losartan (figure 03) est le principal médicament faisant partie de cette classe [20].

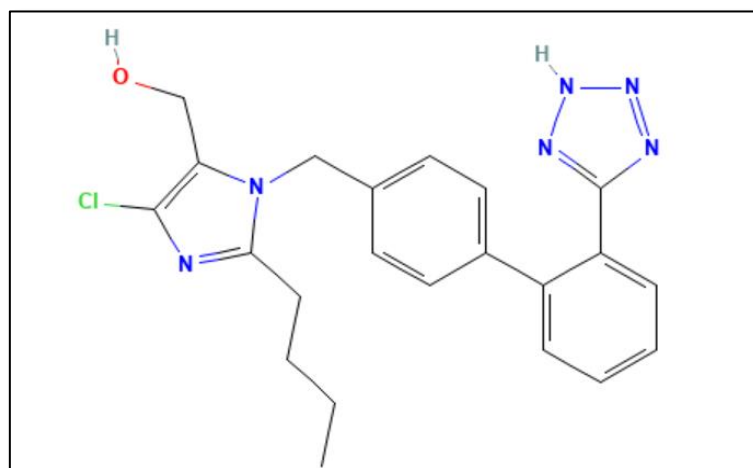


Figure 03. Structure de la losartan.

5.2.3. Les inhibiteurs calciques (ICa)

Les inhibiteurs calciques fonctionnent en empêchant l'entrée de calcium dans les cellules du muscle cardiaque et des parois des vaisseaux sanguins à travers les canaux ioniques spécifiques. Ce processus réduit la force de contraction du cœur et dilate les vaisseaux sanguins, entraînant une diminution de la pression artérielle. Les médicaments de cette classe, dont l'amlodipine (figure 04) , sont largement utiles chez les patients qui ne tolèrent pas d'autres types de médicaments antihypertenseurs [15].

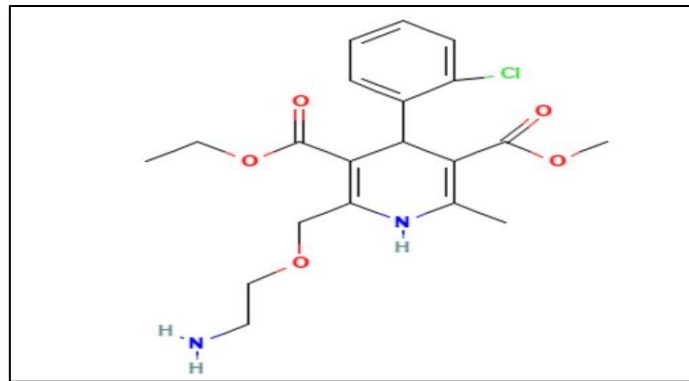


Figure 04. Structure de l'amlodipine.

5.2.4. Les diurétiques

Les diurétiques sont des médicaments utilisés pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque, l'œdème. Ils aident à réduire la pression artérielle en diminuant la charge de liquide circulant dans les vaisseaux sanguins, ce qui permet de soulager la pression sur le cœur et d'améliorer la circulation sanguine. L'hydrochlorothiazide (figure 05) est le diurétique le plus prescrit de cette classe [21].

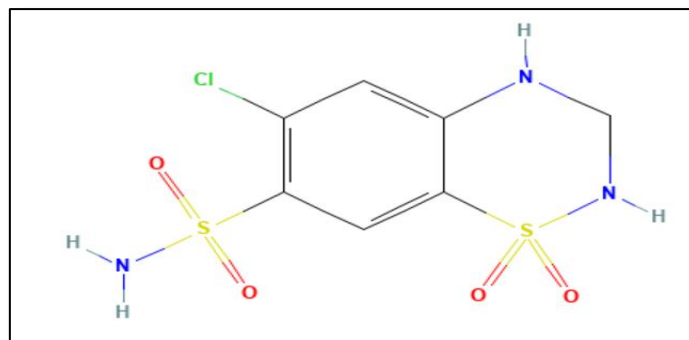


Figure 05. Structure de l'hydrochlorothiazide.



Chapitre 2 : L'ENZYME DE CONVERSION DE L'ANGIOTENSINE 1(ECA)



1. L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA I)

L'enzyme de conversion de l'angiotensine I (EC 3.4.15.1), également connue sous les noms de kininase II et dipeptidyl carboxypeptidase est une glycoprotéine exopeptidase membranaire présente dans tout l'organisme. Elle joue un rôle crucial en convertissant l'angiotensine I en angiotensine II qui provoque le rétrécissement (contraction) des vaisseaux sanguins, ce qui peut augmenter la pression artérielle. En outre, l'ECA est impliquée dans la dégradation séquentielle de la bradykinine, une molécule vasodilatatrice et pro-inflammatoire. L'ECA codée par le gène *ACE* est situé sur le chromosome 17q23 et contient 26 exons et 25 introns [23,24].

2. Structure de l'ECA

L'ECA est composée d'une seule grande chaîne polypeptidique de 1306 acides aminés, avec un poids moléculaire de 149 715 Da [25]. L'étude de la séquence de l'ECA membranaire met en évidence une structure protéique comportant quatre domaines distincts : un court domaine intracellulaire carboxyterminal de 24 acides aminés ; un domaine transmembranaire hydrophobe de 20 acides aminés servant d'ancrage de la protéine dans la membrane cellulaire ; deux domaines extracellulaires montés en séries, ayant entre eux une forte homologie (60%) et possédant chacun un site actif pouvant lier le zinc. Il est à noter, par ailleurs, qu'une seule molécule d'inhibiteur se lie à chaque molécule d'ECA, ce qui fait probablement qu'un seul de ces deux sites soit réellement actif *in vivo* (figure 07 et 08) [26].

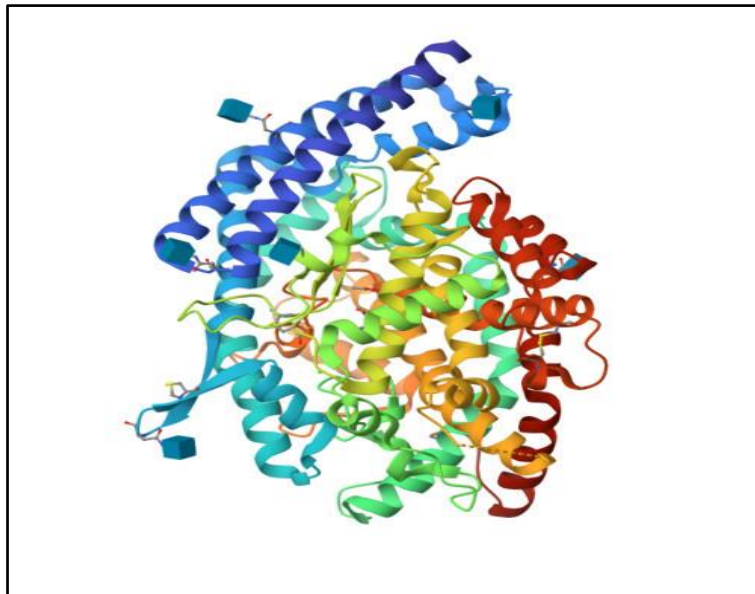


Figure 07. Structure 3D de l'Enzyme de Conversion de l'angiotensine Humaine.

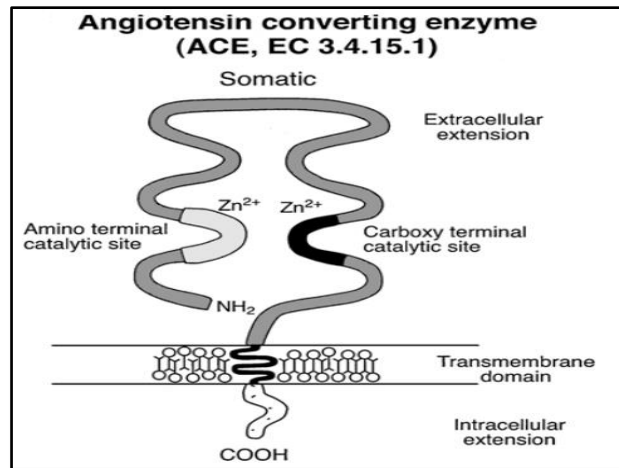


Figure 08. Structure schématique de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)[27].

3. Site actif de l'ECA

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) catalyse la conversion de l'angiotensine I (une hormone inactive) en angiotensine II (une hormone active vasoconstrictrice) en clivant un dipeptide de l'extrémité C-terminale de l'angiotensine I (Figure 9). Cette enzyme est une métalloprotéinase au zinc, où l'ion zinc lui-même est un composant essentiel de son site actif, facilitant la réaction d'hydrolyse qui clive l'angiotensine I en angiotensine II. Bien que l'ACE ne possède pas une triade catalytique typique comme certains autres enzymes, certains acides aminés jouent un rôle essentiel dans son mécanisme d'action. En effet, le résidu **Glu384** agit comme une base générale, déprotonant une molécule d'eau liée au zinc, formant un centre Zn-OH nucléophile. Cela permet à l'ion ammonium résultant de servir d'acide général pour cliver la liaison C-N du substrat. De même, le résidu **His383** situé à proximité de l'ion zinc, joue également un rôle crucial dans la coordination de cet ion (figure 09) [28].

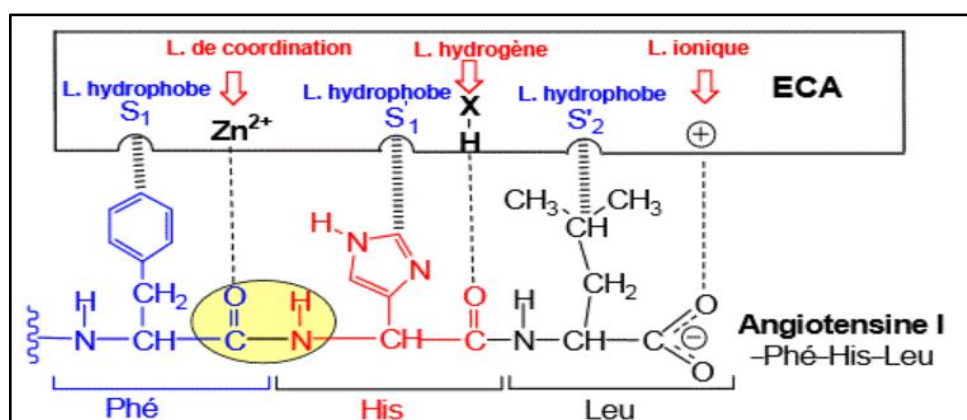


Figure 09. Structure du site actif de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (ECA) [29].

4. Mécanisme physiopathologique

L'ECA joue un rôle majeur dans le système de la rénine à l'angiotensine qui régule la pression artérielle et la rétention de sodium par les reins en convertissant l'angiotensine I en angiotensine II [30]. Tout d'abord, l'angiotensine II exerce une action directe et immédiate sur les cellules musculaires lisses de la paroi artérielle. Cette hormone induit en effet une vasoconstriction directe des vaisseaux (l'angiotensine II est un des plus puissants vasoconstricteurs connus). Cette vasoconstriction entraîne une augmentation des résistances périphériques et donc une augmentation de la pression artérielle. La deuxième voie par laquelle l'angiotensine II augmente la pression artérielle est son action sur la physiologie rénale il induit la rétention d'eau et de sodium au niveau rénal par deux mécanismes : une action directe sur le rein et une augmentation de la sécrétion d'aldostérone. Toutes ces actions combinées diminuent fortement la production d'urine et ont pour conséquence une augmentation de la volémie et donc de la pression artérielle (figure 10) [31].

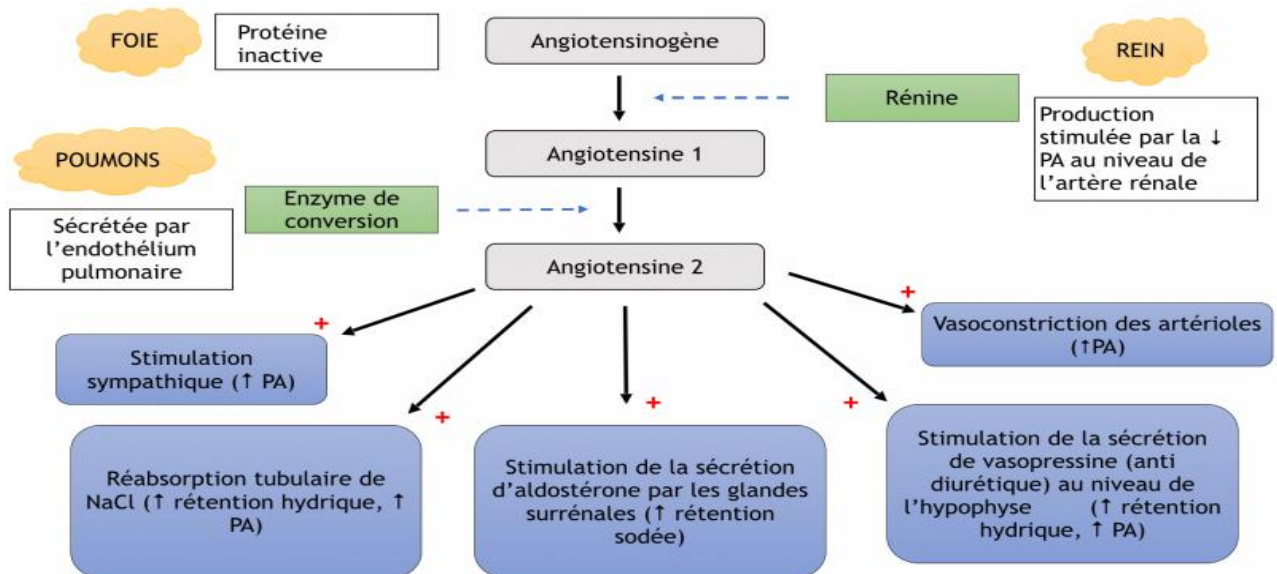


Figure 10. Système rénine angiotensine[32].

L'ECA est également capable d'inactiver la bradykinine, un vasodilatateur puissant, et donc d'améliorer la réponse de la pression artérielle [30]. Afin de réguler l'élévation de la pression artérielle chez les patients hypertendus, les médecins font habituellement appel aux inhibiteurs de l'ECA qui réduisent la formation d'angiotensine II tout en inhibant la dégradation de la bradykinine ce qui entraîne une vasodilatation et donc une baisse de la pression artérielle [33].



Chapitre 03 : DOCKING MOLÉCULAIRE



1. Introduction

L'amarrage moléculaire, ou docking, constitue un pilier crucial dans le domaine du développement de médicaments assisté par ordinateur. Il consiste à simuler *in silico* le mode d'interaction le plus favorable d'un ligand au sein de sa cible biologique qui est le plus souvent une protéine. Cette approche présente l'avantage d'être plus simple, économique et rapide par rapport aux méthodes expérimentales *in vitro*. Elle s'avère particulièrement efficace pour filtrer une vaste bibliothèque chimique, ne retenant ainsi que les composés ayant un potentiel thérapeutique significatif. Cela permet de prédire l'impact biologique d'un large éventail de molécules dans un délai raisonnable et de restreindre ultérieurement le nombre de molécules à synthétiser ou à évaluer expérimentalement sur une cible spécifique [34,35].

2. Principe du docking moléculaire

Le Docking moléculaire s'accomplit en deux étapes complémentaires. La première étape appelée « **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. La deuxième étape dite « **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 aidera à sélectionner la meilleure position parmi toutes celles proposé (figure 11) [36].

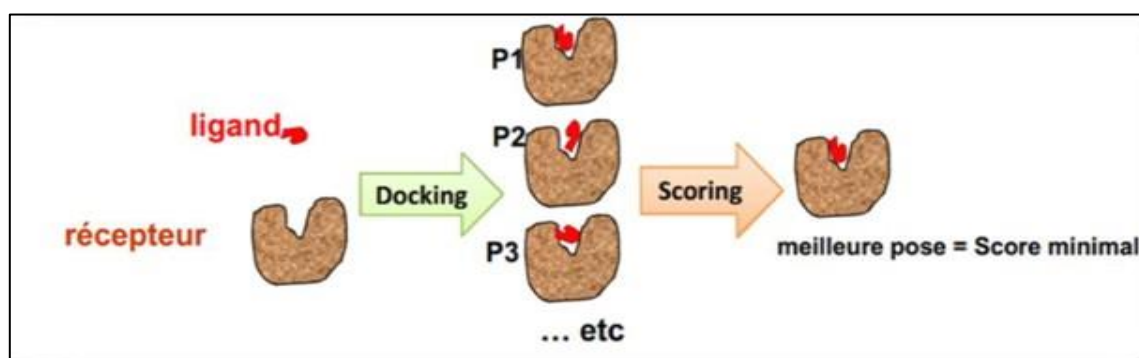


Figure 11. Principe du docking [37].

3. Historique du docking moléculaire

Le **Docking rigide** est le premier docking moléculaire mis en œuvre. Il consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéine-ligand en considérant que chacune des deux molécules étant une entité rigide tout en conservant une géométrie interne fixe. Dans cette situation, on ne prend pas en considération la relaxation de la géométrie interne de chaque entité,

en interaction dans le complexe. Ce type de docking, respectant le modèle clé-serrure, est plus rapide mais moins précis. Par la suite, les chercheurs ont développé la technique de docking semi-flexible, laquelle intègre la flexibilité du ligand tout en traitant la protéine comme une entité rigide. Cette catégorie du docking moléculaire est plus précise que le docking rigide. Avec les avancées actuelles dans le domaine de l'informatique, le docking flexible offre désormais des résultats plus précis en tenant compte à la fois de la flexibilité du ligand et de la flexibilité partielle de la protéine [37].

4. Reconnaissance moléculaire Protéine-Ligand

La reconnaissance de la protéine/ligand est un concept complexe à comprendre en raison de la multitude de paramètres impliqués. Les interactions non-covalentes présentent de nombreuses opportunités dans le contexte de cette reconnaissance. Certaines d'entre elles sont majoritairement présentes comme les liaisons hydrogène, les liaisons ioniques ou les contacts hydrophobes. Il est impératif de prendre en considération ces interactions en raison de leur nombre et de leur puissance lorsqu'on cherche de nouvelles molécules actives. Les liaisons, les hydrogène interactions ioniques ainsi que les interactions hydrophobiques sont plus occasionnelles lors de la formation des complexes Protéine-Ligand [38].

5. Outils du docking moléculaire

5.1. Le Récepteur

Les structures tridimensionnelles (3D) de diverses protéines sont disponibles sans frais au sein de la Protein Data Bank (PDB), le principal répertoire de données structurales sur les macromolécules biologiques, incluant les protéines, l'ADN, l'ARN, etc. Créée en 1971 avec initialement sept structures, la PDB a vu son inventaire s'étoffer progressivement (Figure 12), approchant 220 000 structures d'ici juin 2024. En mars de la même année, plus de 217387 structures étaient recensées, dont 183345 obtenues par cristallographie aux rayons X, 14212 par résonance magnétique nucléaire (RMN), et 19481 grâce à la microscopie électronique. À noter, 93 % de ces structures représentent des protéines [39].

Il est important de signaler que certaines protéines ne sont pas encore disponibles dans cette banque de données et si cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, il devient alors possible de construire la structure 3D de la cible souhaitée, en faisant appel à la modélisation par homologie [40].

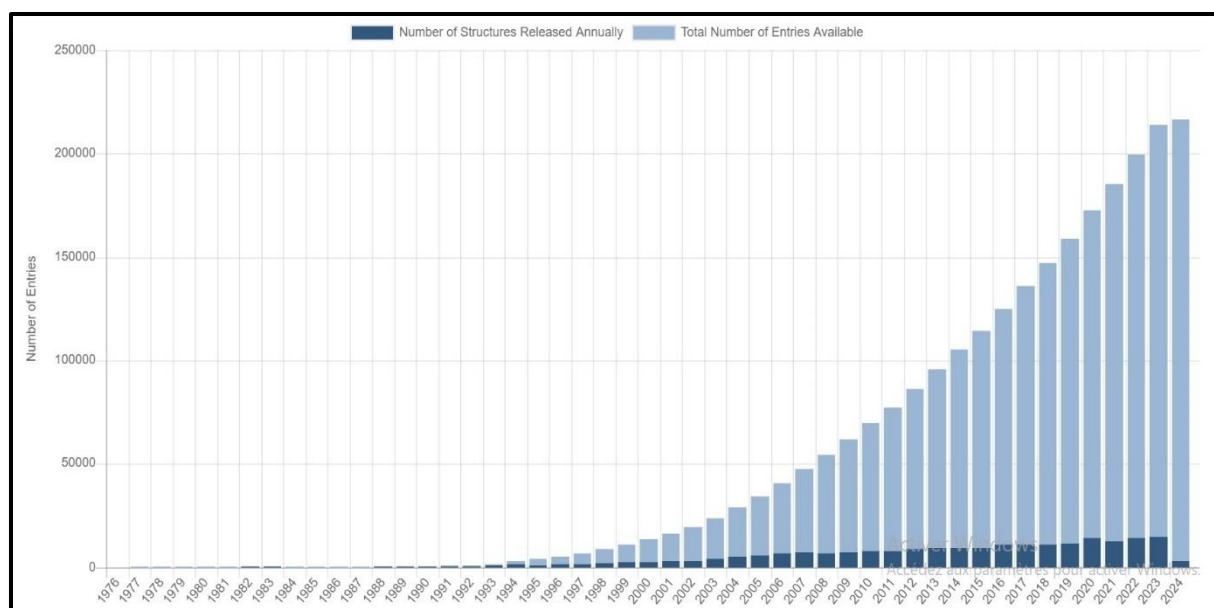


Figure 12. Les statistiques du pdb : la croissance globale des structures libérées par année.

5.2. Le ligand

Dans le domaine du docking moléculaire, la sélection du ligand revêt une grande importance. Il est essentiel que ce choix soit pertinent en raison de la particularité du site actif de la cible, ce qui évite de tester des molécules de manière inutile. Les ligands sont souvent de petites molécules [41]. Pour un docking moléculaire, le ligand doit être également sous forme 3D. A présent, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné : La première consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que chemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl...etc [42]. Le second moyen souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelés chimiothèques telles que la base de donnée **African Natural Products Database (ANPDB)** [43].

➤ African Natural Products Database (ANPDB):

La Base de données sur les produits naturels africains (ANPDB) centralise les produits naturels issus de diverses régions d'Afrique. Actuellement, l'ANPDB intègre deux bases de données régionales : celle des produits naturels d'Afrique du Nord (NANPDB) et celle d'Afrique de l'Est (EANPDB). Les bases de données relatives aux autres régions africaines sont en développement et n'ont pas encore été intégrées à l'ANPDB. Cette plateforme représente la plus vaste collection de données sur les produits naturels isolés d'organismes indigènes du continent africain. Les informations recueillies, couvrant la période de 1962 à 2019, proviennent

principalement de la littérature scientifique, incluant des articles de revues spécialisées et des thèses et doctorat issues de bibliothèques universitaires africaines, ainsi que de recherches sélectionnées dans des revues locales. L'ANPDB répertorie actuellement 6 515 composés isolés de 1 042 sources biologiques, principalement végétales, mais aussi microbiennes, animales (comme les coraux) et marines. En plus des noms et structures moléculaires, la base de données inclut des informations sur les sources, les références bibliographiques, les activités biologiques (telles qu'antipaludique, anticancéreux, cytotoxique, etc.) et les modes d'action, quand disponibles. Toutes les structures chimiques de l'ANPDB sont téléchargeables gratuitement pour utilisation dans des calculs de criblage virtuel, permettant l'exploration des interactions potentielles entre composés et protéines [43,44].

6. Programme de docking moléculaire

Plus de 30 logiciels de docking moléculaire sont actuellement disponibles qu'ils soient Commerciaux ou libres. Ces programmes présentent des algorithmes de recherche et des fonctions de score variés voir (figure 13) [45].

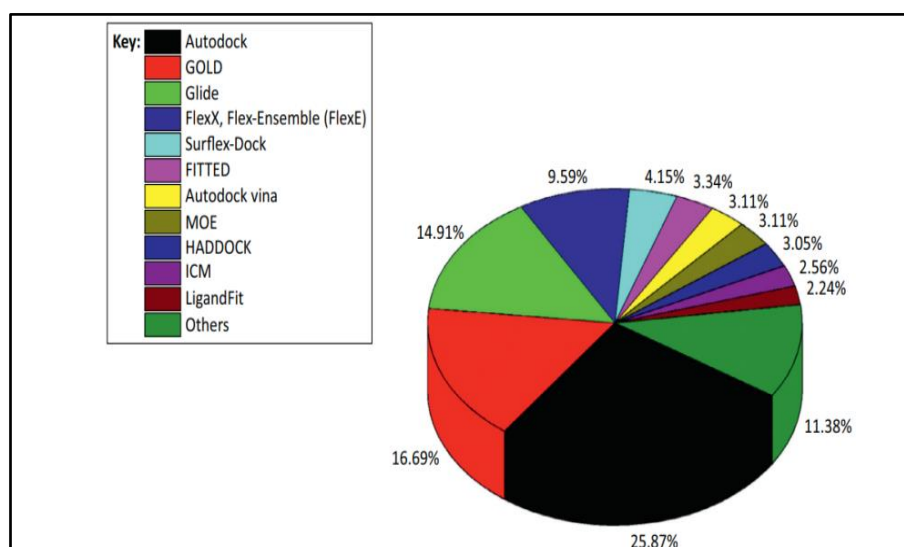


Figure 13. Fréquence de citation des programmes de docking [46].

- **Surflex :** Surflex est un logiciel de docking moléculaire employant un protocole automatisé qui combine une simulation de docking semi-flexible avec un algorithme d'ajustement de fragment, permettant ainsi une prédiction rapide et précise de la manière dont les petites molécules se lient aux sites actifs des protéines cibles. Surflex génère une représentation simplifiée du site de liaison de la protéine appelée "protomol" qui aide à guider les ligands dans le site actif pour une interaction optimale. Cette approche

permet non seulement une grande rapidité et efficacité dans le processus de docking, mais assure également une bonne reproductibilité et robustesse des résultats [47]. Ce logiciel a été utilisé dans le présent travail pour aider à développer de nouveaux inhibiteurs de l'ECA.



PARTIE PRATIQUE





Chapitre 4 : MATÉRIEL ET MÉTHODES



1. Matériel

Nous avons utilisé l'approche de docking moléculaire pour proposer de nouveaux inhibiteurs de l'ECA1, en utilisant le matériel suivant :

1.1. Ordinateurs et logiciels

1.1.1 Ordinateurs

Deux microordinateurs de marques différentes ont été utilisés pour l'exécution et l'analyse des résultats obtenus dans notre travail (DELL, HP). Les caractéristiques de ces ordinateurs sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 01. Caractéristiques des ordinateurs utilisés.

	Micro-ordinateur 01 : DELL	Micro-ordinateur 02 : HP
Ram	8GO	8GO
Système d'exploitation	Windows 10 pro (64bits)	Windows 11 pro (64bits)
Processeur	Intel(R) Core (TM) i5-5300U CPU @ 2.30GHz	Intel(R) Core (TM) i7-6820HQ CPU @ 2.70GHz

1.1.2 Logiciels

a- Surfex-Dock

Le logiciel de docking moléculaire utilisé dans notre travail est Surfex-Dock. Reconnu pour sa rapidité et son efficacité, Surfex-Dock est largement utilisé dans le domaine du docking moléculaire. Il est capable de réaliser des amarrages de ligands avec une haute précision, en simulant l'interaction des ligands dans un environnement de résidus d'acides aminés selon un algorithme de fragmentation/reconstruction [48]. Cependant, ce programme ne se dispose pas d'une interface graphique.

b- BIOVIA Discovery Studio

Il s'agit d'un logiciel gratuit pour la visualisation, l'analyse et la modélisation de structures moléculaires. Dans notre travail BIOVIA Discovery Studio a été utilisé pour l'étude des mécanismes d'interaction moléculaire entre les ligands et les acides aminés du site actif en déterminant les types de ces interactions (figure 14) [49].

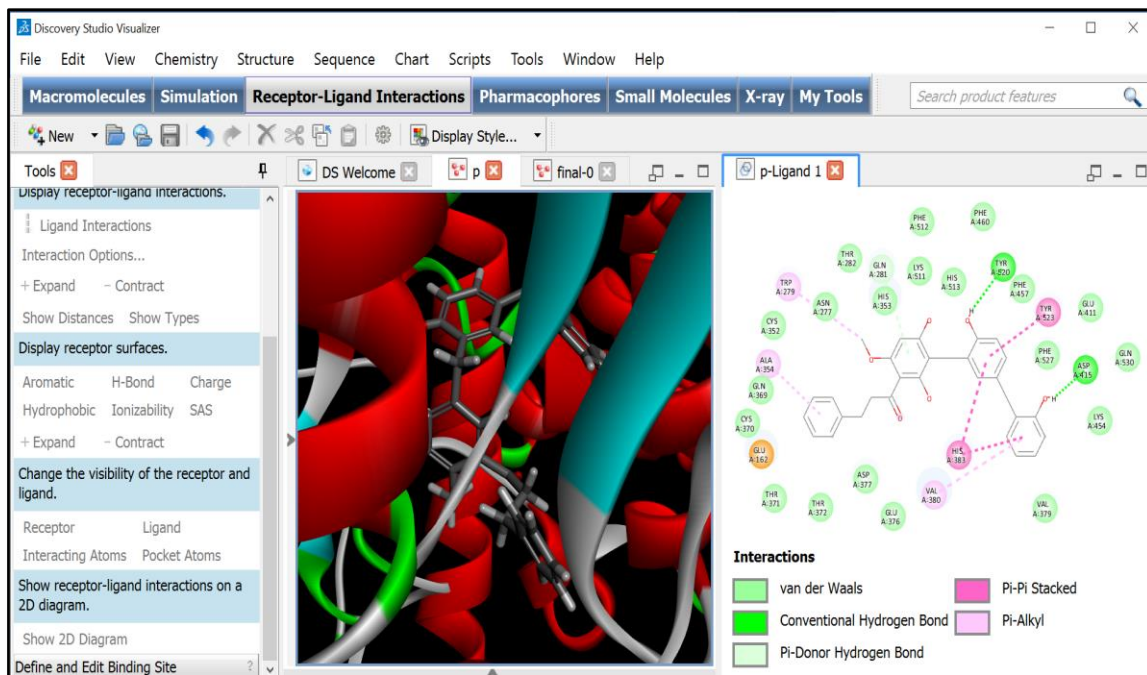


Figure 14. Interface graphique du BIOVIA Discovery Studio.

c- OpenBabel

C'est un programme libre, visant à simplifier l'inter-conversion des fichiers contenant les données chimiques d'un format à un autre, (PDB, MOL, MOL2, SDF, XYZ, PC, SMI...etc.) (figure 15) [50].

Figure 15. Interface graphique d'Open Babel.

d- PDBaser

PDBaser est un logiciel de bioinformatique conçu pour la préparation et le traitement rapide et facile des structures 3D des protéines, particulièrement pour le docking moléculaire. Il offre diverses fonctionnalités, notamment la représentation 2D des ligands, l'extraction des chaînes protéiques séparément sous différents formats, et l'identification du site actif d'une protéine à partir d'un ligand de référence. Grâce à son interface conviviale et ses outils puissants, PDBaser facilite le travail des chercheurs en simplifiant les étapes complexes de la modélisation et de l'analyse des interactions protéine-ligand. Dans notre travail, cet outil a été employé pour séparer les chaînes protéine/ligand des complexes utilisés pour mener le test de fiabilité par RMSD [51].

1.2 Banques de données

1.2.1 Protein Data Bank (PDB)

Protein Data Bank (PDB) (figure 16) est une banque de données mondiale et accessible gratuitement. Elle regroupe des informations sur les structures tridimensionnelles (3D) des macromolécules biologiques, principalement des protéines. Ces structures sont principalement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par résonance magnétique nucléaire (RMN), avec un total de 218 853 structures enregistrées en 2024 [52]. Cette base de données nous a permis d'extraire le modèle 3D de notre enzyme.

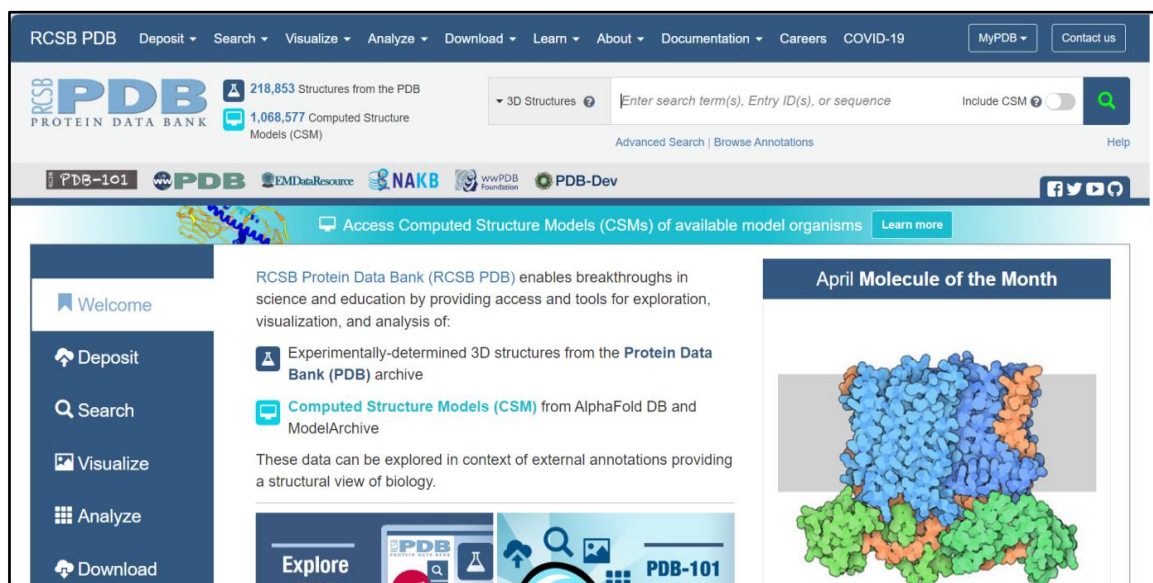


Figure 16. Page d'accueil de la Protein Data Bank (PDB).

1.2.2 African Natural Products Database (ANPDB)

La richesse en biodiversité du continent africain se reflète dans la diversité des produits naturels qu'il offre, utilisés depuis des siècles à des fins médicinales, alimentaires et autres. Afin de documenter et de faciliter l'accès à cette précieuse ressource, la Base de données sur les produits naturels africains (ANPDB) a été créée. L'ANPDB se compose de deux bases de données régionales distinctes mais complémentaires : la base des produits naturels d'Afrique du Nord (NANPDB), regroupe 4928 produits naturels, et celle d'Afrique de l'Est (EANPDB), qui en contient 1871. Dans le présent travail, nous avons utilisé la *East African Natural Products Database* (EANPDB). Cette chimiothèque est accessible gratuitement via le site web suivant (<https://african-comounds.org/anpdb/>). Les 1871 composés qu'elle regroupe ont été collectés à partir 315 publications couvrant la période de 1962 à 2019 [5].

1.2.3 PubChem

La pubchem est l'une des plus grandes chimiothèques au monde. Elle est gérée par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (figure 17). En plus des structures chimiques des différents composés, la pubchem nous offre beaucoup d'informations sur les propriétés physiques et chimiques, activités biologiques, brevets, toxicité ... etc [53]. Dans notre travail, cette chimiothèque nous a fourni la structure 3D du composé de référence Enalapril.

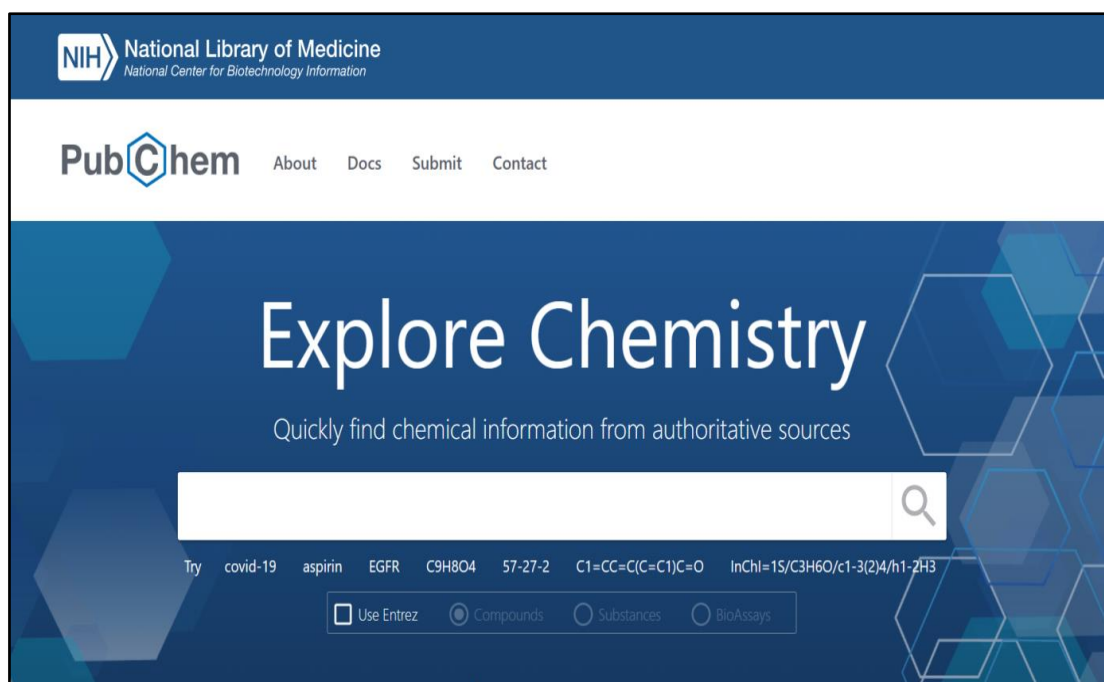


Figure 17. Page d'accueil de la PubChem.

1.3 Serveurs

1.3.1 SuissADME

SuissADME est un serveur en ligne accessible gratuitement, permettant de prédire les caractéristiques physico-chimiques et certains paramètres pharmacocinétiques (figure 18) [54]. Ce serveur a été employé dans le présent travail pour vérifier les propriétés ADME des meilleurs composés issus du criblage virtuel.

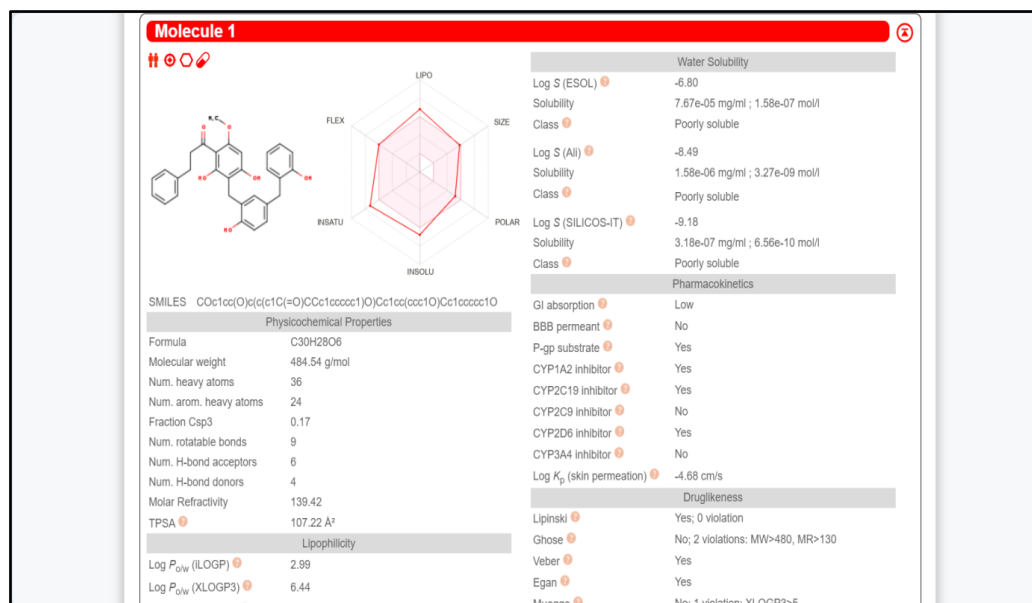


Figure 18. Serveur SuissADME.

2. Méthodes

2.1 Tests de fiabilité du programme de docking

Avant d'aborder l'étude de l'inhibition de l'ECA, nous avons évalué la fiabilité du logiciel Surflex-Dock afin de valider les résultats obtenus au cours de notre travail. Pour ce faire, nous avons réalisé deux tests :

2.1.1 Test RMSD

Le test RMSD (*Root Mean Square Deviation*) est une mesure statistique utilisée pour évaluer le degré de décalage entre la position spatiale d'une structure de référence d'un ligand et sa position théorique prédite par le logiciel de docking moléculaire. Ce test est largement employé pour évaluer la performance d'un logiciel. La prédiction jugée acceptable (fiable) si la valeur du RMSD ≤ 2 Å. Au-delà de cette valeur seuil, la prédiction est considérée comme non adéquate [55,56]. Dans notre travail, le test RMSD a été réalisé sur 100 complexes tirés

d'une façon aléatoire de la PDB. Les valeurs de RMSD ont été calculées par le logiciel Surflex-Dock en utilisant la commande suivante :

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

Si la valeur du RMSD est supérieure à 2 Å, le logiciel Surflex-Dock peut optimiser le positionnement d'un ligand au sein de son récepteur en utilisant la commande suivante :

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

2.1.2 Analyse visuelle

C'est une étape complémentaire au test RMSD permettant de donner un aperçu sur la valeur numérique du RMSD en vérifiant visuellement la superposition d'un ligand de référence vis-à-vis de sa pose simulée [57]. Dans notre travail, les complexes 3KK6 et 1CX2 ont fait l'objet de l'analyse visuelle et ce en utilisant le logiciel Biovia Discovery.

2.2 Choix de la cible

La structure tridimensionnelle de l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine (ECA) est disponible dans la banque de données PDB sous plusieurs codes dont les principales sont représentées dans le tableau 2.

Tableau 02. Code PDB des complexes ECA-Inhibiteur avec leurs caractéristiques.

Code du complexe	Code de l'inhibiteur	Résolution (Å)	Nombre de chaînes	Intitulé	Mutation
1O86	LPR	2.00	1	Crystal Structure of Human Angiotensin Converting Enzyme in complex with lisinopril	0
2YDM	SLC	2.44	1	Structural characterization of angiotensin-I converting enzyme in complex with a selenium analogue of captopril	0

4CA5	3EF	1.85	1	Human Angiotensin converting enzyme in complex with a phosphinic tripeptide FI	0
1UZE	EAL	1.82	1	Complex of the anti-hypertensive drug enalaprilat and the human testicular angiotensin I-converting enzyme	0
4BZR	K26	1.84	1	Human testis angiotensin converting enzyme in complex with K-26	0

Parmi les cinq complexes ECA-Inhibiteurs présentés dans le tableau 2, nous avons sélectionné le complexe 1UZE en raison de sa haute résolution de 1,82 Å. Ce code PDB correspond à la structure tridimensionnelle de l'enzyme en complexe avec l'inhibiteur identifié par le code EAL. Ce dernier a été utilisé dans cette étude pour identifier et caractériser le site actif de l'enzyme.

2.3 Préparation des ligands

Dans la perspective de développer de nouveaux inhibiteurs de l'ECA, nous avons mené un criblage virtuel de 1871 composés naturels issus de la chimiothèque *East African Natural Products Database*. Dans un premier temps, nous avons téléchargé un seul fichier au format SDF-GZ contenant la totalité des molécules de cette chimiothèque. Après la décompression de ce fichier, les molécules ont été séparées afin d'obtenir un fichier individuel au format SDF pour chaque composé.

2.4 Génération du protomol

La génération du protomol est une étape cruciale dans l'utilisation du logiciel Surflex-Dock pour le docking moléculaire. Le protomol est une représentation idéale des interactions possibles entre l'enzyme et les ligands potentiels, servant de modèle en négatif du site actif de l'enzyme étudiée. Pour générer le protomol, Surflex-Dock exige la structure 3D de la protéine ainsi que celle de son ligand de référence. Cette étape se fait avec la commande suivante :

```
Surflex-dock proto ligand.mol2 protéine.mol2 pl
```

2.5. Docking moléculaire

L'étape de docking moléculaire par Surflex-dock commence par la fragmentation préalable du ligand. L'assemblage des fragments permet de rechercher les conformations les plus optimales du ligand dans le site actif de la protéine. Cette étape a été réalisée en utilisant la commande suivante :

```
Surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 protéine.mol2
```

2.6. Recherche de nouveaux inhibiteurs de l'ECA

Dans notre travail, les 1871 composés issus de la chimiothèque ANPDB ont fait l'objet du docking moléculaire à l'égard du site actif de l'ECA. Après le processus de docking moléculaire, le programme Surflex-Dock génère les 10 meilleures poses de chaque composé, classées en fonction de leur score (de final-0.mol2 à final-9.mol2). Le score de la pose final-0 est utilisé pour classer les composés étudiés par ordre d'affinité, de la plus forte à la plus faible.

2.7. Analyse visuelle de l'interaction

Suite au docking moléculaire mené sur les molécules de la chimiothèque, les 3 composés présentant les meilleures affinités ont été sélectionnés pour une étude approfondie de leurs interactions à l'égard du site actif de l'ECA. Ces composés seront ensuite analysés pour déterminer leurs propriétés d'interaction détaillées et leur potentiel en tant qu'inhibiteurs efficaces de l'ECA. Cette étape, réalisée à l'aide du programme Discovery, est cruciale car elle permet d'analyser et de quantifier les diverses interactions entre le ligand et les résidus du site actif étudié.

2.8. Propriétés ADME

Pour qu'un médicament exerce efficacement son effet thérapeutique, il est crucial qu'il atteigne sa cible dans l'organisme à une concentration appropriée. Cependant, pour y parvenir, le médicament doit surmonter divers obstacles, notamment traverser les barrières biologiques présentes dans le corps humain. C'est ici que la validation des propriétés ADME intervient. Dans notre travail, nous avons utilisé le serveur SwissADME pour prédire les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des meilleurs inhibiteurs de l'ECA identifiés lors du criblage virtuel. Les inhibiteurs enregistrés au format SDF ont été convertis au format SMILES à l'aide du programme Open Babel, ce qui nous a permis de les intégrer dans le serveur SwissADME.

2.8.1 Propriétés physico-chimiques

- **Règle de Lipinski**

La règle de Lipinski, également connue sous le nom de règle de 5 est une méthode rapide pour évaluer la biodisponibilité par voie orale d'une molécule donnée. Un composé est capable d'être administré par voie orale s'il respecte au moins trois de ces cinq critères suivants :

1- Le poids moléculaire doit être inférieur ou égale à 500 Da.

2- Le nombre de donneur de liaisons hydrogène doit être inférieure ou égale à 5.

3- Le nombre d'accepteur d'hydrogène doit être inférieur ou égale à 10.

4- Le nombre de liaisons flexibles doit être inférieur ou égale à 15.

5- Le log P de son coefficient de partage doit être $-2 \leq \log p \leq 5$ [58].

- **Règle de Veber**

La règle de Veber est un ensemble de critères utilisés pour évaluer la biodisponibilité orale des médicaments. Elle stipule qu'un composé a une meilleure probabilité d'être absorbé par voie orale si :

1- L'aire de surface polaire (PSA, polar surface area) est inférieure ou égal à 140 \AA^2 .

2- Le nombre de liaisons flexibles est inférieur ou égal à 10.

3- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogènes est inférieur ou égal à 10.

4- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène est inférieur ou égal à 5 [59].

- **Solubilité dans l'eau**

La solubilité est un processus reflétant la dissolution du soluté dans un solvant aqueux. Elle donne un aperçu sur la distribution des médicaments via la circulation sanguine. En effet, un composé soluble dans l'eau est forcément soluble dans le sang ce qui montre qu'il est capable d'atteindre son organe cible avec une concentration souhaitée via la circulation sanguine [60].

- **Accessibilité à la synthèse**

Des modifications structurales doivent être menées sur les composés actifs lors de leur optimisation. De ce fait, les composés dont la synthèse chimique est difficile à réaliser sont

généralement éliminés. Dans notre travail, l'accessibilité à la synthèse chimique a été évaluée en valeurs allant de 1 (très facile à synthétiser) jusqu'à 10 (très difficile à synthétiser) [61].

2.8.2 Propriétés pharmacocinétiques

- **Absorption gastro-intestinale**

Les médicaments administrés par voie orale, à l'instar des inhibiteurs de l'ECA, doivent traverser la barrière gastro-intestinale pour atteindre la circulation sanguine jusqu'à leur cible.

- **Perméabilité hémato-encéphalique (Blood Brain Barrier : BBB)**

La pénétration de la barrière hémato-encéphalique est cruciale pour les substances ayant une activité thérapeutique ciblant le système nerveux central. En revanche, les substances sans activité thérapeutique dans ce domaine peuvent provoquer des effets secondaires indésirables si elles sont capables de traverser cette barrière.

- **Inhibition des cytochromes P450**

Les cytochromes P450 (CYP) sont des hémoprotéines qui participent au métabolisme oxydatif de nombreux médicaments. En fonction de la structure de la protéine fixée à l'hème, différentes familles et sous-familles ont été identifiées chez l'homme. Les principales formes sont CYP 1A2, 2D6, 2C9, 2C19, 2E1 et 3A4. L'inhibition d'un CYP peut provoquer une augmentation de la concentration sanguine des médicaments et accroître le risque d'effets secondaires, car le médicament peut atteindre des niveaux toxiques [62].



Chapitre 5 : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS



1. Test de fiabilité du programme Surflex

Dans la perspective de développement de nouveaux inhibiteurs de l'ECA par docking moléculaire, la fiabilité est un aspect crucial qui garantit l'efficacité des inhibiteurs proposés. Le logiciel Surflex, largement utilisé dans le domaine de docking moléculaire, n'échappe pas à cette règle. Parmi les méthodes de validation, deux approches se distinguent particulièrement : le *Root Mean Square Deviation* (RMSD) et l'analyse visuelle.

1.1 RMSD

Ce premier test consiste à calculer le RMSD entre la position d'un ligand de référence existante dans la PDB et sa pose simulée. Dans notre travail, ce test a été appliqué sur 100 complexes Protéine-Ligand tirés de manière arbitraire à partir de la banque de données PDB. Les résultats du test RMSD pour les 100 complexes sont illustrés dans l'**annexe 01** ainsi que la figure 19.

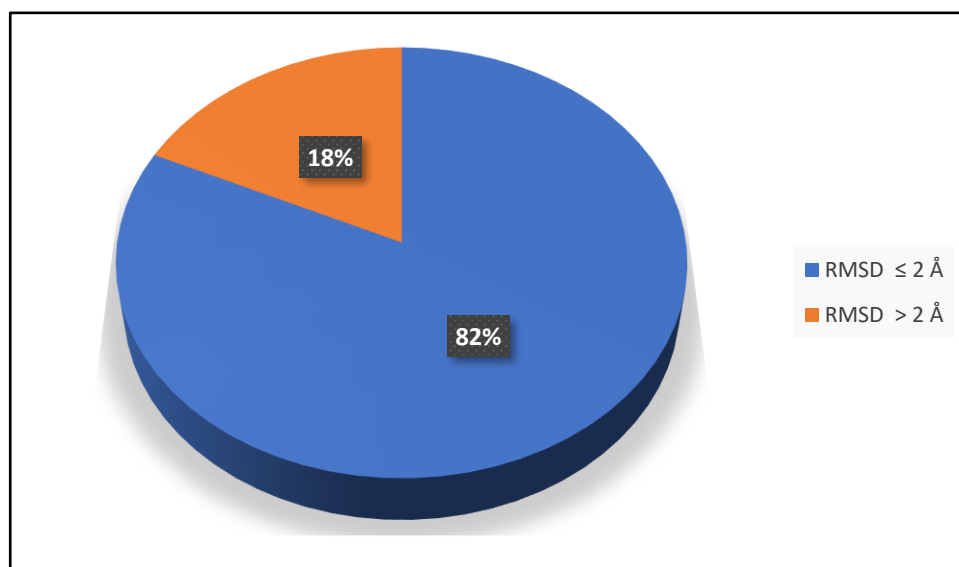


Figure 19. Résultats du test RMSD en pourcentage (%) obtenus par Surflex.

Il apparaît de la figure 19 que 82% des valeurs de RMSD sont inférieures ou égales à 2 Å, tandis que seulement 18% dépassent cette norme. Ces résultats corroborent les travaux de TENIOU S. (2012), qui ont rapporté un taux de RMSD de 85,8% inférieur à 2Å [63]. Cette concordance indique que Surflex est capable de simuler avec précision les interactions protéine-ligand, validant ainsi son efficacité et sa fiabilité. Ainsi, ces résultats sont significatifs car ils démontrent que la majorité des prédictions générées par Surflex sont précises, avec des écarts

minimes par rapport aux structures de référence. Nous pouvons donc conclure que Surfex offre une solution robuste pour la simulation des interactions protéine-ligand.

1.2 Analyse visuelle

L'analyse visuelle joue un rôle crucial en complétant les résultats numériques obtenus par le test RMSD. Elle permet de confirmer ces résultats en offrant une vue détaillée de la superposition entre le modèle simulé d'un ligand par le logiciel et sa pose de référence. Dans notre étude, les complexes **3KK6** et **1CX2** ont été soumis à cette analyse visuelle dont les valeurs de RMSD sont respectivement 0.781 Å et 0.807 Å (voir annexe 01).

Les figures 20 et 21, générées à l'aide du logiciel Biovia Discovery Studio, montrent une excellente superposition entre les poses simulées par Surfex (en bleu) et les poses de référence (en rouge). Ces visualisations confirment la précision des simulations effectuées par Surfex. En effet, la faible valeur des RMSD et la bonne correspondance visuelle indiquent que le logiciel reproduit fidèlement les interactions protéine-ligand.

À la lumière des résultats obtenus avec le test RMSD, renforcés par une analyse visuelle détaillée, nous pouvons conclure que Surfex est un outil suffisamment fiable pour mener des études *in silico* sur l'inhibition de l'ECA. Cette double validation, numérique et visuelle, renforce la confiance dans les capacités de Surfex à produire des simulations précises et pertinentes dans le cadre de la conception de nouveaux inhibiteurs de l'ECA.

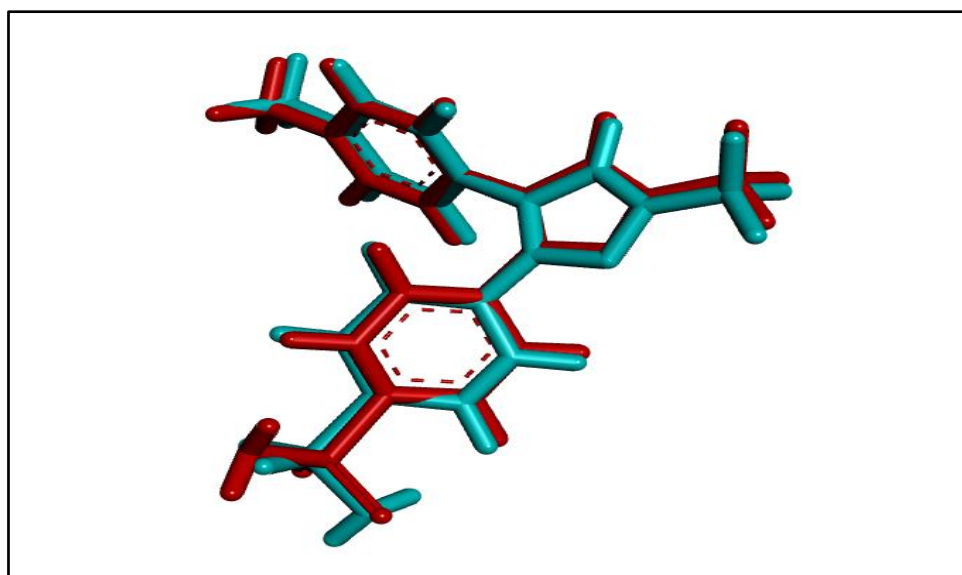


Figure 20. Superposition de la pose de référence du ligand **CEL** du complexe **3KK6** (rouge) et la pose simulée par Surfex (bleu).

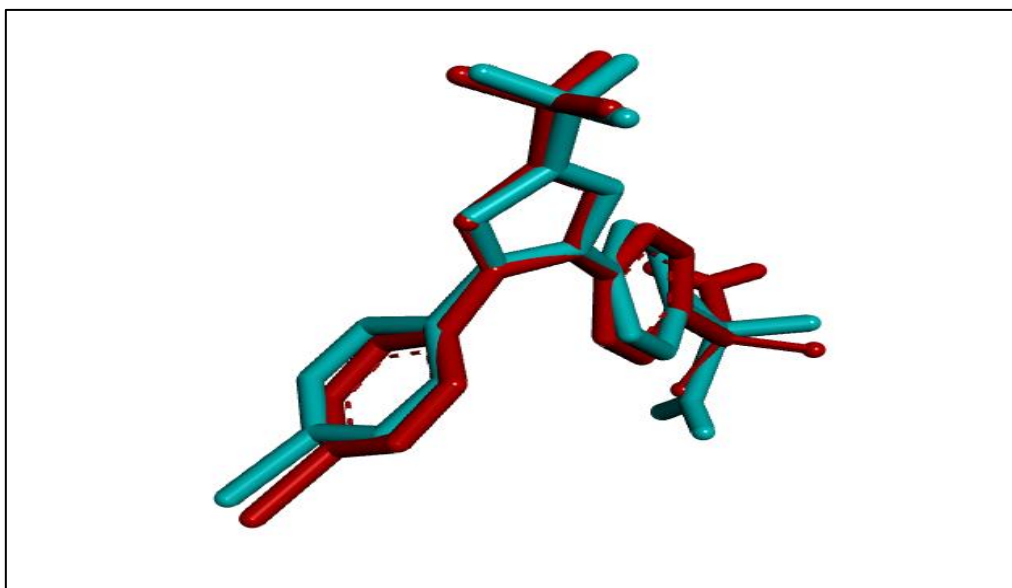


Figure 21. Superposition de la pose de référence du ligand **S58** du complexe **1CX2** (rouge) et la pose simulée par Surfex (bleu).

2. Etude des interactions du Enalapril- ECA

L'énalapril est un inhibiteur de l'ECA, largement utilisé dans le traitement de l'hypertension artérielle. Depuis son introduction sur le marché, l'énalapril a démontré une efficacité clinique significative faisant de lui un choix de premier plan parmi les inhibiteurs de l'ECA. L'importance de l'énalapril réside dans sa capacité à bloquer la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II, une hormone qui provoque la vasoconstriction et la rétention de sodium, contribuant ainsi à l'élévation de la pression artérielle [3].

La reconstruction du complexe énalapril - ECA par docking moléculaire avec Surfex confirme les données de la bibliographie en générant un score positif de 2.96 M^{-1} . A l'aide du programme Discovery, nous avons pu visualiser les interactions mis en jeu par ce composé au sein du site actif de l'ECA. En effet, ce composé forme 2 liaisons hydrogène avec les résidus Asp415 et His513 et deux autres liaisons Carbone-hydrogène avec Glu384. De plus, ce standard est stabilisé au sein du site actif par 8 interactions hydrophobes de type Alkyl, Pi- Alkyl faisant intervenir les résidus Ala356, Val380, His383, Phe457, His513, Tyr520 et Tyr523. Il est important de souligner l'importance des interactions impliquant les résidus His383 et Glu384 faisant partie des résidus catalytique de l'enzyme. Ainsi, le blocage de ces acides aminés Enalapril permet de diminuer significativement l'activité enzymatique de l'ECA et donne par conséquent une meilleure activité inhibitrice à cette molécule.

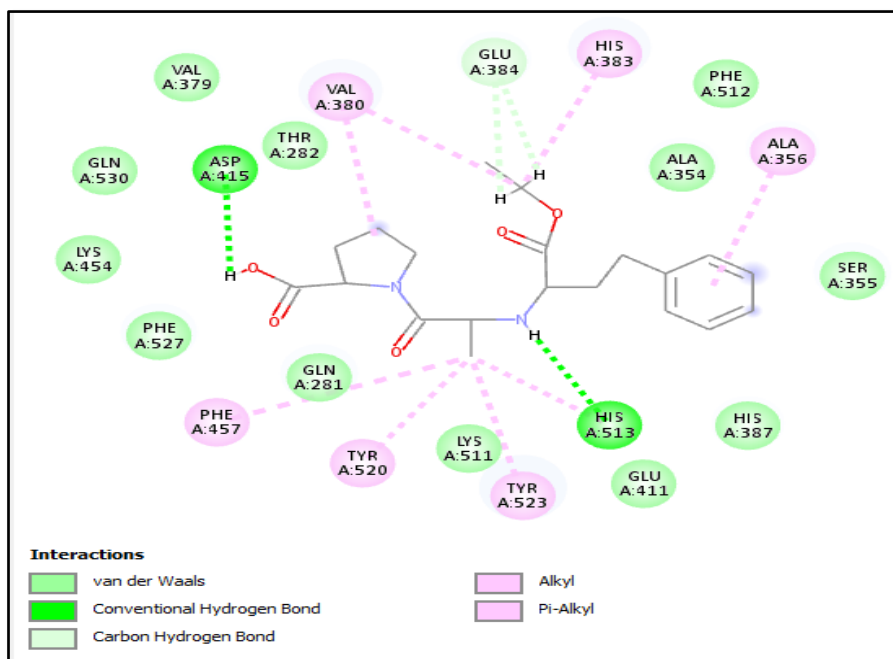


Figure 22. Diagramme des interactions de l'énalapril avec site actif de l'ECA.

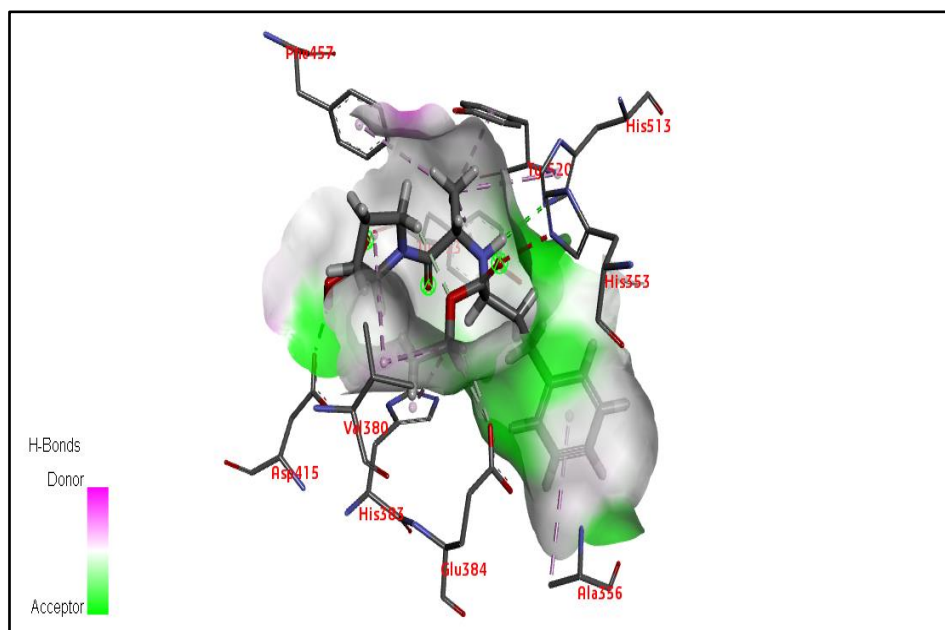


Figure 23. Représentation 3D du positionnement de l'énalapril au sein du site actif de l'ECA.

Malgré son efficacité dans la réduction de la pression artérielle, l'énalapril présente certaines limites et peut entraîner divers effets secondaires. Parmi ceux-ci, on peut citer la réduction de la fonction rénale, la toux sèche, les interactions médicamenteuses, les éruptions cutanées, et diverses réactions allergiques [4]. Ces limitations soulignent l'importance de

développer de nouveaux inhibiteurs naturels de l'ECA comme alternatives aux médicaments chimiques tels que l'énalapril. Les inhibiteurs naturels pourraient offrir des solutions plus sûres et mieux tolérées, réduisant ainsi les effets secondaires indésirables et les interactions médicamenteuses.

3. Recherche de nouveaux inhibiteurs naturels de l'ECA par criblage virtuel

Le présent travail vise à découvrir des composés bioactifs provenant de plantes ou d'autres sources naturelles, capables de moduler l'activité de l'ECA avec une efficacité comparable à celle des inhibiteurs chimiques, tout en présentant un profil de sécurité amélioré. Dans cette optique, un criblage virtuel de 1871 composés naturels provenant de la chimiothèque « *East African Natural Products Database* » a été mené sur le site actif de l'ECA en utilisant le programme Surflex. L'énalapril a été utilisé comme standard pour comparaison. Ce criblage virtuel fait ressortir 383 composés naturels ayant une affinité bien meilleure que celle du standard qui, à titre de rappel, est égale à 2.96 M^{-1} . Le classement et le score de docking de ces composés prometteurs sont illustrés dans l'Annexe 2. Seuls, les résultats des 3 meilleurs inhibiteurs, classés par leur affinité sont représentés dans le tableau 03.

Tableau 03. Classement, nom et affinité des 3 meilleurs inhibiteurs de l'ECA issus du criblage virtuel.

Classement	Composé	Nom	Score d'affinité (M^{-1})
1	S697	angoluvarin	6,02
2	S451	5',6'-dihydroxy- 2'-(4-hydroxy-2-oxo-2H-pyran-6-yl) -5-[(E)-2-(4-hydroxy-phenyl) ethenyl] -3H-spiro[furan-2,1'-inden] -3-one	5,85
4	S1251	mangiferin	5,57
384	Standard	Énalapril	2,96

Il ressort du tableau 03 que les composés **S697**, **S451** et **S1251** se présentent comme meilleurs inhibiteurs de l'ECA avec des scores respectifs de 6.02, 5.85 et 5.57 M^{-1} respectivement. L'analyse visuelle du mode d'interaction de ces composés à l'égard du site actif étudié nous permettra d'élucider les mécanismes mis en jeu dans l'inhibition de cette enzyme.

4. Mode d'interaction des meilleurs inhibiteurs de l'ECA

4.1. Composé S697

L'angoluvarin, surnommé composé **S697** est présent dans la plante *Ailanthus glandulosa*, originaire de Chine et de nombreuses autres régions africaines. L'angoluvarin fait partie d'un groupe de composés chimiques appelés quassinoïdes, qui sont connus pour leurs diverses activités biologiques principalement l'activité anticancéreuse et antipaludique [64]. Dans notre travail, le criblage virtuel fait ressortir ce composé comme meilleur inhibiteur potentiel de l'ECA avec un score de 6.02 M^{-1} . La reconstruction du complexe ECA-Composé **S697** par docking moléculaire révèle la présence de 2 liaisons hydrogènes impliquant les résidus Asp415 et Tyr520. De plus, une interaction de type carbone-hydrogène avec le résidu Gln281, ainsi que 6 interactions hydrophobes de type Pi-Pi Stacking et Pi-alkyle avec les résidus Trp279, Ala354, Val380, His383 et Tyr523, contribuent à la stabilité de cette molécule prometteuse au sein du site actif de l'ECA. Ces interactions renforcent l'affinité du composé pour l'enzyme, améliorant ainsi son effet inhibiteur (Figure 24).

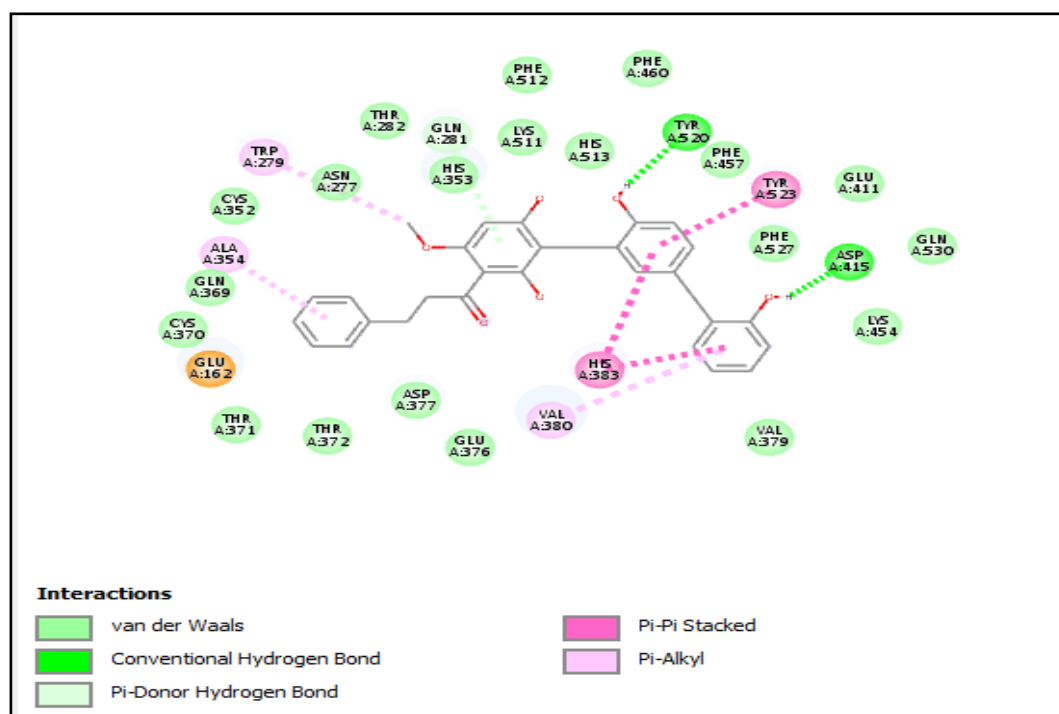


Figure 24. Diagramme des interactions du composé **S697** avec site actif de l'ECA.

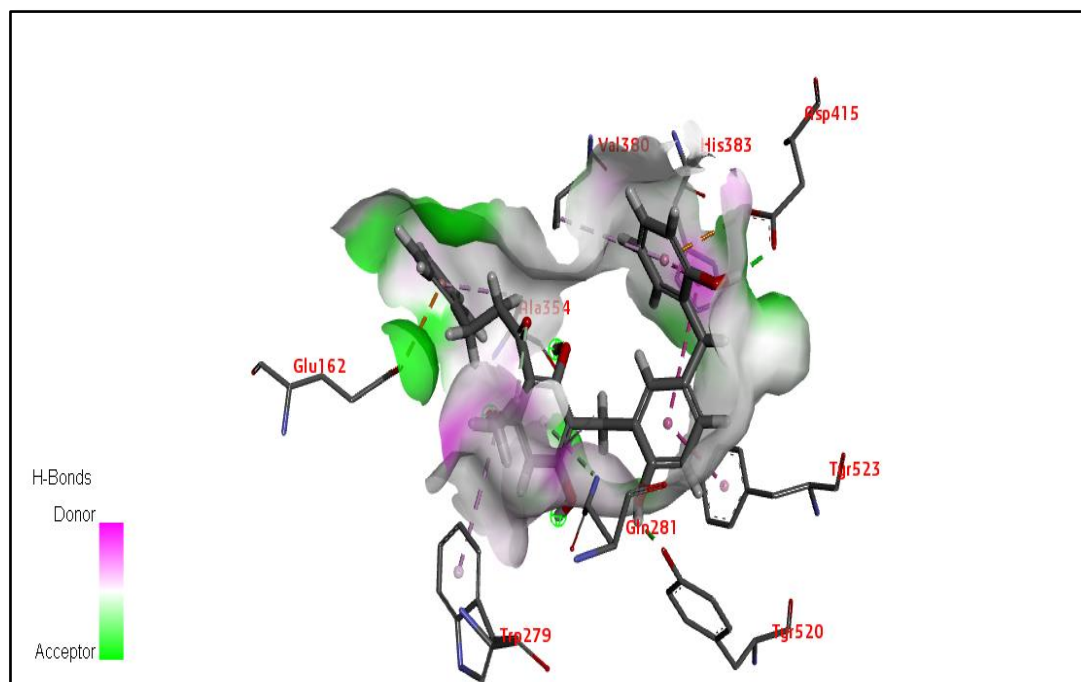


Figure 25. Représentation 3D du positionnement du composé **S697** au sein du site actif de l'ECA.

4.2. Composé S451

Le composé **S451**, également connu sous le nom de 5',6'-dihydroxy- 2'-(4-hydroxy-2-oxo-2H-pyran-6-yl)-5-[(E)-2-(4-hydroxy-phenyl) ethenyl]-3H-spiro [furan-2,1'-inden]-3-one, se distingue comme le deuxième meilleur inhibiteur potentiel de l'ECA. Conformément aux études citées [65,66], ce composé a démontré des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Le criblage virtuel que nous avons effectué suggère que le composé **S451** pourrait également être un agent antihypertenseur potentiel en agissant par inhibition de l'ECA.

L'analyse visuelle montre qu'établit 3 liaisons hydrogène cruciales avec les résidus Ala356, Glu384 et Asp415. Ces liaisons hydrogène contribuent à la stabilité de l'interaction entre le composé **S451** et l'enzyme, favorisant ainsi son efficacité inhibitrice. De plus, le composé **S451** interagit avec le site actif de l'ECA par le biais de 8 interactions hydrophobes de type Pi-Pi Stacking et Pi-Alkyl qui se produisent avec les résidus Ala354, Val380, His383, His513, His523 et Tyr523. Ces interactions hydrophobes renforcent l'ancrage de cette molécule dans le site actif de l'enzyme, ce qui améliore sa capacité à inhiber l'activité de l'ECA de manière spécifique et efficace (Figure 26).

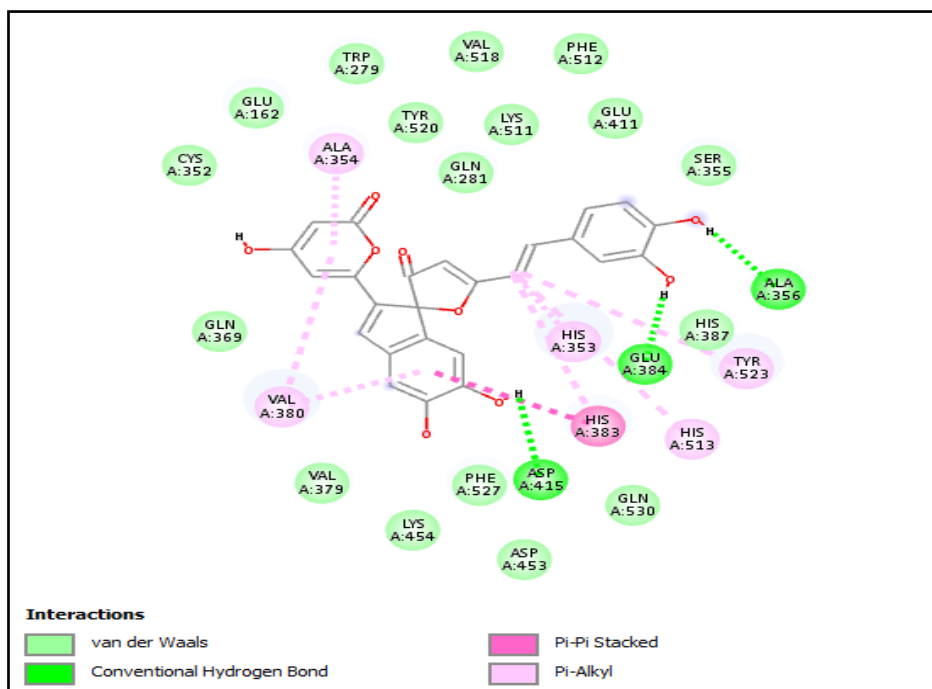


Figure 26. Diagramme des interactions du composé S451 avec site actif de l'ECA.

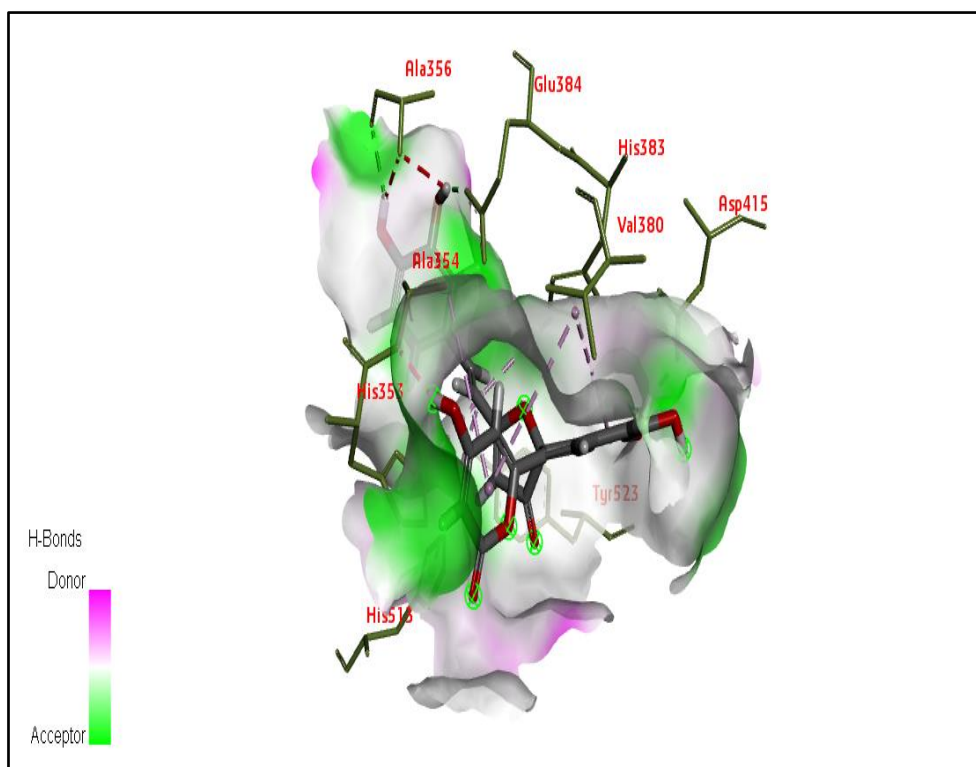


Figure 27. Représentation 3D du positionnement du composé S451 au sein du site actif de l'ECA.

4.3. Composé S1251

Le mangiférine (mangiferin en anglais), également connu sous le nom de C-glucoside xanthone ou composé **S1251** dans ce mémoire, est un composé naturel présent particulièrement dans les fruits du manguier (*Mangifera indica*). Cette molécule a fait l'objet de plusieurs études portant sur ses diverses propriétés pharmacologiques, notamment ses effets antioxydants, anti-inflammatoires, antimicrobiens, antidiabétiques, neuroprotecteurs et anticancéreux potentiels [67,68]. Dans notre étude, le composé **S1251** a émergé comme un inhibiteur prometteur de l'ECA. L'exploration visuelle de son interaction avec le site actif étudié a mis en lumière une série d'interactions clés. Plus précisément, 7 liaisons hydrogène sont constatées avec les résidus Tyr520, Ala356, Glu411, His387, Glu384, Ala354 et Tyr523. En outre, 4 liaisons carbone-hydrogène sont également constatées les résidus Tyr523 et Glu411, ainsi qu'une interaction de type Pi-Pi stacking avec le résidu Tyr523 (Figure 28). Ces résultats soulignent la nature complexe et multifacette de l'interaction entre le composé étudié et l'ECA, mettant en évidence son fort potentiel en tant qu'inhibiteur de cette enzyme clé impliquée dans la régulation de la pression artérielle.

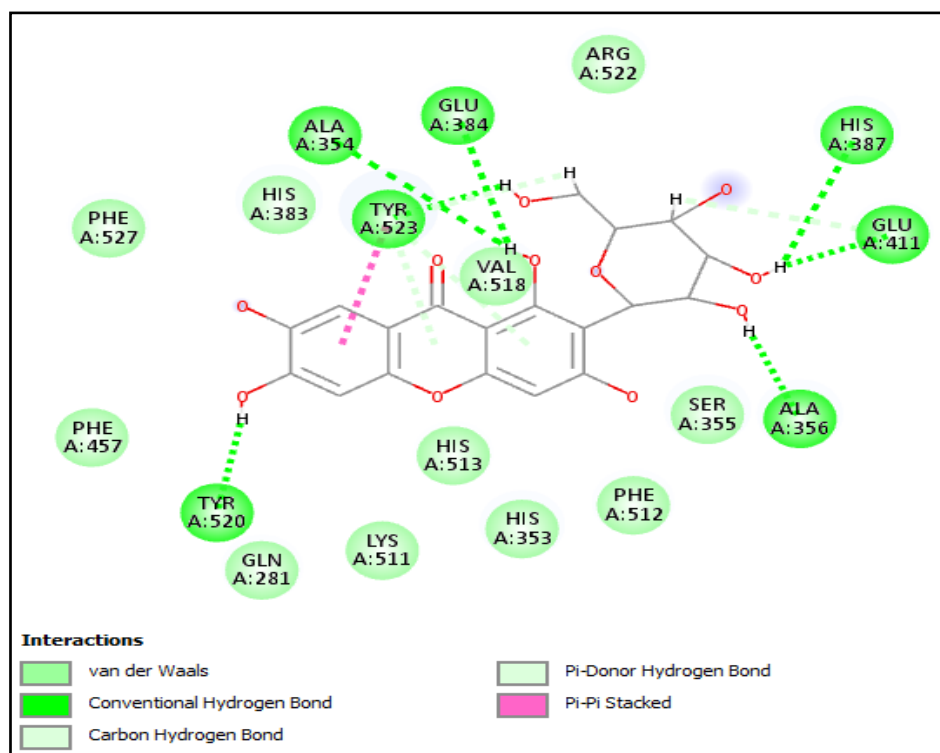


Figure 28. Diagramme des interactions du composé **S1251** avec site actif de l'ECA.

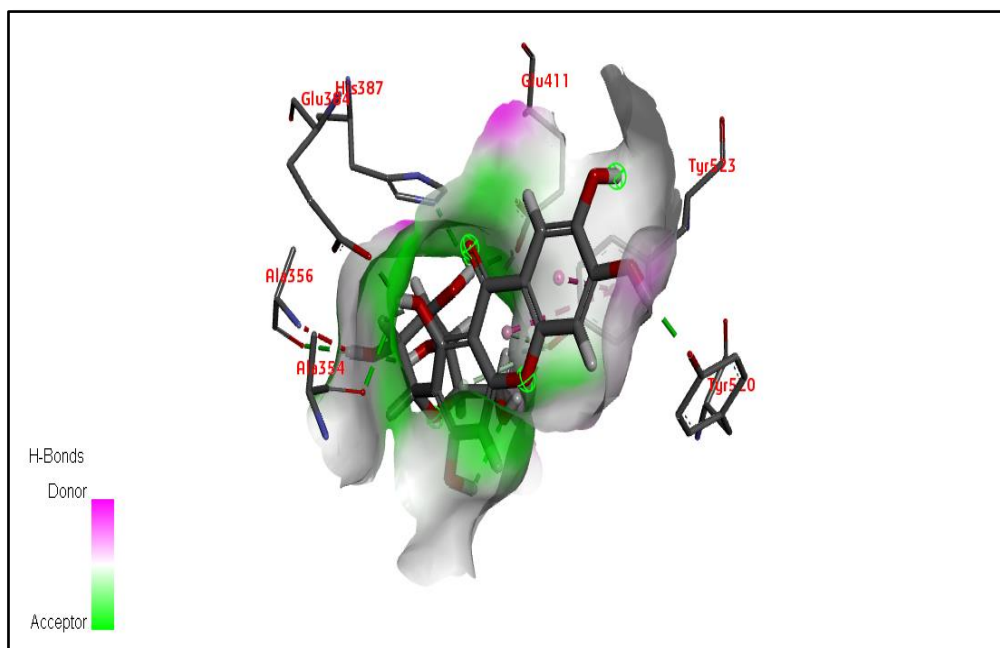


Figure 29. Représentation 3D du positionnement du composé **S1251** au sein du site actif de l'ECA.

5. Filtrage ADME

Les composés **S697**, **S451**, **S1251** ont été soumis à une étude prédictive approfondie de leurs propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques, afin d'évaluer leur profil ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion). Cette analyse a été réalisée en utilisant le serveur SwissADME, fournissant des informations cruciales sur leur potentiel pharmacologique. L'énalapril, un médicament antihypertenseur, a été utilisé comme molécule de référence pour comparaison.

5.1. Propriétés physicochimiques

Tableau 04. Propriétés physicochimiques de l'énalapril ainsi que des composés **S697**, **S451**, **S1251**.

	Énalapril	Composé S697	Composé S451	Composé S1251
Formule	C ₂₀ H ₂₈ N ₂ O ₅	C ₃₀ H ₂₈ O ₆	C ₂₅ H ₁₆ O ₉	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁
PM (g/mol) Poids moléculaire	376.45	484.54	460.39	422.34
nLF nombre de liaisons flexibles	11	9	3	2

nON nombre d'accepteur d'hydrogène	6	6	9	11
nOHNH nombre de donneurs d'hydrogène	2	4	5	8
Log P	1.55	4.92	2.10	-0.77
TPSA Å²	95.94	107.22	157.66	201.28
Règle de Lipinski	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Conforme
Règle de Veber	Non conforme	Parfaitement conforme	Non conforme	Non conforme
Solubilité dans l'eau	Élevée	Faible	Moyenne	Élevée
Accessibilité à la synthèse	3.61	3.42	5.23	4.76

Il ressort du tableau 04 que les composés **S697**, **S451**, **S1251** respectent la règle de Lipinski, ce qui suggère un bon potentiel pour une administration orale efficace. Cependant, les composés **S451** et **S1251** ne répondent pas à la règle de Veber, en raison d'une surface polaire totale (TPSA) supérieure à 140 Å², ce qui peut influencer négativement leur perméabilité membranaire et leur absorption. En termes de solubilité, le composé **S697** présente une faible solubilité aqueuse qui pourrait nécessiter des formulations spécifiques pour améliorer sa biodisponibilité. Il est important de noter que les limitations que nous avons constatées peuvent être surmontées lors de l'optimisation des composés **S697**, **S451**, **S1251**. En effet, leur accessibilité à la synthèse chimique est jugée acceptable, facilitant ainsi leur développement et leur optimisation pour des études ultérieures. Les valeurs intéressantes obtenues pour l'accessibilité à la synthèse chimique encouragent davantage de recherches pour maximiser leur efficacité thérapeutique.

5.2. Propriétés pharmacocinétiques

Tableau 05. Les propriétés pharmacocinétiques de l'énalapril ainsi que des composés **S697**, **S451**, **S1251**.

Propriétés	Énalapril	Composé S697	Composé S451	Composé S1251
GI absorption	Élevée	Faible	Faible	Faible
BBB perméabilité	Non	Non	Non	Non
CYP1A2 inhibition	Non	Oui	Non	Non
CYP2C19 inhibition	Non	Oui	Non	Non
CYP2C9 inhibition	Non	Non	Oui	Non
CYP2D6 inhibition	Non	Oui	Non	Non
CYP3A4 inhibition	Non	Non	Non	Non

L'étude prédictive des propriétés pharmacocinétiques des composés **S697**, **S451**, **S1251** a révélé plusieurs caractéristiques clés. Ces trois composés possèdent une absorption gastro-intestinale faible, nécessitant ainsi des formulations spécifiques pour améliorer ce paramètre. De plus, ils montrent une faible absorption hémato-encéphalique, ce qui peut protéger le système nerveux central des effets secondaires potentiels de ces composés. En termes d'interactions avec les cytochromes P450, le composé **S1251** se distingue en n'inhibant aucun des isoformes, ce qui réduit le risque d'interactions médicamenteuses indésirables. En revanche, le composé **S451** inhibe un seul isoforme, le CYP2C9, tandis que le composé **S697** inhibe trois isoformes différents des cytochromes P450.

À la lumière de cette étude, les composés **S697**, **S451**, **S1251** émergent comme des nouveaux candidats prometteurs en tant qu'inhibiteurs naturels de l'ECA. Bien que nous ayons noté certaines limitations concernant leur profil ADME, il est important de souligner que ces défis peuvent être surmontés lors de l'optimisation de ces molécules. Les valeurs encourageantes obtenues pour leur accessibilité à la synthèse chimique incitent à poursuivre les recherches afin de maximiser leur efficacité thérapeutique.



CONCLUSION ET PERSPECTIVES



Le présent travail avait pour objectif essentiel de développer *in silico* par criblage virtuel de nouveaux inhibiteurs de l'ECA, une cible thérapeutique majeure pour traiter l'hypertension artérielle. Pour atteindre cet objectif, nous avons suivi plusieurs étapes.

Préalablement, la fiabilité du programme Surflex-Dock a été évaluée en utilisant le test RMSD. Celui-ci implique le calcul de l'écart quadratique moyen entre la pose expérimentale de référence d'un ligand et sa pose simulée par docking moléculaire, reflétant ainsi le degré de décalage. Dans notre étude, 100 complexes protéine-ligand tirés arbitrairement de la PDB ont été soumis à ce test. Les résultats ont montré que 82 % des complexes avaient des valeurs de RMSD inférieures à 2 Å, répondant ainsi aux critères de fiabilité. Par la suite, ce test a été renforcé par une analyse visuelle effectuée sur les complexes 3KK6 et 1CX2, présentant respectivement des valeurs RMSD de 0.781 Å et 0.807 Å. Cette analyse a démontré une superposition satisfaisante entre les poses des ligands simulées par le logiciel et celles de référence. Ainsi, ces deux tests confirment la fiabilité du programme Surflex-Dock pour une étude *in silico* de l'inhibition de l'ECA.

L'énalapril est le médicament le plus couramment utilisé pour traiter l'hypertension artérielle. La reconstruction du complexe énalapril - ECA par docking moléculaire avec Surflex-Dock confirme son efficacité clinique en générant un score positif de 2.96 M⁻¹. Malgré son efficacité, ce médicament présente des limites et peut entraîner différents effets secondaires, tels que la diminution de la fonction rénale, la toux sèche, les interactions médicamenteuses, les éruptions cutanées et diverses réactions allergiques. Ces limitations soulignent l'importance de développer de nouveaux inhibiteurs naturels de l'ECA.

Afin de rechercher de nouveaux inhibiteurs naturels plus puissants de l'ECA, nous avons mené un criblage virtuel de 1871 composés naturels provenant de la chimiothèque *East African Natural Products Database*. Le criblage virtuel de cette collection à l'égard du site actif étudié fait ressortir les composés **S697**, **S451** et **S1251** comme meilleurs inhibiteurs potentiels de l'ECA avec des scores respectifs de 6.02, 5.85 et 5.57 M⁻¹ surpassant celui du standard. L'analyse visuelle du mode d'interaction de ces composés avec le site actif étudié nous a permis d'élucider les mécanismes impliqués dans l'inhibition de cette enzyme. Ainsi, ces composés établissent un nombre optimal de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes, mettant en évidence leur fort potentiel en tant qu'inhibiteurs de l'ECA.

Enfin, l'étude prédictive des propriétés physicochimiques et pharmacocinétique des composés **S697**, **S451**, **S1251** nous renseigne de manière positive sur leurs profil ADME.

Il serait judicieux, dans les perspectives futures, de réaliser davantage de tests théoriques (comme la dynamique moléculaire) et expérimentaux afin de consolider et de compléter les résultats obtenus par le docking moléculaire.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- [1] Fyhrquist, F., Metsärinne, K., & Tikkanen, I. (1995). Role of angiotensin II in blood pressure regulation and in the pathophysiology of cardiovascular disorders. *Journal of Human Hypertension*, 9(Suppl 5), S19-S24.
- [2] Bricca, G., & Bennis, Y. (2016). Inhibiteurs du système rénine-angiotensine. *Cardiologie*. [http://dx.doi.org/10.1016/S1166-4568\(16\)66566-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1166-4568(16)66566-X).
- [3] Solomon, S. D., & McMurray, J. J. V. (2020). Angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers in hypertension and heart failure: Practical considerations and clinical recommendations. *European Heart Journal*, 41(34), 3797-3803. doi:10.1093/eurheartj/ehaa532.
- [4] Burnier, M., & Wuerzner, G. (2019). Pharmacokinetics and safety of enalapril in the treatment of hypertension. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 15(2), 111-121. doi:10.1080/17425255.2019.1561870.
- [5] Simoben, C. V., Christopher V., Mbafor, Joseph T., Wansi, Jean D., Devkota, Krishna P., & Sewald, Norbert. (2020). Pharmacoinformatic Investigation of Medicinal Plants from East Africa. *Molecular Informatics*, 39(11), 2000163. doi:10.1002/minf.202000163.
- [6] Josie K. (2023). Hypertension artérielle : l'alimentation qui « guérit » !: Découvrez les aliments « tropicaux » efficaces, ainsi que les meilleures combinaisons qui « marchent » ! Publishroom.
- [7] Robert, P. (2021). Place de la dynamique mitochondriale dans l'hypertension artérielle et l'anévrisme aortique .Thèse de doctorat, Université d'Angers.
- [8] Organisation mondiale de la Santé (OMS). (2023). Hypertension. Récupéré de <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>. Consulté le [15 février 2024].
- [9] Organisation mondiale de la Santé (OMS). (2023). En Afrique, la lutte contre l'hypertension artérielle est entravée par un manque de sensibilisation et un suivi insuffisant. Récupéré de <https://www.afro.who.int/fr/news/en-afrique-la-lutte-contre-lhypertension-arterielle-est-entree-par-un-manque-de>. Consulté le [15 février 2024].

- [10] Ngongang, C. (2019). Hypertension artérielle sévère nouvellement diagnostiquée dans un pays en Afrique sub-saharienne : Aspects épidémio-cliniques, thérapeutique et évolutifs. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 68(4), 241-248. doi:10.1016/j.ancard.2019.07.014.
- [11] Nibouche, D., Belhamidi, S., Amara, T., Larbi, K., & Ziani, A. (2023). Étude du niveau de pression artérielle en consultation chez l'hypertendu algérien traité (PACT II). *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 72(4), 101631. doi:10.1016/j.ancard.2023.101631.
- [12] Nadar, S., & Lip, G. (2022). Hypertension. Oxford University Press.
- [13] Bourgou, Z. (2014). Hypertension artérielle du sujet jeune Epidémiologie et prise en charge initiale en médecine générale .Thèse de doctorat. Université Paris Diderot - Paris 7.
- [14] Abbes, M. A. (2017). Étude de l'impact du poids corporel sur l'hypertension artérielle: Cas des hypertendus de Tiaret .Thèse de doctorat en sciences. Université Djillali Liabes.
- [15] Organisation mondiale de la Santé. (2024). Hypertension. Récupéré de <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>. Consulté le [15 février 2024].
- [16] Bakris, G. L. (Ed.). (2024). Hypertension - Troubles cardiovasculaires. Édition professionnelle du Manuel MSD. Récupéré de <https://www.msmanuals.com/fr/professional/troubles-cardiovasculaires/hypertension-art%C3%A9rielle/hypertension>. Consulté le [15 février 2024].
- [17] Senou, B. (2023). Connaissance sur l'hypertension artérielle des patients hypertendus du CSRéf de la commune I du district de Bamako .Thèse de doctorat, Université des Sciences. Des Techniques et des Technologies de Bamako.
- [18] Neufcourt, L. (2020). Expliquer les inégalités sociales et territoriales dans l'hypertension artérielle : Exploitation des cohortes française Constances et américaine HRS. Thèse de doctorat. Université de Rennes 1.
- [19] Abid, L., Neffati, F., Gaha, R., Kammoun, S., Najjar, M.F., Zouari, F., Ben Salem, K., Dali, M., Boukhris, M., Zayani, M., Laabidi, S., Trabelsi, N., Chaabouni, T., Mghirbi, T.,

Hammami, R., & Ben Slima, A. (2021). Guide de Pratique Clinique. Prise en charge de l'hypertension artérielle chez l'adulte en Tunisie. *Tunis Med*, 99(08-09), 767-846.

[20] Mounier-Vehier, C., & Devos, P. (2001). [Angiotensin II receptor antagonists: Different or equivalent?]. *Presse Med*, 30(21), 1072-1075.

[21] Christopher, R., Saudan, P., & Hernandez, T. (2015). Utilisation des diurétiques : ce que le praticien doit connaître. *Rev Med Suisse*, 463, 482-486.

[22] Peng, H., Carretero, O. A., Vuljaj, N., Liao, T. D., Motivala, A., Peterson, E., Rhaleb N.E. (2005). Angiotensin-converting enzyme inhibitors: A new mechanism of action. *Circulation*, 112(16), 2436-2445. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.528695.

[23] Gomez, C. (2008). Élaboration de nouveaux inhibiteurs mixtes ECA/ECE pour le traitement de l'hypertension. Thèse de doctorat. Université d'Orléans.

[24] Shanmuganathan, R., Kumaresan, R., & Giri, P. (2015). Prevalence of angiotensin converting enzyme (ACE) gene insertion/deletion polymorphism in South Indian population with hypertension and chronic kidney disease. *J Postgrad Med*, 61(4), 230-234. doi:10.4103/0022-3859.166510.

[25] Soubrier, F., Alhenc-Gelas, F., Hubert, C., Allegrini, J., John, M., Tregear, G., & Corvol, P. (1988). Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(24), 9386-9390. doi:10.1073/pnas.85.24.9386.

[26] Laraqui, A. (2006). Étude des facteurs métaboliques et polymorphismes génétiques prédisposant à la survenue de l'athérosclérose coronaire. Thèse de doctorat Université Mohammed V – Agdal. Faculté des Sciences.

[27] Dzau, V., Bernstein, K., Celermajer, D., Cohen, J., Dahlöf, B., Deanfield, J., Diez, J., Drexler, H., Ferrari, R., Van Gilst, W., Hansson, L., Hornig, B., Husain, A., Johnston, C., Lazar, H., Lonn, E., Luscher, T., Mancini, J., Mimran, A., Pepine, C., Rabelink, T., Remme, W., Ruilope, L., Ruzicka, M., Schunkert, H., Swedberg, K., Unger, T., Vaughan, D., & Weber, M.. (2002). Pathophysiologic and Therapeutic Importance of Tissue ACE: A Consensus Report. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 16, 149-160. doi:10.1023/A:1015709617405.

[28] Rivière, G. (2009). L'enzyme de conversion de l'angiotensine : Une protéase conservée au cours de l'évolution. *Journal de la Société de Biologie*, 203(4), Art. no 4. doi:10.1051/jbio/2009032.

[29] Baaziz, M. (2023). Enzymes-inhibiteurs. <https://www.takween.com/enzymologie/enzymes-inhibiteurs-exercices.html>. Consulté le [21 février 2024].

[30] Bascands, J.-L., Schanstra, J. P., Couture, R., & Girolami, J.-P. (2003). Les récepteurs de la bradykinine : de nouveaux rôles physiopathologiques. *Med Sci (Paris)*, 19(11), Art. no 11. doi:10.1051/medsci/200319111093.

[31] Dupuis, F. (2005). Implication du système rénine angiotensine aldostérone dans les altérations de la circulation cérébrale au cours de l'hypertension artérielle chronique .Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré – Nancy 1.

[32] Lexipatho. (2024). Hypertension artérielle de l'adulte. <https://www.lexipatho.fr/33-hypertension-arterielle-de-l-adulte>. Consulté le [20 février 2024].

[33] Le Figaro Santé. Inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) : <https://sante.lefigaro.fr/sante/traitement/inhibiteurs-lenzyme-conversion-iec/quels-sont-effets-indesirables>. Consulté le [20février 2024].

[34] Agu, P. (2023). Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Sci Rep*, 13, 13398. doi:10.1038/s41598-023-40160-2

[35] Grosdidier, A. (2007). Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat. Faculté de Pharmacie de Grenoble.

[36] Arrault, A. (2007). Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma .Thèse de doctorat .Université d'Orléans.

[37] Lorber, D. M., & Shoichet, B. K. (1998). Flexible ligand docking using conformational ensembles. *Protein Science*, 7(4), 938-950. doi:10.1002/pro.5560070411.

[38] Desaphy, J. (2013). L'analyse structurale de complexes protéine/ligand et ses applications en chémogénomique Thèse de doctorat, Université de Strasbourg.

[39] RCSB Protein Data Bank. PDB Statistics. <https://www.rcsb.org/stats/growth/growth-released-structures>. Consulté le [9 mars 2024].

[40] Mokrani, E. H. (2020). Identification par criblage virtuel et analyses biologiques de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Thèse de doctorat, Université Frères Mentouri Constantine 1.

[41] Fortuné, A. (2006). Techniques de Modélisation Moléculaire appliquées à l'Etude et à l'Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance Thèse de doctorat, Université Joseph-Fourier - Grenoble I.

[42] Chevrollier, N. (2019). *Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin*. Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay.

[43] Ntie-Kang, F., Telukunta, K. K., Döring, K., Simoben, C. V., Moumbock, A. F. A., Malange, Y. I., Njume, L. E., Yong, J. N., Sippl, W., & Günther, S. (2017). NANPDB: A Resource for Natural Products from Northern African Sources. *J. Nat. Prod.*, 80(7), 2067-2076. doi:10.1021/acs.jnatprod.7b00283.

[44] Simoben, C. (2020). Pharmacoinformatic Investigation of Medicinal Plants from East Africa. *Molecular Informatics*, 39(11), 2000163. doi:10.1002/minf.202000163.

[45] Mokrani, E. H. (2012). *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 1. Algérie.

[46] Chen, Y.-C. (2015). Beware of docking! *Trends in Pharmacological Sciences*, 36(2), 78-95. doi:10.1016/j.tips.2014.12.001

[47] Bessadok, A. (2011). La multiplicité de transport de la P-glycoprotéine : Etudes de modélisation comparative et de docking au sein de la famille des protéines ABC. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI.

- [48] Jain, A. N. (2007). Surflex-Dock 2.1: Robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *J Comput Aided Mol Des*, 21(5), 281-306. doi:10.1007/s10822-007-9114-2.
- [49] Pawar, S. S., & Rohane, S. H. (2021). Review on Discovery Studio: An important Tool for Molecular Docking. *Asian Journal Of Research in Chemistry*, 14(1), 1-3. doi:10.5958/0974-4150.2021.00014.6
- [50] O'Boyle, N. M., Banck M., James C A ., Morley C., Vandermeersch T., Hutchison G R . (2011). Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 3(1), 33. doi:10.1186/1758-2946-3-33.
- [51] Mokrani, E. H., Abdelaziz, A., Akakba, N., Teniou, S., Demmak, R. G., & Bensegueni, A. (2022). Molecular docking and drug-likeness prediction of new potent tubulin colchicine binding site inhibitors for potential antitumor drug. *Cumhuriyet Science Journal*, 43(3), 398-403.
- [52] Choudhary, P., Feng, Z., Berrisford, J., Chao, H., Ikegawa, Y., Peisach, E., Piehl, D. W., Smith, J., Tanweer, A., Varadi, M., Westbrook, J. D., Young, J. Y., Patwardhan, A., Morris, K. L., Hoch, J. C., Kurisu, G., Velankar, S., & Burley, S. K. (2024). PDB NextGen Archive: centralizing access to integrated annotations and enriched structural information by the Worldwide Protein Data Bank. *Database (Oxford)*, 2024, baae041. doi:10.1093/database/baae041.
- [53] Kim, S ., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. (2019). PubChem 2019 update: improved access to chemical data. *Nucleic Acids Research*, 47(Database issue), D1102-D1109. doi:10.1093/nar/gky1033.
- [54] Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep*, 7, 42717. doi:10.1038/srep42717.
- [55] Bell, E. W., & Zhang, Y. (2019). DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. *Journal of Cheminformatics*, 11(1), 40. doi:10.1186/s13321-019-0362-7.

- [56] Velázquez-Libera, J. L., Durán-Verdugo, F., Valdés-Jiménez, A., Núñez-Vivanco, G., & Caballero, J. (2020). LigRMSD: a web server for automatic structure matching and RMSD calculations among identical and similar compounds in protein-ligand docking. *Bioinformatics*, 36(9), 2912-2914. doi:10.1093/bioinformatics/btaa018.
- [57] Magis, C. (2007). *Conception de Ligands Protéiques par Bioinformatique et Modélisation Moléculaire*. Thèse de doctorat, Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS.
- [58] Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev*, 46(1-3), 3-26. doi:10.1016/s0169-409x(00)00129-0.
- [59] Veber, D. F., Johnson S R., Cheng H Y., Smith B R., Ward K W, and Kopple K D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J Med Chem*, 45(12), 2615-2623. doi:10.1021/jm020017n.
- [60] Savjani, K. T., Gajjar, A. K., & Savjani, J. K. (2012). Drug solubility: importance and enhancement techniques. *ISRN Pharm*, 2012, 195727. doi:10.5402/2012/195727.
- [61] Gateaux, V., & Heitz, J.-M. (2008). L'accès aux médicaments : un défi pour l'industrie pharmaceutique. *Humanisme et Entreprise*, 286(1), 13-28. doi:10.3917/hume.286.0013.
- [62] Manikandan, P., & Nagini, S. (2018). Cytochrome P450 Structure, Function and Clinical Significance: A Review. *Curr Drug Targets*, 19(1), 38-54. doi:10.2174/1389450118666170125144557.
- [63] Teniou, S. (2012). Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Mémoire de magistère en biochimie. Université Frères Mentouri - Constantine 1.
- [64] Caramelo, D., Pedro, S. I., Marques, H., Simão, A. Y., Rosado, T., Barroca, C., Gominho, J., Anjos, O., & Gallardo, E. (2021). Insights into the Bioactivities and Chemical Analysis of *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle. *Applied Sciences*, 11(23), 11331. doi:10.3390/app112311331.

- [65] Zhao, J., Davis, L. C., & Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 23(4), 283-333. doi:10.1016/j.biotechadv.2005.01.003.
- [66] Wang, C., Li, Y., Liao, Y., Tian, H., Huang, M., Dong, X., & Zhu, H. (2018). 2018 Chinese Pediatric Cardiology Society (CPCS) guideline for diagnosis and treatment of syncope in children and adolescents. *Science Bulletin*, 63(23), 1558-1564. doi: 10.1016/j.scib.2018.09.019.
- [67] Nasri, H., Baradaran, A., Shirzad, H., & Rafieian-Kopaei, M. (2014). New Concepts in Nutraceuticals as Alternative for Pharmaceuticals. *Int J Prev Med*, 5(12), 1487-1499.
- [68] Kim, I.-S., Yang, W.-S., & Kim, C.-H. (2021). Beneficial Effects of Soybean-Derived Bioactive Peptides. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 8570. doi:10.3390/ijms22168570.



ANNEXES



Annexe 01. Valeurs de RMSD des 100 complexes étudiés.

N°	Code PDB	Code du ligand	RMSD en Å
1	3QTR	X36	1.803
2	3R9D	X6B	1.300
3	3R9N	Z68	2.739
4	3RR3	FLR	2.718
5	3RUX	BS5	1.816
6	3S7S	EXM	1.678
7	3SKK	4U7	0.855
8	3VEU	OGO	1.714
9	3WS8	X4C	1.284
10	3ZM5	IGM	1.419
11	3ZM6	2GN	1.712
12	4ACH	KDI	2.402
13	4ANS	VGH	2.946
14	4C8B	OLI	1.928
15	4DPR	X8Z	1.410
16	4EK4	1CK	1.126
17	4EY7	E20	1.580
18	4FCI	GPA	0.778
19	4FCK	GPA	0.262
20	4FKQ	42K	0.756
21	4FM5	DF0	0.206
22	4GCJ	X64	1.878
23	4GID	0GH	1.006
24	4GL5	G29	1.076
25	4ISF	1FX	1.556
26	4J51	N75	2.985
27	4JBS	P52	1.707
28	4JP9	1M5	0.056
29	4KXB	BES	1.580
30	4LPB	1YP	2.295
31	4M2R	BZ1	2.090
32	4M11	MXM	1.187
33	4MPC	PV2	1.684
34	4O1Z	MXM	1.056
35	4OK3	2SY	0.976
36	4R5X	R5X	1.305
37	4UZD	QMN	0.315
38	4WK7	3PQ	1.73
39	4XRX	42V	2.794
40	5AXP	4LK	1.54

41	5C1W	4XS	0.044
42	5FI2	5XX	1.254
43	5HQ0	LZ9	0.823
44	5IH5	AUE	1.700
45	5UT3	IK1	1.663
46	5Z9K	99X	2.012
47	6ATB	BWA	1.643
48	6COX	S58	0.169
49	6GUC	SU9	0.129
50	6MDB	JE4	0.906
51	1AQ1	STU	1.953
52	1CX2	S58	0.807
53	1DM2	HMD	1.685
54	1GIH	1PU	1.485
55	1HT5	FL2	1.338
56	1IGX	EPA	1.339
57	1IJR	CC0	1.897
58	1IKV	EFZ	0.122
59	1K1M	FD4	2.089
60	1K1N	CCR	1.115
61	1QBR	XV6	2.366
62	1RTH	U05	1.717
63	1RTI	HEF	2.372
64	1T40	ID5	1.930
65	1UZE	EAL	1.635
66	1VIJ	BAY	1.747
67	1XBO	IX1	1.845
68	1YK7	NBL	1.714
69	1Z3N	3NA	3.087
70	2BE2	R22	1.565
71	2C6T	DT5	1.895
72	2C69	CT8	1.727
73	2EEP	AIO	1.948
74	2H3D	NMN	1.031
75	2QCM	JW5	0.658
76	2R3R	6SC	1.415
77	2WXV	WXV	1.692
78	2X7U	WZA	0.113
79	2ZJF	BSU	0.729
80	3FR4	F8A	1.532
81	3IN8	FYI	2.026
82	3KCK	3KC	2.354
83	3KK6	CEL	0.781
84	3KWF	B1Q	1.157
85	3L4T	BJ1	1.611
86	3LN1	CEL	2.285
87	3MQE	416	0.057
88	3NOT	OPY	1.604

89	3OXX	DR7	2.295
90	3PAX	3MB	0.065
91	3PGH	FLP	1.982
92	3PGL	RZX	2.267
93	3Q7D	NPX	0.110
94	3QCL	NXV	1.002
95	3QMO	NS4	1.938
96	3QQK	X02	0.575
97	6MDB	JE4	0.906
98	3VEU	OG0	1.714
99	1G0N	PHH	0.047
100	1DAJ	MOT	1.446

ANNEXE 02. Classement et score des 1871 composés du criblage virtuel sur l'ECA.

Classement	Composé	Score d'affinité (M ⁻¹)
1	S697	6,02
2	S451	5,85
3	S1071	5,76
4	S1251	5,57
5	S167	5,57
6	S587	5,37
7	S384	5,36
8	S1761	5,3
9	S1220	5,28
10	S1304	5,2
11	S1543	5,19
12	S1762	5,15
13	S202	5,11
14	S1110	5,07
15	S1482	5,07
16	S1647	5,06
17	S123	4,96
18	S1080	4,92
19	S1145	4,87
20	S945	4,86
21	S239	4,85
22	S186	4,84
23	S377	4,83
24	S1247	4,78
25	S1237	4,77
26	S947	4,75
27	S334	4,75
28	S246	4,73
29	S1235	4,71
30	S1007	4,68
31	S521	4,66
32	S1088	4,63
33	S643	4,6
34	S1483	4,59
35	S580	4,57
36	S1531	4,56
37	S288	4,55
38	S669	4,55
39	S801	4,53
40	S1548	4,53
41	S228	4,52
42	S965	4,5
43	S953	4,48

44	S1723	4,48
45	S1491	4,47
46	S1314	4,42
47	S136	4,4
48	S767	4,4
49	S954	4,38
50	S1241	4,38
51	S641	4,36
52	S1530	4,33
53	S1670	4,33
54	S1155	4,29
55	S963	4,28
56	S1107	4,27
57	S1223	4,27
58	S1489	4,27
59	S1093	4,26
60	S1370	4,26
61	S1735	4,23
62	S442	4,21
63	S373	4,2
64	S1722	4,19
65	S1303	4,18
66	S705	4,16
67	S1505	4,14
68	S205	4,13
69	S968	4,13
70	S590	4,11
71	S446	4,11
72	S666	4,11
73	S454	4,09
74	S612	4,08
75	S1225	4,08
76	S244	4,07
77	S990	4,07
78	S1298	4,07
79	S1322	4,07
80	S1560	4,06
81	S179	4,03
82	S570	4,02
83	S631	4,02
84	S138	4,01
85	S1642	4
86	S1658	4
87	S654	3,99
88	S310	3,98
89	S597	3,98

90	S892	3,98
91	S909	3,98
92	S1203	3,98
93	S1551	3,98
94	S478	3,97
95	S958	3,97
96	S1496	3,97
97	S962	3,96
98	S166	3,95
99	S583	3,95
100	S1763	3,94
101	S133	3,93
102	S274	3,93
103	S1323	3,93
104	S347	3,92
105	S803	3,91
106	S1637	3,91
107	S444	3,9
108	S995	3,9
109	S1638	3,9
110	S1321	3,9
111	S644	3,88
112	S399	3,85
113	S64	3,84
114	S591	3,84
115	S800	3,84
116	S1368	3,84
117	S456	3,83
118	S941	3,83
119	S1090	3,83
120	S489	3,82
121	S734	3,81
122	S1006	3,81
123	S706	3,79
124	S1555	3,79
125	S1643	3,79
126	S1119	3,78
127	S773	3,77
128	S938	3,77
129	S1445	3,77
130	S378	3,76
131	S1546	3,76
132	S1257	3,75
133	S383	3,74
134	S825	3,74
135	S1010	3,74

136	S1111	3,74
137	S16	3,73
138	S808	3,73
139	S1294	3,73
140	S159	3,73
141	S537	3,72
142	S970	3,72
143	S1236	3,72
144	S223	3,71
145	S967	3,71
146	S1755	3,71
147	S1573	3,71
148	S1695	3,71
149	S548	3,7
150	S309	3,69
151	S440	3,68
152	S1475	3,68
153	S201	3,65
154	S888	3,64
155	S1002	3,64
156	S350	3,64
157	S293	3,63
158	S1803	3,63
159	S168	3,62
160	S471	3,62
161	S344	3,61
162	S871	3,61
163	S946	3,61
164	S1087	3,61
165	S1126	3,61
166	S1487	3,61
167	S425	3,6
168	S727	3,6
169	S1623	3,6
170	S137	3,6
171	S181	3,59
172	S778	3,59
173	S862	3,59
174	S930	3,59
175	S1327	3,59
176	S1449	3,59
177	S1481	3,59
178	S733	3,58
179	S1468	3,58
180	S1138	3,57
181	S1043	3,56

182	S714	3,56
183	S1369	3,56
184	S21	3,55
185	S779	3,55
186	S832	3,55
187	S1480	3,55
188	S84	3,54
189	S532	3,54
190	S1234	3,53
191	S1521	3,53
192	S313	3,52
193	S715	3,52
194	S784	3,52
195	S1636	3,52
196	S649	3,51
197	S1146	3,51
198	S1181	3,51
199	S1354	3,51
200	S1469	3,51
201	S1787	3,51
202	S338	3,5
203	S519	3,5
204	S645	3,5
205	S1330	3,5
206	S438	3,49
207	S1396	3,49
208	S98	3,48
209	S77	3,48
210	S617	3,48
211	S1149	3,48
212	S1069	3,48
213	S774	3,47
214	S1148	3,47
215	S1550	3,47
216	S1705	3,47
217	S1682	3,47
218	S588	3,46
219	S1083	3,45
220	S1397	3,45
221	S1085	3,45
222	S1209	3,45
223	S1015	3,44
224	S1094	3,44
225	S1335	3,44
226	S988	3,44
227	S1009	3,43

228	S1070	3,43
229	S1325	3,42
230	S1711	3,42
231	S916	3,42
232	S579	3,41
233	S620	3,41
234	S1037	3,41
235	S1222	3,41
236	S1301	3,41
237	S918	3,41
238	S1379	3,4
239	S50	3,39
240	S625	3,39
241	S1157	3,39
242	S447	3,38
243	S1404	3,38
244	S1409	3,38
245	S282	3,37
246	S9	3,36
247	S731	3,36
248	S809	3,36
249	S1490	3,35
250	S515	3,33
251	S307	3,33
252	S369	3,33
253	S557	3,33
254	S837	3,33
255	S1783	3,33
256	S811	3,32
257	S1300	3,32
258	S285	3,31
259	S726	3,31
260	S520	3,31
261	S284	3,3
262	S973	3,3
263	S1620	3,3
264	S58	3,29
265	S183	3,29
266	S1113	3,29
267	S1351	3,28
268	S60	3,27
269	S1414	3,27
270	S1547	3,27
271	S1800	3,27
272	S581	3,26
273	S351	3,26

274	S1510	3,26
275	S513	3,25
276	S1479	3,25
277	S362	3,24
278	S1495	3,24
279	S1673	3,24
280	S59	3,23
281	S472	3,23
282	S99	3,23
283	S300	3,22
284	S376	3,22
285	S47	3,22
286	S627	3,22
287	S1246	3,22
288	S1640	3,22
289	S422	3,21
290	S1357	3,21
291	S65	3,2
292	S1336	3,2
293	S1696	3,2
294	S474	3,19
295	S571	3,19
296	S582	3,19
297	S1305	3,19
298	S991	3,18
299	S473	3,17
300	S516	3,17
301	S675	3,17
302	S1630	3,17
303	S115	3,16
304	S366	3,16
305	S1180	3,16
306	S160	3,15
307	S1393	3,15
308	S1506	3,15
309	S1717	3,15
310	S453	3,14
311	S603	3,14
312	S813	3,14
313	S1529	3,14
314	S1634	3,14
315	S238	3,13
316	S759	3,13
317	S1775	3,13
318	S111	3,12
319	S298	3,12

320	S1415	3,12
321	S1470	3,12
322	S1713	3,12
323	S131	3,11
324	S776	3,11
325	S805	3,11
326	S1185	3,11
327	S1750	3,11
328	S1820	3,11
329	S748	3,1
330	S1046	3,1
331	S1186	3,1
332	S1253	3,1
333	S882	3,1
334	S517	3,09
335	S948	3,09
336	S1184	3,09
337	S1372	3,09
338	S1400	3,09
339	S1091	3,09
340	S100	3,08
341	S128	3,08
342	S1168	3,08
343	S1639	3,08
344	S413	3,07
345	S6	3,07
346	S858	3,07
347	S985	3,07
348	S1344	3,07
349	S1702	3,07
350	S406	3,06
351	S531	3,06
352	S766	3,06
353	S1516	3,06
354	S1063	3,06
355	S1324	3,05
356	S312	3,04
357	S842	3,04
358	S1232	3,04
359	S1721	3,04
360	S332	3,04
361	S798	3,03
362	S1625	3,03
363	S1678	3,03
364	S252	3,02
365	S421	3,02

366	S431	3,02
367	S572	3,02
368	S1499	3,02
369	S1664	3,02
370	S859	3,01
371	S964	3,01
372	S178	3
373	S352	3
374	S1788	3
375	S184	2,99
376	S1451	2,99
377	S1568	2,99
378	S1621	2,99
379	S1819	2,99
380	S679	2,98
381	S1812	2,98
382	S157	2,97
383	S1429	2,97
384	S63	2,96
385	S314	2,96
386	S175	2,95
387	S992	2,95
388	S1756	2,95
389	S806	2,94
390	S1681	2,94
391	S1685	2,94
392	S944	2,94
393	S1042	2,93
394	S1522	2,93
395	S319	2,92
396	S462	2,92
397	S536	2,92
398	S1720	2,92
399	S1031	2,91
400	S1032	2,91
401	S1108	2,91
402	S386	2,9
403	S534	2,9
404	S922	2,9
405	S1029	2,9
406	S1462	2,9
407	S1518	2,9
408	S73	2,89
409	S529	2,89
410	S921	2,89
411	S1274	2,89

412	S1592	2,89
413	S135	2,88
414	S187	2,88
415	S23	2,88
416	S1118	2,88
417	S1120	2,88
418	S1773	2,88
419	S1789	2,87
420	S866	2,86
421	S185	2,85
422	S328	2,85
423	S1114	2,85
424	S1295	2,85
425	S245	2,84
426	S743	2,84
427	S757	2,84
428	S1158	2,84
429	S1296	2,84
430	S1467	2,84
431	S92	2,83
432	S648	2,83
433	S1520	2,83
434	S283	2,82
435	S407	2,82
436	S562	2,82
437	S961	2,82
438	S1188	2,82
439	S1204	2,82
440	S1387	2,82
441	S232	2,82
442	S886	2,82
443	S1345	2,82
444	S322	2,81
445	S573	2,81
446	S713	2,81
447	S899	2,81
448	S349	2,81
449	S555	2,81
450	S827	2,81
451	S1657	2,81
452	S134	2,8
453	S301	2,8
454	S419	2,8
455	S984	2,8
456	S1432	2,8
457	S1464	2,8

458	S1687	2,8
459	S802	2,79
460	S840	2,79
461	S1059	2,79
462	S1099	2,79
463	S951	2,79
464	S635	2,78
465	S1249	2,78
466	S1427	2,78
467	S1525	2,78
468	S1766	2,78
469	S560	2,77
470	S622	2,77
471	S737	2,77
472	S415	2,76
473	S558	2,76
474	S966	2,76
475	S1299	2,76
476	S1437	2,76
477	S1460	2,76
478	S412	2,75
479	S169	2,75
480	S389	2,75
481	S485	2,75
482	S852	2,75
483	S972	2,75
484	S1124	2,75
485	S1143	2,75
486	S1399	2,75
487	S1512	2,75
488	S1597	2,75
489	S983	2,75
490	S540	2,74
491	S509	2,74
492	S989	2,74
493	S1196	2,74
494	S1217	2,74
495	S1749	2,74
496	S1584	2,74
497	S107	2,73
498	S405	2,73
499	S781	2,73
500	S1072	2,73
501	S981	2,73
502	S1123	2,72
503	S1403	2,72

504	S408	2,71
505	S357	2,71
506	S514	2,71
507	S1190	2,71
508	S430	2,7
509	S628	2,7
510	S939	2,7
511	S1117	2,7
512	S281	2,69
513	S567	2,69
514	S765	2,69
515	S1421	2,69
516	S1438	2,69
517	S1563	2,69
518	S1567	2,69
519	S872	2,68
520	S28	2,68
521	S1790	2,68
522	S1797	2,68
523	S304	2,68
524	S402	2,67
525	S518	2,67
526	S1564	2,67
527	S101	2,66
528	S897	2,66
529	S1092	2,66
530	S1707	2,66
531	S1035	2,65
532	S616	2,64
533	S1408	2,64
534	S1704	2,64
535	S1785	2,64
536	S559	2,63
537	S667	2,63
538	S758	2,63
539	S974	2,63
540	S1205	2,63
541	S1751	2,63
542	S1333	2,63
543	S297	2,62
544	S525	2,62
545	S830	2,62
546	S1051	2,62
547	S1339	2,62
548	S1805	2,62
549	S1680	2,62

550	S1363	2,61
551	S1385	2,61
552	S1430	2,61
553	S188	2,6
554	S7	2,6
555	S569	2,6
556	S1349	2,6
557	S316	2,59
558	S551	2,59
559	S1033	2,59
560	S112	2,58
561	S206	2,58
562	S549	2,58
563	S1097	2,58
564	S1447	2,58
565	S203	2,57
566	S538	2,57
567	S445	2,57
568	S475	2,57
569	S530	2,57
570	S561	2,57
571	S639	2,57
572	S867	2,57
573	S1053	2,57
574	S1668	2,57
575	S1055	2,57
576	S1065	2,56
577	S1102	2,56
578	S1285	2,56
579	S1422	2,56
580	S479	2,55
581	S634	2,55
582	S1488	2,55
583	S3	2,54
584	S416	2,54
585	S429	2,54
586	S506	2,54
587	S589	2,54
588	S1048	2,54
589	S1656	2,54
590	S1662	2,54
591	S180	2,53
592	S716	2,53
593	S470	2,53
594	S744	2,53
595	S907	2,53

596	S1362	2,53
597	S1386	2,53
598	S504	2,52
599	S604	2,52
600	S799	2,52
601	S197	2,51
602	S97	2,51
603	S125	2,51
604	S613	2,51
605	S753	2,51
606	S1012	2,51
607	S1365	2,51
608	S1600	2,51
609	S1631	2,51
610	S1585	2,51
611	S210	2,5
612	S1211	2,5
613	S874	2,49
614	S890	2,49
615	S491	2,49
616	S881	2,48
617	S1477	2,48
618	S1714	2,48
619	S1697	2,48
620	S45	2,47
621	S725	2,47
622	S403	2,46
623	S786	2,46
624	S1609	2,46
625	S315	2,45
626	S1049	2,45
627	S1419	2,45
628	S1350	2,45
629	S528	2,44
630	S1758	2,44
631	S1389	2,44
632	S673	2,43
633	S826	2,43
634	S845	2,43
635	S337	2,43
636	S511	2,43
637	S576	2,43
638	S1004	2,43
639	S1201	2,43
640	S1343	2,43
641	S1587	2,43

642	S1791	2,43
643	S1348	2,43
644	S1690	2,43
645	S707	2,42
646	S1183	2,42
647	S148	2,41
648	S914	2,41
649	S1101	2,41
650	S1122	2,41
651	S1818	2,41
652	S1565	2,41
653	S306	2,4
654	S574	2,4
655	S577	2,4
656	S735	2,4
657	S818	2,4
658	S1098	2,4
659	S1492	2,4
660	S1566	2,4
661	S1583	2,4
662	S117	2,39
663	S488	2,39
664	S823	2,39
665	S1175	2,39
666	S1194	2,39
667	S1332	2,39
668	S1040	2,39
669	S1459	2,39
670	S1663	2,39
671	S390	2,38
672	S435	2,38
673	S1504	2,38
674	S1694	2,38
675	S437	2,37
676	S124	2,37
677	S379	2,37
678	S443	2,37
679	S1142	2,37
680	S1356	2,37
681	S1376	2,37
682	S1292	2,37
683	S427	2,36
684	S709	2,36
685	S449	2,36
686	S677	2,36
687	S1064	2,36

688	S1076	2,36
689	S1084	2,36
690	S1410	2,36
691	S1532	2,36
692	S1624	2,36
693	S1675	2,36
694	S1579	2,36
695	S113	2,35
696	S191	2,35
697	S308	2,35
698	S960	2,35
699	S1473	2,35
700	S1760	2,35
701	S1771	2,35
702	S88	2,34
703	S839	2,34
704	S91	2,34
705	S353	2,34
706	S668	2,34
707	S1455	2,34
708	S1635	2,34
709	S1676	2,34
710	S436	2,33
711	S663	2,33
712	S104	2,33
713	S1452	2,33
714	S1627	2,33
715	S161	2,33
716	S22	2,32
717	S76	2,32
718	S122	2,32
719	S772	2,32
720	S1364	2,32
721	S82	2,31
722	S387	2,31
723	S652	2,31
724	S1601	2,31
725	S1708	2,3
726	S1674	2,3
727	S241	2,29
728	S254	2,29
729	S632	2,29
730	S554	2,29
731	S1154	2,29
732	S1544	2,29
733	S1169	2,28

734	S330	2,28
735	S550	2,28
736	S607	2,28
737	S1316	2,28
738	S1688	2,28
739	S200	2,27
740	S35	2,26
741	S299	2,26
742	S848	2,26
743	S158	2,25
744	S87	2,25
745	S1213	2,25
746	S1416	2,25
747	S1599	2,25
748	S1811	2,25
749	S240	2,24
750	S251	2,24
751	S318	2,24
752	S410	2,24
753	S450	2,24
754	S500	2,24
755	S763	2,24
756	S865	2,24
757	S1106	2,24
758	S1507	2,24
759	S952	2,24
760	S1210	2,24
761	S1226	2,24
762	S359	2,23
763	S539	2,23
764	S1074	2,23
765	S1130	2,23
766	S1254	2,23
767	S286	2,22
768	S565	2,22
769	S1001	2,22
770	S1786	2,22
771	S910	2,22
772	S1041	2,22
773	S89	2,21
774	S215	2,21
775	S940	2,21
776	S499	2,21
777	S721	2,21
778	S752	2,21
779	S836	2,21

780	S1810	2,21
781	S176	2,2
782	S33	2,2
783	S417	2,2
784	S783	2,2
785	S1319	2,2
786	S1757	2,2
787	S458	2,19
788	S893	2,19
789	S1182	2,19
790	S1276	2,19
791	S1813	2,19
792	S861	2,19
793	S1498	2,19
794	S441	2,18
795	S165	2,18
796	S790	2,18
797	S1078	2,18
798	S1513	2,18
799	S1772	2,18
800	S943	2,18
801	S1443	2,18
802	S771	2,17
803	S1309	2,17
804	S1752	2,17
805	S942	2,17
806	S75	2,16
807	S423	2,16
808	S171	2,16
809	S956	2,16
810	S1005	2,16
811	S79	2,15
812	S380	2,15
813	S279	2,15
814	S497	2,15
815	S1052	2,15
816	S1384	2,15
817	S1514	2,15
818	S1549	2,15
819	S1646	2,15
820	S1703	2,15
821	S927	2,15
822	S320	2,14
823	S1034	2,14
824	S1141	2,14
825	S1264	2,14

826	S1311	2,14
827	S987	2,14
828	S226	2,13
829	S640	2,13
830	S751	2,13
831	S843	2,13
832	S923	2,13
833	S979	2,13
834	S1131	2,13
835	S220	2,12
836	S120	2,12
837	S164	2,12
838	S553	2,12
839	S621	2,12
840	S1231	2,12
841	S1411	2,12
842	S1466	2,12
843	S1589	2,12
844	S1622	2,12
845	S508	2,11
846	S681	2,11
847	S870	2,11
848	S1497	2,11
849	S1586	2,11
850	S1719	2,11
851	S896	2,1
852	S250	2,1
853	S290	2,1
854	S647	2,1
855	S724	2,1
856	S792	2,1
857	S841	2,1
858	S846	2,1
859	S1179	2,1
860	S1509	2,1
861	S1535	2,1
862	S177	2,09
863	S325	2,09
864	S460	2,09
865	S994	2,09
866	S1281	2,09
867	S1394	2,09
868	S1401	2,09
869	S1626	2,09
870	S1538	2,09
871	S1671	2,09

872	S182	2,08
873	S594	2,08
874	S717	2,08
875	S815	2,08
876	S382	2,08
877	S434	2,08
878	S566	2,08
879	S684	2,08
880	S1373	2,08
881	S207	2,07
882	S483	2,07
883	S1150	2,07
884	S1795	2,07
885	S1068	2,07
886	S108	2,06
887	S556	2,06
888	S875	2,06
889	S1027	2,06
890	S1440	2,06
891	S1062	2,06
892	S139	2,05
893	S229	2,05
894	S397	2,05
895	S720	2,05
896	S819	2,05
897	S1700	2,05
898	S611	2,04
899	S204	2,04
900	S1100	2,04
901	S1501	2,04
902	S1747	2,04
903	S1353	2,04
904	S190	2,03
905	S463	2,03
906	S535	2,03
907	S615	2,03
908	S672	2,03
909	S1465	2,03
910	S1782	2,03
911	S788	2,02
912	S62	2,01
913	S646	2,01
914	S750	2,01
915	S1160	2,01
916	S1187	2,01
917	S1329	2,01

918	S1417	2,01
919	S1431	2,01
920	S1784	2,01
921	S1806	2,01
922	S1660	2
923	S105	1,99
924	S847	1,99
925	S850	1,99
926	S1412	1,99
927	S1448	1,99
928	S1288	1,98
929	S1745	1,98
930	S1776	1,98
931	S630	1,97
932	S857	1,97
933	S110	1,97
934	S455	1,97
935	S650	1,97
936	S732	1,97
937	S925	1,97
938	S1079	1,97
939	S1326	1,97
940	S1446	1,97
941	S1689	1,97
942	S235	1,96
943	S242	1,96
944	S464	1,96
945	S633	1,96
946	S396	1,96
947	S477	1,96
948	S510	1,95
949	S385	1,95
950	S1103	1,95
951	S1261	1,95
952	S38	1,94
953	S698	1,94
954	S682	1,94
955	S782	1,94
956	S1315	1,94
957	S1418	1,94
958	S93	1,93
959	S523	1,93
960	S829	1,93
961	S1195	1,93
962	S1289	1,93
963	S924	1,92

964	S1221	1,92
965	S1280	1,92
966	S121	1,91
967	S189	1,91
968	S257	1,91
969	S370	1,91
970	S317	1,91
971	S381	1,91
972	S465	1,91
973	S674	1,91
974	S768	1,91
975	S1013	1,91
976	S1686	1,91
977	S1727	1,91
978	S102	1,9
979	S754	1,9
980	S1095	1,9
981	S1310	1,9
982	S1629	1,9
983	S1667	1,9
984	S1794	1,9
985	S292	1,89
986	S457	1,89
987	S552	1,89
988	S653	1,89
989	S659	1,89
990	S789	1,89
991	S1619	1,89
992	S1038	1,88
993	S1081	1,88
994	S1159	1,88
995	S1371	1,88
996	S1444	1,88
997	S1615	1,88
998	S1679	1,88
999	S311	1,87
1000	S804	1,87
1001	S503	1,87
1002	S831	1,87
1003	S1134	1,87
1004	S1245	1,87
1005	S1603	1,87
1006	S174	1,86
1007	S651	1,86
1008	S986	1,86
1009	S1000	1,86

1010	S114	1,85
1011	S78	1,85
1012	S265	1,85
1013	S302	1,85
1014	S822	1,85
1015	S1602	1,85
1016	S119	1,84
1017	S736	1,84
1018	S614	1,84
1019	S820	1,84
1020	S1424	1,84
1021	S1517	1,84
1022	S1616	1,84
1023	S1769	1,84
1024	S1192	1,84
1025	S74	1,83
1026	S348	1,83
1027	S1011	1,83
1028	S1086	1,83
1029	S1133	1,83
1030	S1177	1,83
1031	S1677	1,83
1032	S329	1,82
1033	S392	1,82
1034	S428	1,82
1035	S657	1,82
1036	S920	1,82
1037	S1109	1,82
1038	S1493	1,82
1039	S1258	1,82
1040	S1571	1,82
1041	S1578	1,82
1042	S1753	1,82
1043	S25	1,81
1044	S426	1,81
1045	S691	1,81
1046	S1218	1,81
1047	S1661	1,81
1048	S1265	1,81
1049	S8	1,8
1050	S404	1,8
1051	S618	1,8
1052	S671	1,8
1053	S824	1,8
1054	S1050	1,8
1055	S1478	1,8

1056	S1503	1,8
1057	S27	1,79
1058	S1792	1,79
1059	S1047	1,79
1060	S575	1,78
1061	S906	1,78
1062	S420	1,78
1063	S917	1,78
1064	S1082	1,78
1065	S1212	1,78
1066	S658	1,77
1067	S608	1,76
1068	S1282	1,76
1069	S1519	1,76
1070	S1709	1,76
1071	S448	1,75
1072	S1608	1,75
1073	S1659	1,75
1074	S1536	1,75
1075	S1593	1,75
1076	S742	1,74
1077	S746	1,74
1078	S785	1,74
1079	S1693	1,74
1080	S34	1,73
1081	S342	1,73
1082	S685	1,73
1083	S996	1,73
1084	S363	1,73
1085	S1537	1,73
1086	S409	1,72
1087	S12	1,72
1088	S46	1,72
1089	S1104	1,72
1090	S1337	1,72
1091	S1259	1,72
1092	S1554	1,72
1093	S1570	1,72
1094	S346	1,71
1095	S728	1,71
1096	S794	1,71
1097	S1073	1,71
1098	S340	1,7
1099	S878	1,7
1100	S745	1,7
1101	S787	1,7

1102	S1018	1,7
1103	S1112	1,7
1104	S1277	1,7
1105	S1390	1,7
1106	S1710	1,7
1107	S1588	1,7
1108	S364	1,69
1109	S769	1,69
1110	S1405	1,69
1111	S1526	1,69
1112	S321	1,68
1113	S835	1,68
1114	S1644	1,68
1115	S263	1,67
1116	S272	1,67
1117	S793	1,67
1118	S949	1,67
1119	S999	1,67
1120	S1374	1,67
1121	S884	1,67
1122	S1699	1,67
1123	S94	1,66
1124	S812	1,66
1125	S1156	1,66
1126	S1744	1,66
1127	S1777	1,66
1128	S1352	1,66
1129	S926	1,65
1130	S1402	1,65
1131	S1540	1,65
1132	S1691	1,65
1133	S678	1,65
1134	S1262	1,65
1135	S103	1,64
1136	S295	1,64
1137	S327	1,64
1138	S703	1,64
1139	S1474	1,64
1140	S132	1,63
1141	S305	1,63
1142	S545	1,63
1143	S817	1,63
1144	S834	1,63
1145	S291	1,63
1146	S1334	1,63
1147	S1552	1,63

1148	S10	1,62
1149	S163	1,62
1150	S502	1,62
1151	S1434	1,62
1152	S1611	1,62
1153	S173	1,61
1154	S227	1,61
1155	S1290	1,61
1156	S1768	1,61
1157	S26	1,6
1158	S704	1,6
1159	S780	1,6
1160	S912	1,6
1161	S1633	1,6
1162	S662	1,59
1163	S849	1,59
1164	S1121	1,59
1165	S1189	1,59
1166	S505	1,58
1167	S1613	1,58
1168	S1655	1,58
1169	S343	1,57
1170	S656	1,57
1171	S214	1,57
1172	S335	1,57
1173	S486	1,57
1174	S718	1,57
1175	S978	1,57
1176	S1770	1,57
1177	S1553	1,57
1178	S1614	1,57
1179	S374	1,56
1180	S624	1,56
1181	S1008	1,56
1182	S1240	1,56
1183	S1807	1,56
1184	S126	1,55
1185	S212	1,55
1186	S1748	1,55
1187	S170	1,54
1188	S1089	1,54
1189	S1135	1,54
1190	S1239	1,53
1191	S17	1,52
1192	S127	1,52
1193	S367	1,52

1194	S629	1,52
1195	S1378	1,52
1196	S1759	1,52
1197	S258	1,51
1198	S692	1,51
1199	S1728	1,51
1200	S1355	1,51
1201	S14	1,5
1202	S230	1,5
1203	S452	1,5
1204	S493	1,5
1205	S729	1,5
1206	S1144	1,5
1207	S1618	1,5
1208	S1746	1,5
1209	S371	1,49
1210	S864	1,49
1211	S224	1,49
1212	S1191	1,49
1213	S1425	1,49
1214	S1461	1,49
1215	S1816	1,49
1216	S365	1,48
1217	S1105	1,48
1218	S1500	1,48
1219	S375	1,47
1220	S791	1,47
1221	S860	1,47
1222	S937	1,47
1223	S1096	1,47
1224	S1140	1,47
1225	S1793	1,47
1226	S1039	1,47
1227	S563	1,46
1228	S670	1,46
1229	S1022	1,46
1230	S1317	1,46
1231	S1383	1,46
1232	S1764	1,46
1233	S1272	1,46
1234	S234	1,45
1235	S887	1,45
1236	S1224	1,45
1237	S1346	1,45
1238	S610	1,44
1239	S1284	1,44

1240	S982	1,44
1241	S1367	1,44
1242	S1534	1,44
1243	S391	1,43
1244	S998	1,43
1245	S1020	1,43
1246	S869	1,42
1247	S243	1,41
1248	S959	1,41
1249	S1342	1,41
1250	S1359	1,41
1251	S1338	1,4
1252	S1754	1,4
1253	S106	1,39
1254	S466	1,39
1255	S828	1,39
1256	S933	1,39
1257	S1817	1,39
1258	S393	1,38
1259	S708	1,38
1260	S1423	1,38
1261	S1508	1,38
1262	S249	1,37
1263	S424	1,37
1264	S664	1,37
1265	S1174	1,37
1266	S61	1,36
1267	S484	1,36
1268	S418	1,36
1269	S1030	1,36
1270	S43	1,35
1271	S609	1,35
1272	S388	1,35
1273	S129	1,34
1274	S626	1,34
1275	S689	1,34
1276	S873	1,34
1277	S1132	1,34
1278	S1153	1,34
1279	S1178	1,34
1280	S1341	1,34
1281	S1388	1,34
1282	S1524	1,34
1283	S1632	1,34
1284	S619	1,33
1285	S395	1,33

1286	S797	1,32
1287	S971	1,32
1288	S1779	1,32
1289	S1375	1,32
1290	S1742	1,32
1291	S109	1,31
1292	S501	1,31
1293	S1765	1,31
1294	S1804	1,31
1295	S1045	1,31
1296	S398	1,3
1297	S468	1,3
1298	S1331	1,3
1299	S1801	1,3
1300	S213	1,3
1301	S1036	1,29
1302	S1115	1,29
1303	S1610	1,29
1304	S1715	1,29
1305	S637	1,28
1306	S969	1,28
1307	S638	1,27
1308	S1147	1,27
1309	S1595	1,27
1310	S1778	1,27
1311	S1413	1,26
1312	S222	1,26
1313	S208	1,25
1314	S255	1,25
1315	S1139	1,25
1316	S1716	1,25
1317	S492	1,24
1318	S911	1,24
1319	S1260	1,24
1320	S863	1,24
1321	S275	1,23
1322	S623	1,23
1323	S854	1,23
1324	S1266	1,23
1325	S1275	1,23
1326	S1382	1,23
1327	S29	1,22
1328	S294	1,22
1329	S931	1,22
1330	S1250	1,22
1331	S1312	1,22

1332	S326	1,21
1333	S1594	1,21
1334	S1684	1,21
1335	S270	1,2
1336	S261	1,2
1337	S1724	1,2
1338	S96	1,19
1339	S660	1,19
1340	S683	1,19
1341	S1016	1,19
1342	S1814	1,19
1343	S1380	1,19
1344	S90	1,18
1345	S1486	1,18
1346	S2	1,17
1347	S1307	1,17
1348	S1054	1,16
1349	S1606	1,16
1350	S44	1,15
1351	S655	1,15
1352	S487	1,15
1353	S883	1,15
1354	S236	1,14
1355	S1242	1,14
1356	S1654	1,14
1357	S172	1,13
1358	S333	1,13
1359	S1407	1,13
1360	S1523	1,13
1361	S368	1,12
1362	S636	1,12
1363	S665	1,12
1364	S699	1,12
1365	S339	1,11
1366	S1067	1,11
1367	S1219	1,1
1368	S1287	1,1
1369	S1014	1,09
1370	S1214	1,09
1371	S1730	1,09
1372	S1809	1,09
1373	S118	1,08
1374	S851	1,08
1375	S1398	1,08
1376	S194	1,07
1377	S980	1,07

1378	S372	1,06
1379	S547	1,06
1380	S1596	1,06
1381	S37	1,05
1382	S1308	1,05
1383	S1502	1,05
1384	S1729	1,05
1385	S1692	1,05
1386	S480	1,04
1387	S676	1,03
1388	S1645	1,03
1389	S1128	1,02
1390	S1347	1,02
1391	S1420	1,02
1392	S876	1,02
1393	S303	1,01
1394	S18	1,01
1395	S1244	1,01
1396	S1248	1,01
1397	S130	1
1398	S331	1
1399	S997	1
1400	S1736	1
1401	S1028	0,99
1402	S1439	0,99
1403	S1441	0,99
1404	S1799	0,99
1405	S225	0,98
1406	S358	0,98
1407	S533	0,98
1408	S693	0,98
1409	S1061	0,98
1410	S1426	0,97
1411	S1607	0,97
1412	S1476	0,97
1413	S568	0,96
1414	S730	0,96
1415	S1559	0,96
1416	S209	0,95
1417	S1207	0,95
1418	S1279	0,95
1419	S1406	0,95
1420	S1199	0,95
1421	S289	0,94
1422	S51	0,94
1423	S394	0,94

1424	S356	0,93
1425	S53	0,93
1426	S605	0,93
1427	S1808	0,93
1428	S13	0,92
1429	S898	0,91
1430	S1653	0,91
1431	S116	0,89
1432	S1484	0,89
1433	S323	0,88
1434	S1060	0,88
1435	S1129	0,88
1436	S1545	0,88
1437	S975	0,87
1438	S1057	0,87
1439	S1580	0,87
1440	S221	0,86
1441	S1366	0,86
1442	S1127	0,85
1443	S1718	0,85
1444	S1328	0,85
1445	S542	0,83
1446	S564	0,83
1447	S1176	0,83
1448	S1271	0,83
1449	S1278	0,83
1450	S1798	0,83
1451	S585	0,81
1452	S915	0,8
1453	S950	0,78
1454	S1669	0,78
1455	S821	0,77
1456	S838	0,77
1457	S57	0,76
1458	S524	0,76
1459	S1725	0,76
1460	S1767	0,74
1461	S439	0,73
1462	S1297	0,73
1463	S296	0,72
1464	S1077	0,72
1465	S1286	0,72
1466	S1136	0,71
1467	S1780	0,71
1468	S211	0,7
1469	S1435	0,68

1470	S584	0,67
1471	S976	0,67
1472	S1017	0,67
1473	S1243	0,67
1474	S1238	0,66
1475	S1450	0,66
1476	S642	0,65
1477	S775	0,65
1478	S522	0,64
1479	S336	0,63
1480	S355	0,63
1481	S267	0,61
1482	S814	0,61
1483	S49	0,6
1484	S414	0,6
1485	S1306	0,59
1486	S237	0,57
1487	S482	0,54
1488	S1256	0,54
1489	S688	0,53
1490	S1732	0,53
1491	S738	0,52
1492	S1533	0,52
1493	S1456	0,51
1494	S476	0,49
1495	S546	0,49
1496	S687	0,49
1497	S1263	0,47
1498	S1796	0,45
1499	S1802	0,45
1500	S1743	0,45
1501	S1604	0,44
1502	S469	0,43
1503	S1340	0,42
1504	S543	0,41
1505	S833	0,41
1506	S1433	0,41
1507	S48	0,39
1508	S162	0,38
1509	S868	0,38
1510	S1293	0,37
1511	S1165	0,36
1512	S1528	0,36
1513	S756	0,34
1514	S1170	0,34
1515	S496	0,32

1516	S1161	0,32
1517	S877	0,31
1518	S219	0,31
1519	S1731	0,31
1520	S739	0,31
1521	S1358	0,31
1522	S81	0,3
1523	S411	0,3
1524	S1116	0,3
1525	S853	0,28
1526	S701	0,26
1527	S905	0,26
1528	S147	0,25
1529	S527	0,25
1530	S1574	0,24
1531	S144	0,22
1532	S1021	0,22
1533	S1171	0,22
1534	S199	0,18
1535	S795	0,18
1536	S595	0,17
1537	S52	0,16
1538	S55	0,16
1539	S1025	0,16
1540	S467	0,14
1541	S694	0,13
1542	S661	0,12
1543	S749	0,12
1544	S345	0,09
1545	S1318	0,06
1546	S1442	0,06
1547	S1125	0,05
1548	S723	0,04
1549	S1726	0,04
1550	S264	0,02
1551	S1471	0,01
1552	S141	0
1553	S433	0
1554	S1472	-0,02
1555	S273	-0,04
1556	S686	-0,04
1557	S1056	-0,05
1558	S42	-0,07
1559	S908	-0,07
1560	S481	-0,08
1561	S495	-0,08

1562	SS936	-0,08
1563	S1598	-0,08
1564	S1733	-0,09
1565	S764	-0,1
1566	S1066	-0,1
1567	S741	-0,11
1568	S1576	-0,11
1569	S810	-0,12
1570	S1591	-0,13
1571	S1569	-0,15
1572	S1193	-0,15
1573	S1313	-0,16
1574	S361	-0,19
1575	S702	-0,19
1576	S1575	-0,19
1577	S856	-0,21
1578	S1650	-0,23
1579	S20	-0,23
1580	S1734	-0,26
1581	S195	-0,28
1582	S86	-0,28
1583	S1197	-0,28
1584	S1515	-0,28
1585	S24	-0,29
1586	S196	-0,3
1587	S1436	-0,3
1588	S1291	-0,3
1589	S1556	-0,32
1590	S278	-0,34
1591	S1541	-0,34
1592	S41	-0,37
1593	S287	-0,39
1594	S807	-0,43
1595	S1173	-0,45
1596	S498	-0,46
1597	S1539	-0,47
1598	S544	-0,49
1599	S696	-0,5
1600	S1391	-0,51
1601	S1652	-0,51
1602	S1612	-0,53
1603	S1252	-0,53
1604	S400	-0,55
1605	S1302	-0,57
1606	S690	-0,58
1607	S935	-0,61

1608	S156	-0,62
1609	S150	-0,63
1610	S217	-0,63
1611	S4	-0,64
1612	S1628	-0,66
1613	S1590	-0,66
1614	S1581	-0,67
1615	S1683	-0,67
1616	S1167	-0,67
1617	S262	-0,68
1618	S1206	-0,68
1619	S253	-0,73
1620	S54	-0,79
1621	S1172	-0,81
1622	S719	-0,86
1623	S1712	-0,87
1624	S1577	-0,9
1625	S977	-0,91
1626	S1269	-0,91
1627	S324	-0,93
1628	S593	-0,94
1629	S1582	-0,96
1630	S932	-0,96
1631	S1023	-0,96
1632	S140	-0,97
1633	S1672	-0,97
1634	S934	-1,04
1635	S1395	-1,05
1636	S1026	-1,05
1637	S1494	-1,1
1638	S712	-1,11
1639	S1428	-1,12
1640	S360	-1,15
1641	S32	-1,16
1642	S1781	-1,16
1643	S1268	-1,19
1644	S56	-1,2
1645	S700	-1,21
1646	S1666	-1,21
1647	S777	-1,22
1648	S19	-1,28
1649	S526	-1,29
1650	S1617	-1,29
1651	S507	-1,3
1652	S1227	-1,35
1653	SS1360	-1,35

1654	S1283	-1,36
1655	S578	-1,38
1656	S461	-1,46
1657	S1208	-1,46
1658	S1267	-1,46
1659	S198	-1,48
1660	S1151	-1,49
1661	S1740	-1,5
1662	S601	-1,5
1663	S1361	-1,51
1664	S354	-1,54
1665	S913	-1,54
1666	S260	-1,55
1667	S256	-1,56
1668	S1651	-1,57
1669	S1229	-1,57
1670	S816	-1,59
1671	S1058	-1,64
1672	S193	-1,7
1673	S879	-1,72
1674	S1453	-1,74
1675	S95	-1,74
1676	S1561	-1,84
1677	S1527	-1,85
1678	S40	-1,86
1679	S1198	-1,89
1680	S1	-1,92
1681	S494	-1,97
1682	SS192	-2
1683	S432	-2,02
1684	S1270	-2,03
1685	S928	-2,08
1686	S31	-2,1
1687	S1485	-2,1
1688	S1665	-2,13
1689	S1230	-2,15
1690	S83	-2,15
1691	S598	-2,21
1692	S762	-2,21
1693	S1273	-2,21
1694	S1558	-2,21
1695	S695	-2,25
1696	S1701	-2,26
1697	S1215	-2,28
1698	S1511	-2,28
1699	S903	-2,39

1700	S1019	-2,39
1701	S1458	-2,41
1702	S1377	-2,42
1703	S760	-2,49
1704	S880	-2,54
1705	S15	-2,55
1706	S1698	-2,55
1707	S216	-2,69
1708	S1255	-2,71
1709	S1228	-2,96
1710	S755	-2,97
1711	S895	-2,98
1712	S142	-3,11
1713	S248	-3,14
1714	S1454	-3,19
1715	S30	-3,36
1716	S1392	-3,39
1717	S280	-3,4
1718	S901	-3,48
1719	S796	-3,51
1720	S271	-3,51
1721	S1044	-3,51
1722	S85	-3,65
1723	S592	-3,73
1724	S885	-3,78
1725	S1737	-3,79
1726	S596	-3,8
1727	S1557	-3,8
1728	S459	-3,85
1729	S1706	-3,9
1730	S586	-3,92
1731	S1542	-3,96
1732	S1024	-4,03
1733	S1075	-4,07
1734	S900	-4,08
1735	S153	-4,09
1736	S740	-4,17
1737	S233	-4,26
1738	S259	-4,29
1739	S1202	-4,33
1740	S844	-4,4
1741	S1572	-4,43
1742	S1320	-4,5
1743	S341	-4,77
1744	S606	-4,99
1745	S266	-5,12

1746	S1648	-5,25
1747	S600	-5,39
1748	S1003	-5,43
1749	S889	-5,43
1750	S143	-5,44
1751	S1605	-5,53
1752	S1152	-5,62
1753	S277	-5,79
1754	S36	-5,9
1755	S541	-5,97
1756	S761	-6,1
1757	S152	-6,16
1758	S957	-6,26
1759	S891	-6,53
1760	S80	-6,57
1761	S599	-6,72
1762	S1166	-7,25
1763	S1815	-7,37
1764	S711	-7,41
1765	S276	-7,56
1766	S955	-7,72
1767	S710	-7,86
1768	S155	-7,95
1769	S902	-8,04
1770	S770	-9,21
1771	S154	-9,32
1772	S722	-9,5
1773	S401	-9,52
1774	S1200	-9,77
1775	S1457	-10,93
1776	S1163	-11,12
1777	S268	-11,13
1778	S1738	-11,25
1779	SS66	-11,32
1780	S1741	-11,52
1781	S1164	-11,92
1782	S1216	-13
1783	S894	-13,87
1784	S72	-16,2
1785	S1739	-16,25
1786	S269	-16,88
1787	S39	-17,01
1788	S602	-17,03
1789	S149	-17,65
1790	S1562	-18,13
1791	S231	-18,28

1792	S1162	-25,16
1793	S69	-26,51
1794	S1463	-27,04
1795	S1137	-28,11
1796	S747	-28,41
1797	S67	-29,56
1798	S71	-31,35
1799	S1649	-32,65
1800	S218	-33,61
1801	S70	-41,72
1802	S680	-43,01
1803	S146	-44,49
1804	S145	-48,36
1805	S1641	-52,17
1806	S247	-55,39
1807	S1381	-103,93
1808	S904	-944,65
1809	S68	-964,02
1810	S919	-9496,47
1811	S490	-20794,05
1812	S1233	-21763,61
1813	S11	-25824,33
1814	S5	-30246,2
1815	S1774	-30261
1816	S151	-33080,25



RÉSUMÉ



Résumé

Le docking moléculaire est une approche qui permet de prédire les interactions entre un ou plusieurs ligands à l'égard d'une cible thérapeutique donnée. Dans notre travail, nous avons utilisé le programme Surflex-Dock afin de rechercher de nouveaux inhibiteurs naturels plus puissants que l'énalapril, qu'ils inhibent l'enzyme de conversion de l'angiotensine, une cible thérapeutique pour le traitement de l'hypertension artérielle. Le criblage virtuel d'une collection de 1871 composés naturels issus de la chimiothèque « *East African Natural Products Database* » fait ressortir les composés **S697**, **S451** et **S1251** comme meilleurs inhibiteurs potentiels de l'ECA avec des scores respectifs de 6.02, 5.85 et 5.57 M⁻¹. L'étude prédictive des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques nous renseigne de manière positive sur le profil ADME de ces composés qui peuvent être proposés comme nouveaux inhibiteurs de cette enzyme.

Mots clés: Docking, Surflex, Inhibiteur, ECA, ADME.

Abstract

Molecular docking is an approach for predicting the interactions of one or more ligands with a given therapeutic target. In our work, we used the Surflex program to search for new natural inhibitors more potent than enalapril, that inhibit angiotensin-converting enzyme, a therapeutic target for the treatment of arterial hypertension. Virtual screening of a collection of 1871 natural compounds from the East African Natural Products Database highlighted compounds **S697**, **S451** and **S1251** as the best potential ACE inhibitors, with scores of 6.02, 5.85 and 5.57 M⁻¹ respectively. The predictive study of physicochemical and pharmacokinetic properties provides positive information on the ADME profile of these compounds, which may be proposed as new inhibitors of this enzyme.

Key words: Docking, Surflex, Inhibitor, ECA, ADME.

المخلص

الإرساء الجزئي هو نهج للتنبؤ بالتفاعلات بين واحد أو أكثر من الروابط فيما يتعلق بهدف علاجي معين. في عملنا، استخدمنا برنامج سيرفليكس للبحث عن مثبطات طبيعية جديدة أكثر فعالية من إنالابريل، والتي تثبط الإنزيم المحول للأنجيوتنسين، وهو هدف علاجي لعلاج ارتفاع ضغط الدم الشرياني. أبرز الفحص الظاهري لمجموعة من 1871 مركبًا طبيعيًا من قاعدة بيانات المنتجات الطبيعية في شرق أفريقيا المركبات S697 و S451 و S1251 كأفضل مثبطات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين المحتملة، بدرجات 6.02 و 5.85 و 5.57 م-1 على التوالي. وتوفر الدراسة التنبؤية للخصائص الفيزيائية الكيميائية والدوائية معلومات إيجابية عن خصائص الإنزيم المحول للأنجيوتنسين المحول للأنجيوتنسين في الدم (ADME) لهذه المركبات، والتي يمكن اقتراحها كمثبطات جديدة لهذا الإنزيم.

الكلمات المفتاحية: الالتحام، سيرفليكس، مثبط، ECA، ADME.

Année universitaire : 2023-2024	Présenté par : BOUCHENOUNE Dounia SOUILAH Meroua Nihad
Recherche <i>in silico</i> de nouveaux inhibiteurs naturels de l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine pour le traitement de l'hypertension artérielle	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée.	
<p>Résumé</p> <p>Le docking moléculaire est une approche qui permet de prédire les interactions entre un ou plusieurs ligands à l'égard d'une cible thérapeutique donnée. Dans notre travail, nous avons utilisé le programme Surflex-Dock afin de rechercher de nouveaux inhibiteurs naturels plus puissants que l'énalapril, qu'ils inhibent l'enzyme de conversion de l'angiotensine, une cible thérapeutique pour le traitement de l'hypertension artérielle. Le criblage virtuel d'une collection de 1871 composés naturels issus de la chimiothèque « <i>East African Natural Products Database</i> » fait ressortir les composés S697, S451 et S1251 comme meilleurs inhibiteurs potentiels de l'ECA avec des scores respectifs de 6.02, 5.85 et 5.57 M⁻¹. L'étude prédictive des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques nous renseigne de manière positive sur le profil ADME de ces composés qui peuvent être proposés comme nouveaux inhibiteurs de cette enzyme.</p>	
Mots-clefs : Docking, Surflex, Inhibiteur, ECA, ADME.	
<p>Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie Appliquée (Université Constantine 1-Frères Mentouri).</p>	
Président du jury : Mme GUENDOUZE Assia . (MCB- Université Constantine 1-Frères Mentouri).	
Encadrant : Mr MOKRANI El Hassen (MCA - Université Constantine 1-Frères Mentouri).	
Examinatrice : Mme DEMMAK Rym Gouta (MCA - Université Constantine 3-Salah Boubnider).	