



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 de 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:

**Développement *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la GABA aminotransférase
Par docking moléculaire pour le traitement de la maladie d'épilepsie.**

Présenté par : BOUTEFNOUCHE Radja

Le 24/06/2025

MENNOUR Zahra Nour

Jury d'évaluation :

Président du jury : M^{me} GUENDOUZE A. (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrante : M^{me} TENIOU S. (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinatrice : M^{me} DEMMAK R.G. (MCA- U Constantine 3 Salah Bounbider).

Année universitaire

2024 - 2025

Remerciements

Tout d'abord merci beaucoup dieu de nous donner la patience et la force et le courage pour compléter ce travail.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à Madame TENIOU S., Maître de Conférences B à l'Université Frères Mentouri - Constantine -1, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, ses précieux conseils, ainsi que ses remarques constructives qui ont permis d'améliorer ce travail.

Nous exprimons ici notre profonde gratitude et nos sentiments de respect à Madame QUENDOUZE A., Maître de Conférences A à l'Université Frères Mentouri - Constantine 1, c'est un honneur pour nous qu'il préside ce jury.

Nous adressons également tous nos remerciements à Madame DEMMAK R.G, Maître de Conférences B à l'Université Frères Mentouri - Constantine 1, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce travail.

Nous tenons à lui exprimer notre gratitude et notre profond respect.

Nous tenons aussi à remercier tous les enseignants qui nous ont transmis notre savoir actuel tout au long de notre cursus

Dédicace



A ceux qui, après dieu, ont contribué à mon existence, à mon éducation et

À mon éducation...

À ceux qui sont restés éveillés pour moi et qui ont enduré la douleur pour que je puisse être qui je

Suis aujourd'hui...

À ceux qui m'ont inculqué la morale, l'honnêteté et la persévérance, et m'ont appris à être patient pour réussir...

À qui, peu importe le nombre de mots que j'écris et peu importe à quel point j'exprime mes sentiments,

Ils ne recevront jamais ce qui leur est dû

À un homme exceptionnel et spécial dans ma vie mon cher père **SAMIR**

Et à la lumière et symbole de la vie, à la source de tendresse ma mère bien-aimée **SOUFIA**

Je dédie cet humble ouvrage, en signe d'amour et de gratitude, et en prière constante pour que Dieu

vous protège Tous les deux et m'accorde vos bénédictions et votre contentement

A mon bras droit et mon seul frère **ABDRAHMANE** qui m'encourage et toujours disponible pour moi

A ma étoile brillante, ma petite sœur **SALSABIL** pour leurs motivations et leur amour

Je leur souhaite un avenir plein de bonté et de succès

À ma collègue dans cette entreprise **RADJA**, celui qui a fait preuve de détermination et de persévérance,

qui a accompli cet effort vous avez toute ma reconnaissance et mon respect.

A ma famille en particulier, ma grand mère, **KHALOU ADEL** et **Bilel**, MA TANTE **Nadia**,

qui sont toujours Présents dans mes périodes difficiles

ZAHRA NOUR

A toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de

Ce mémoire A mes enseignants et mes collègues.

Merci énormément





Dédicace

"Louange à Allah qui a complété sur nous Sa grâce et nous a soutenus jusqu'à ce que nous atteignions ce moment grandiose."

Je tien à exprimer toute ma reconnaissance à mon encadreur de mémoire Dr **M^{me} TENIOU S.** Je la remercie de m'avoir encadré, orienté aidé et conseillé.

A ma mère : Fatima

À mon ange pur et ma force après Dieu, ma première et éternelle soutien, je te dédie cet accomplissement qui, sans tes sacrifices, n'aurait jamais vu le jour. Je suis reconnaissante que Dieu t'a choisie pour être ma mère, toi le meilleur soutien et la meilleure compensation.

A mon père : Houssine

À celui qui a consacré sa vie pour moi et dont les prières étaient une lumière éclairant mon chemin, mon amie et guide qui m'a soutenue sans limites et m'a donné sans rien attendre en retour.

A mes frères A et mes sœurs

Grand merci pour tout ce que vous avez fait pour moi, vos soutiens et encouragements ne m'ont pas manqué.

À tous ceux qui se sont réjouis de ma réussite et qui ont été d'une aide précieuse, à ma compagne de ce parcours, "**Zahra Nour**", je vous remercie infiniment et je demande à Dieu de vous récompenser avec la meilleure des récompenses.

Et enfin, à moi-même, qui a affronté les défis et surmonté les obstacles, moi qui n'ai jamais abandonné et qui ai continué à battre pour réaliser mes rêves. Merci pour chaque moment de fatigue, chaque heure de veille, chaque effort fourni et chaque objectif atteint.

RADJA



SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : L'épilepsie

1. Historique	3
2. Généralités	3
3. Epidémiologie	3
4. Symptômes de l'épilepsie	4
5. Causes de l'épilepsie	4
5.1 Cause génétique	4
5.2 Causes infectieuses	5
5.3 Causes métaboliques	5
5.4 Des Epilepsies auto-immunes	5
6. Types et classification d'épilepsie	6
6.1 Crises d'épilepsie partielles	6
6.2 Crises d'épilepsie généralisées	6
6.2.1 Généralisé non motrice	6
6.2.2 Généralisé motrice	7
7. Démarche suivre à une crise d'épilepsie	7
8. Phénomènes physiologiques dans le cerveau lors d'une crise d'épilepsie	8
9. Diagnostic d'épilepsie	8

10.Traitement.....	10
11. Médicaments contre l'épilepsie.....	10
11.1 Antiépileptiques anciens ou de première génération	10
11.2 Antiépileptiques nouveaux ou de deuxième génération	10

CHAPITRE 2 : GABA AMINOTRANSFÉRASE

1. Généralités	12
2. Nomenclature et classification	12
3. Structure de la protéine GABA-AT	12
3.1 Site de liaison actif	13
4. Rôle de GABA transaminase.....	14
5. Gene de GABA transaminase.....	14
6. Activation et Régulation	15
6.1 Mécanisme d'action du GABA-AT.....	15
7. Fonction moléculaire du gène GABA transaminase	16

CHAPITRE 3 : Le Docking Moléculaire

1. Généralités	18
2. Docking Moléculaire	18
2.1 Docking	18
2.2 Scoring.....	18
3. Types de docking	19
a.Docking rigide	19
b. Docking semi-flexible	19
c. Docking flexible	20
4. Outils du docking moléculaire	20
4.1 Récepteur.....	20
4.2 Ligands (chimiothèques)	20
4.3 Programmes du docking	21
5. Surflex-Dock	21

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE 4 : Matériel et Méthodes

I. Matériel	23
I.1 Microordinateur	23
I.2 Programmes	23
1.2.1 Surflex	24
1.2.2 Biovia Discovery Studio Visualizer	24
1.2.3 PDB baser v 2.0	24
1.2.4 OpenBabel	25
1.2.5 Microsoft Excel	25
1.2.6 ADMETlab 3.0	25
1.2.7 Banques de données	26
1.2.7.1 Protein Data Bank (PDB)	26
1.2.7.2 PubChem	26
II. Méthodes	26
1. Test de fiabilité	27
1.1 Écart quadratique moyen	27
1.2 Analyse visuelle de la superposition	27
1.3 Coefficient de corrélation linéaire (r)	27
2. Préparation des molécules pour le docking moléculaire	28
2.1. Préparation de l'enzyme (récepteur)	28
2.2 Préparation des ligands	29
2.3. Docking moléculaire par Surflex	29
2.4 Recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques	30
2.5 Analyse visuelle de l'interaction	30
2.6 Propriétés ADMET	30
2.6.1 Propriétés physicochimiques	30

2.6.2 Propriétés pharmacocinétiques	32
2.6.3 Tests de toxicité	33

CHAPITRE 5 : Résultats et Discussion

1. Test de fiabilité.....	35
1.1 RMSD.....	35
1.2 Analyse visuelle.....	36
1.3 Coefficient de corrélation (r)	37
2. Etude et recherche de nouveaux inhibiteurs de la 5BWV	40
2.1 Criblage virtuel des similaires	40
3. L'analyse visuelle et discussion des interactions	41
4.Comparaison de l'effet inhibiteur des meilleurs inhibiteurs de GABA_AT	45
5. Filtrage ADMET des meilleurs inhibiteurs	47
5.1. Propriétés physico-chimiques.....	47
5.2. Propriétés pharmacocinétiques	48
5.3. Toxicité	50
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	52
LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

ANNEXES

Résumé

Liste des figures :

Figure 1: Différences d'ondes EEG entre un sujet sain et un patient épileptique.....	9
Figure 2: IMAGE D'irm cérébral pour le diagnostic de la maladie d'épilepsie.....	9
Figure 3: Chronologie de la découverte des médicaments.....	11
Figure 4: (A) La structure 3D de la protéine GABA-AT	13
Figure 5: La structure complète du GABA-AT est représentée dans le texte, avec le site de liaison à gauche, la structure entière de la protéine en orange, la surface de liaison en bleu et les résidus du site actif en rouge.	13
Figure 6: La localisation du gène de GABA aminotransférase.	15
Figure 7: Le mécanisme d'action du GABA-AT.	16
Figure 8: Principe d'une simulation par Docking moléculaire [34].	19
Figure 9: Concept clé-serrure [34].	19
Figure 10: Présentation visuelle du logiciel PDB baser.	25
Figure 11: Structure 3D du complexe 5BWV.....	29
Figure 12: Représentation graphique des pourcentages de RMSD obtenus par Surflex sur 100 complexes protéine-ligand.	36
Figure 13: Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en vert) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en rose) du complexe 5BWV (RMSD = 1.252 Å).	36
Figure 14: Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en vert) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en rose) du complexe 4JTZ (RMSD = 1,951Å).	37
Figure 15: Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en vert) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en rose) du complexe 1AIM (RMSD = 3,512Å).	37
Figure 16: Corrélation entre logIC ₅₀ et les affinités calculée par Surflex des 31 complexes choisis.	39
Figure 17 : Représentation 2D du mode d'interaction de Ligand de référence (775) avec le site actif de la 5BWV	42
Figure 18 : Représentation en 2D des interactions de S47 avec le site actif de 5BWV	43
Figure 19 : Représentation en 2D des interactions de S37 avec le site actif de 5BWV ₂	44
Figure 20 : Représentation en 2D des interactions de S13 avec le site actif de 5BWV ₂	45

Liste des tableaux :

Tableau 1: Les Principaux programmes de docking moléculaire	21
Tableau 2: Les micro-ordinateurs utilisés et leurs caractéristiques.....	23
Tableau 3: Principales caractéristiques du complexe 5BWV.	28
Tableau 4: Les affinités des 31 inhibiteurs de la GABA _A AT, leurs IC ₅₀ et Log IC ₅₀	38
Tableau 5: Le ligand de référence et les 3 meilleurs similaires, leurs affinités et leurs structures :.....	41
Tableau 6: Tableau récapitulatif score et de nombre des interactions du 775, S ₄₇ , S ₃₇ , S ₁₃	46
Tableau 7: Propriétés physico-chimiques de ligand de référence et des trois meilleurs similaires	47
Tableau 8 : Propriétés pharmacocinétiques de ligand de référence et des meilleurs similaires à partir de serveurs ADMETlab 3.0.	49
Tableau 9 : Toxicité potentielle de ligand de référence et des trois meilleurs similaires à partir de serveurs ADMETlab 3.0.	50

Liste des abréviations

2D : deux dimensions.

3D : Trois dimensions.

Å : Ångström.

ABAT : 4-aminobutyrate aminotransférase.

ADME : Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination.

ADMET : Absorption Distribution Métabolisme Excretion/Toxicité

ADMETLAB 3.0 : Absorption Distribution Métabolisme Excretion/Toxicité laboratoire la troisième version majeure.

ADN : Acid désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique

API : Ingrédient pharmaceutique actif ➡ Principe actif pharmaceutique.

BBB: Blood –brain barrier (barrière hémato-encéphalique).

CO2 : dioxyde de carbone.

CYP : Cytochrome P450.

CYP1A2 : CYP : fait partie du groupe des cytochromes P450, 1A2 : désigner une isoforme particulière de cette enzyme.

CYP2D6 : CYP : fait partie du groupe des cytochromes P450, 2D6 : désigner une isoforme particulière de cette enzyme.

DMPNN : Réseau neuronal à transmission de messages dirigés.

EEG : l'électroencéphalogramme.

GABA-AT : GABA aminotransférase, GABA transaminase.

GABA : acide γ -aminobutyrique.

GAD : Glutamate decarboxylase.

HERG : gène humain lié à l'éther-à-go-go

IC50 : (Inhibitory Concentration 50) Concentration inhibitrice 50

IRM : l'imagerie par résonance magnétique.

Log IC50 : (Inhibitory Concentration 50 %) Concentration inhibitrice 50%

Log p : coefficient de partage.

Log P : Le coefficient de patrition Eau/Octanol.

LQTS : Syndrome du QT long

m² : mètre carré.

NCBI : National Center for Biotechnology Information

NPDOO9 : base de données de protéines neuronales, ex. : 9ème entrée d'une liste.

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Économique.

OV329 : Un inhibiteur expérimental de l'enzyme GABA-AT.

P450: cytochrome P450.

PDB: Protein data bank.

PLP : Pyridoxal phosphate.

PM : poids moléculaire.

PMP : Pyridoxamine 5'-phosphate.

PUBCHEM : base de données chimiques publique.

QT : intervalle QT** dans le contexte médical, en particulier en cardiologie.

RCSB: Research Collaboratory for Structural Bioinformatics.

RMSD : (Root-mean-square deviation) Écart quadratique moyen.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

SDF : Structure Data File

SNC : Système nerveux central.

SSA : semi aldéhyde succinique.

TPSA : (Topological Polar Surface Area) Surface polaire topologique.

TSA : le cycle de l'acide tricarboxylique.

VADAR : (Volume, Area, Dihedral Angle Reporter) est un outil d'analyse structurale des protéines

ZINC : (Zinc Database) Base de données zinc

transaminase :aminotransférase, (aminotransaminas)



INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'épilepsie est un trouble neurologique caractérisé par des crises récurrentes non provoquées, qui sont des décharges électriques anormales dans le cerveau qui touche des millions de personnes à travers le monde, sans distinction d'âge, des exé ou de milieu socio-économique. Elle se caractérise par la survenue récurrente de crises épileptiques, résultant d'une activité électrique anormale et excessive dans le cerveau [1].

Dans le passé, le processus de développement d'un nouveau médicament était long et coûteux. De nos jours, avec le développement de l'outil informatique, de la bio-informatique les compagnies pharmaceutiques font recours aux approches *in silico* de modélisation par docking moléculaire afin de simplifier le chemin de la conception d'un nouveau médicament. Elles permettent de prédire l'affinité d'un nombre très important de ligands à l'égard d'une cible thérapeutique donnée [2].

Le docking moléculaire présente un outil exemplaire pour prédire la position la plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur. Nous l'avons utilisé afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de notre cible, la GABA aminotransférase en dégradant l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), un neurotransmetteur inhibiteur, ce qui réduit son effet anticonvulsivant et favorise l'hyperexcitabilité neuronale caractéristique de l'épilepsie [3].

L'inhibition de la GABA aminotransférase pourrait donc être une stratégie thérapeutique potentielle pour ralentir ou prévenir la progression de la maladie d'épilepsie. Pour ce faire, nous allons réaliser un criblage d'une banque de molécules virtuelles afin de rechercher des similaires plus efficaces que l'inhibiteur de référence qui se trouve à l'état expérimental sous forme de complexe avec l'enzyme GABA aminotransférase.

L'objectif essentiel de notre travail est d'identifier de nouveaux inhibiteurs de la GABA aminotransférase par docking moléculaire. Pour cela, nous avons utilisé le logiciel Surflex qui fonctionne avec un algorithme de fragmentation/reconstruction pour optimiser le positionnement et l'orientation des ligands dans le site actif de la cible.

Avant de se lancer dans le travail de recherche de nouveaux inhibiteurs de la cible d'intérêt, nous avons jugé utile de tester la fiabilité du programme de docking Surflex. Dans ce contexte, l'écart quadratique moyen (Root Mean Square Déviation ou RMSD) a été calculé pour 100 complexes protéine-ligand pris de manière arbitraire via la banque

de données PDB. Ce test a été conforté par une analyse visuelle permettant de vérifier visuellement la superposition des poses de ligands de référence et simulées par le programme Surflex, le test de coefficient de corrélation linéaire a été utilisé aussi pour évaluer la fiabilité de notre programme.

Dans un deuxième temps, un criblage virtuel mené sur une collection de 1000 similaires chimiques de ligand de référence, un inhibiteur de la GABA -AT, qui va nous permettre de révéler les inhibiteurs les plus actifs théoriquement sur la cible enzymatique étudiée. Ces inhibiteurs prometteurs vont faire l'objet, dans une troisième partie, d'une étude prédictive de leurs propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et toxiques régissant leur profil ADMET.

Ce mémoire est organisé comme suit :

Une partie bibliographique, composée de trois chapitres

- Le chapitre 01 est consacré à la maladie d'épilepsie.
 - Le chapitre 02 chapitre donne un aperçu sur notre cible « GABA aminotransférase » et ses inhibiteurs.
 - Le chapitre 03 décrit le docking, ses algorithmes et ses logiciels. Une partie pratique, composée de deux chapitres
 - Le chapitre 04 est consacré pour les parties matérielles et méthodes.
 - Le chapitre 05 regroupe l'essentiel des résultats obtenus avec leurs interprétations
- A la fin une discussion suivis d'une conclusion et des perspectives.



PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE



Chapitre1 : EPILIPSIE

1. Historique

Son origine du mot latin « epilepsia » qui veut dire prendre par surprise, l'épilepsie fascine depuis des millénaires. Parfois associée à la religion, elle était souvent négligée par la société. En 1770, Samuel Auguste David Tissot émit une théorie sur l'épilepsie, affirmant qu'elle était plus susceptible d'être causée par une propension du cerveau à développer la maladie que par une maladie ou une irritation. Par conséquent, ce domaine a connu des avancées telles que l'ouverture d'hôpitaux pour épileptiques et l'introduction des bromures comme traitement de première intention. Depuis l'apparition du concept d'une épilepsie similaire dans les années 1860, la définition de l'épilepsie est restée ambiguë. La première opération a eu lieu en 1886, et en 1912, Alfred Hauptmann a découvert le phénobarbital comme médicament. Hans Berger en 1920 [4].

2. Généralités

Le mot épilepsien vient du mot grec « epilambanein », qui signifie attaque ou « crise violente ». L'épilepsie est un trouble neurologique caractérisé par une activité neuronale excessive ou anormalement synchronisée, entraînant des symptômes transitoires. Il existe de nombreuses indications que l'épilepsie existe depuis l'aube de l'humanité c'était l'une des maladies chroniques les plus courantes dans le passé comme aujourd'hui ainsi, l'épilepsies le sens d'une crise, ou mieux d'un trouble consistant en une série de crise, il existe plusieurs types d'épilepsie, il vaut mieux dire épilepsies plutôt qu'épilepsie unique [5].

3. Epidémiologie

L'épilepsie est une maladie neurologique chronique caractérisée par la répétition plus ou moins fréquente de crises épileptiques, avec une incidence maximale avant 10 ans et après 60ans.il faut faire la distinction entre : épilepsie et crise épileptique

La crise épileptique a été défini par l'auteur par des symptôme d'un dysfonctionnement cérébral transitoire lié à l'activation anormale, subite, intense et hyper synchrone d'une population plus ou moins étendue de neurones [6].

Plus de 50 millions de personnes dans le monde souffrent d'épilepsie, dont 80 % vivent dans des pays à revenu faible ou intermédiaire, comme l'Afrique subsaharienne et l'Amérique latine, qui présentent des prévalences mondiales élevées de 15,4 % et 12,4 % respectivement, par rapport à 5,4 % en Europe et entre 5 et 10 % en Amérique du Nord. Au Mali, la prévalence de l'épilepsie est de 14,6 % dans les zones urbaines et de 15,6 % dans les zones rurales. Tant les enfants que les adultes de plus de 60 ans ont une incidence très élevée d'épilepsie. En Algérie, il est estimé qu'elle a une prévalence de 1,9 % et une incidence de 5 pour 1000. Cela pose également des défis pour la santé publique en ce qui concerne le diagnostic et le traitement [4].

4. Symptômes de l'épilepsie

Il existe de variables symptômes pour cette maladie parmi eux une perte de connaissance entraînant une chute, des convulsions, l'apparition de salive au bord des lèvres et, parfois, des vomissements, une perte d'urine ou de selles, ainsi qu'un bref arrêt de la respiration. Mais il existe également des formes d'épilepsie moins impressionnantes où la personne reste consciente : hallucinations, contractions musculaires, fourmillements, regard fixe, gestes répétitifs sans raison d'être [7].

5. Causes de l'épilepsie

Il existe plusieurs causes de la maladie d'épilepsie parmi ces causes on note :

5.1 Cause génétique

Certaines épilepsies sont directement imputables à une mutation génétique.

Il est important de noter que « d'origine génétique » ne veut pas dire « héréditaire ». Cette seconde forme ne concerne qu'un petit groupe d'épilepsies plus fréquentes au sein de certaines familles. Mais que ce soit dans les formes graves ou bénignes, les mutations génétiques identifiées sont le plus souvent nouvelles et non héréditaires. Le syndrome de Dravet en est un exemple : 80 % des enfants atteints présentent une néomutation du gène GABA aminotransférase [8].

5.2 Causes infectieuses

Les infections et les blessures sont les causes les plus fréquentes d'épilepsie dans le monde. Il s'agit par exemple des méningites et encéphalites bactériennes et virales, également présentes en Suisse, qui peuvent être transmises par des tiques infectées ou provoquées par des virus de l'herpès ou des méningocoques. Sous d'autres latitudes, des maladies répandues comme le paludisme, le sida ou la cysticercose cérébrale (ténia du porc) provoquent souvent des atteintes cérébrales à l'origine d'épilepsies [8].

5.3 Causes métaboliques

Les maladies métaboliques sont une cause rare, le plus souvent génétique, des épilepsies. Elles touchent généralement plusieurs organes en plus du cerveau, mais s'accompagnent fréquemment d'épilepsies. Un diagnostic précoce est important afin d'identifier à temps les maladies susceptibles d'être soignées et de mettre en place le traitement approprié. Des absences précoces et des chutes peuvent par exemple être dues à déficience génétique rare (déficit en GLUT1 ou maladie de De Vivo), qui entraîne une diminution de l'assimilation du glucose (c.-à-d. du sucre) dans le cerveau. Le régime cétogène est la thérapie de choix dans ce cas [8].

5.4 Des Epilepsies auto-immunes

Des maladies du système immunitaire (maladies auto-immunes) peuvent également être à l'origine de crises d'épilepsie en raison d'anticorps qui attaquent directement le cerveau. Leur détection précoce est là aussi importante, afin de mettre en place une immunothérapie à temps. Comme il peut arriver que des tumeurs extra-cérébrales provoquent des épilepsies [8].

6. Types et classification d'épilepsie

6.1 Crises d'épilepsie partielles

Les crises d'épilepsie sont dites « partielles » ou « focales » lorsque l'hyperactivité électrique ne touche qu'une zone localisée du cerveau, sans s'étendre. Dans ce cas, la personne reste consciente [9].

- Crises partielles simples (autrefois appelées « crises focales »)

Lorsqu'elles provoquent des symptômes discrets comme des hallucinations (tous les sens peuvent être touchés), des contractions musculaires, des fourmillements dans les membres ou des bouffées d'émotion inattendues [9].

- Crises partielles complexes (autrefois appelées « crises psychomotrices »)

Lorsqu'elles se traduisent également par un regard fixe, des gestes répétitifs et sans raison d'être, ainsi qu'une impossibilité de se souvenir clairement de ce qui s'est passé pendant la crise [9].

6.2 Crises d'épilepsie généralisées

6.2.1 Généralisé non motrice

Les absences généralisées

Les absences, ou « petit mal », touchent beaucoup plus les enfants de 5 à 12 ans. Il s'agit d'une absence de convulsion ou la personne perd le contact avec son entourage en quelques temps ; un regard vide ou fixe qui pourrait être interprété à tort comme un bref épisode de rêverie : « être dans la lune » pouvant inclure des mouvements oculaires. Ce phénomène peut se répéter plusieurs fois par jour ou, parfois par heure [9].

6.2.2 Généralisé motrice

6.2.2.1 Crises Tonico-cloniques

Les crises tonico-cloniques ou « grand mal », sont le type le plus courant de crises d'épilepsie généralisée, elles aboutissent à une perte de connaissance, une chute, des convulsions, l'apparition de bave au bord des lèvres et, parfois, des vomissements, une perte d'urine ou de selles, et arrêt de la respiration.

6.2.2.2 Crises myocloniques

Les crises dites « myocloniques » sont des mouvements extrêmement brefs et ressemblant à des secousses qui ressemblent à un sursaut. Par exemple, une personne pourrait 5 Chapitre 1 : l'épilepsie avoir une secousse soudaine de son bras ou de ses épaules ; la personne s'en rend compte et peut lâcher des objets ou tomber [9].

6.2.2.3 Crises atoniques

Les crises atoniques provoquent une perte de tonus musculaire, ce qui signifie que la personne devient soudainement molle. Si une personne est debout, la perte soudaine de tonus musculaire la fera tomber. Puis il se relève et peut recommencer à marcher [9].

6.2.2.4 Crises toniques

Ces crises durent 20 secondes, mais elles peuvent parfois durer environ 60 secondes. Provoquent une raideur des muscles. Si une personne est debout, une augmentation soudaine du tonus musculaire peut provoquer sa chute « attaque par chute » [9].

7. Démarche suivre à une crise d'épilepsie

Il est impossible d'arrêter une crise qui a débuté et il faut donc la laisser passer en apportant son soutien au patient.

Les choses à faire en cas de crise d'épilepsie

- Gardez votre calme et assurez-vous que l'environnement est sécurisé pour éviter des blessures à la personne en crise.

- Ne retenez pas les mouvements de la personne en crise car vous pourriez vous blesser ou blesser la personne.
- Protégez sa tête en mettant un objet souple en dessous (coussin, vêtement plié) et dès que possible, placez la personne en position latérale de sécurité pour éviter l'inhalation de liquides venant de l'estomac et faciliter la respiration [10].

8. Phénomènes physiologiques dans le cerveau lors d'une crise d'épilepsie

Le cerveau est constitué de cellules nerveuses, appelées neurones, qui communiquent entre elles par des signaux chimiques et électriques. Lorsqu'un groupe de neurones est soudain, pour une raison ou une autre, le siège d'une activité électrique excessive et désorganisée, cette activité électrique va se propager aux zones du cerveau avoisinantes, voire à l'ensemble du cerveau. Tout se passe comme si le cerveau, soudain soumis à une sorte d'orage électrique, cessait de fonctionner normalement : c'est la crise d'épilepsie. Après quelques minutes, l'orage se calme et la crise d'épilepsie cesse.

Selon la zone du cerveau où se produit cette hyperactivité électrique, les symptômes seront différents. L'épilepsie est dite « partielle » ou « focale » (du latin *focus* : foyer) lorsqu'une partie seulement du cerveau est l'objet de cette activité électrique excessive. L'épilepsie est dite « généralisée » lorsque l'ensemble du cerveau est touché.

Ainsi, il n'y a pas « une » épilepsie, mais de multiples formes d'épilepsie, caractérisées par plusieurs critères : leur cause, leur localisation dans le cerveau, l'âge de début de la maladie, et leur évolution, bénigne ou sévère [8].

9. Diagnostic d'épilepsie

Ça peut parfois prendre du temps, car il dépend grandement des symptômes et de leur bonne interprétation. Ainsi, en premier lieu, le médecin peut avancer le diagnostic après une enquête approfondie de la première crise et selon la présentation clinique. Ensuite, des examens pour confirmer le diagnostic, tel que l'électroencéphalogramme (EEG) (Figure 1).

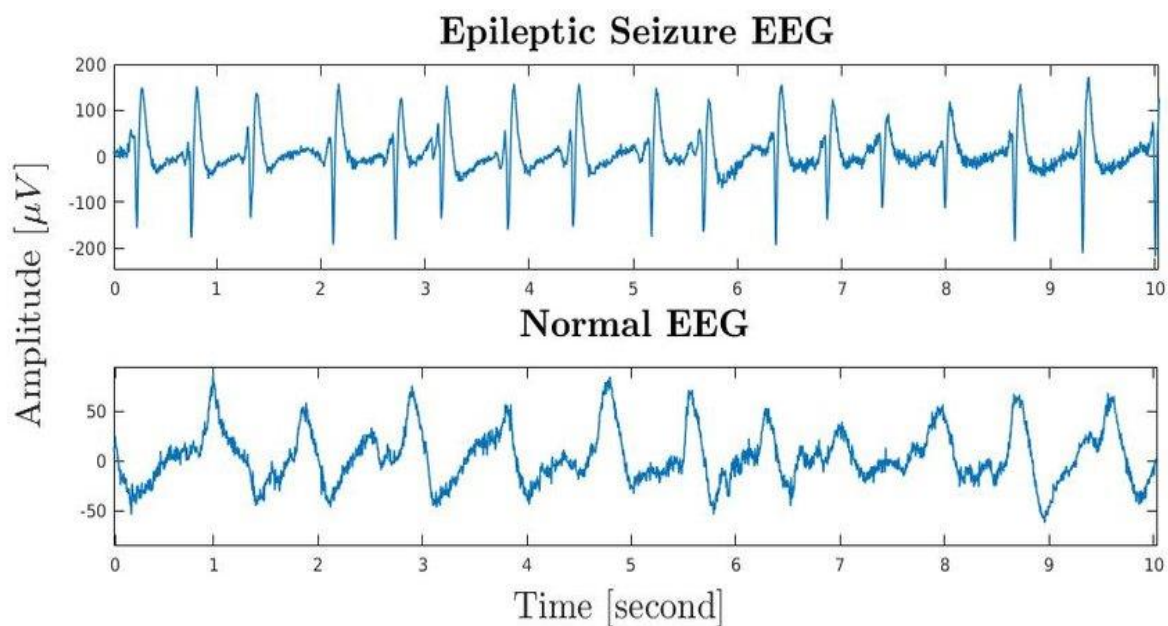


Figure 1 : Différences d'ondes EEG entre un sujet sain et un patient épileptique.

Il permet d'observer l'activité électrique cérébrale En complément à l'imagerie par résonance magnétique (IRM) ou au scanner et des analyses biologiques sanguins (Figure 2) [11].

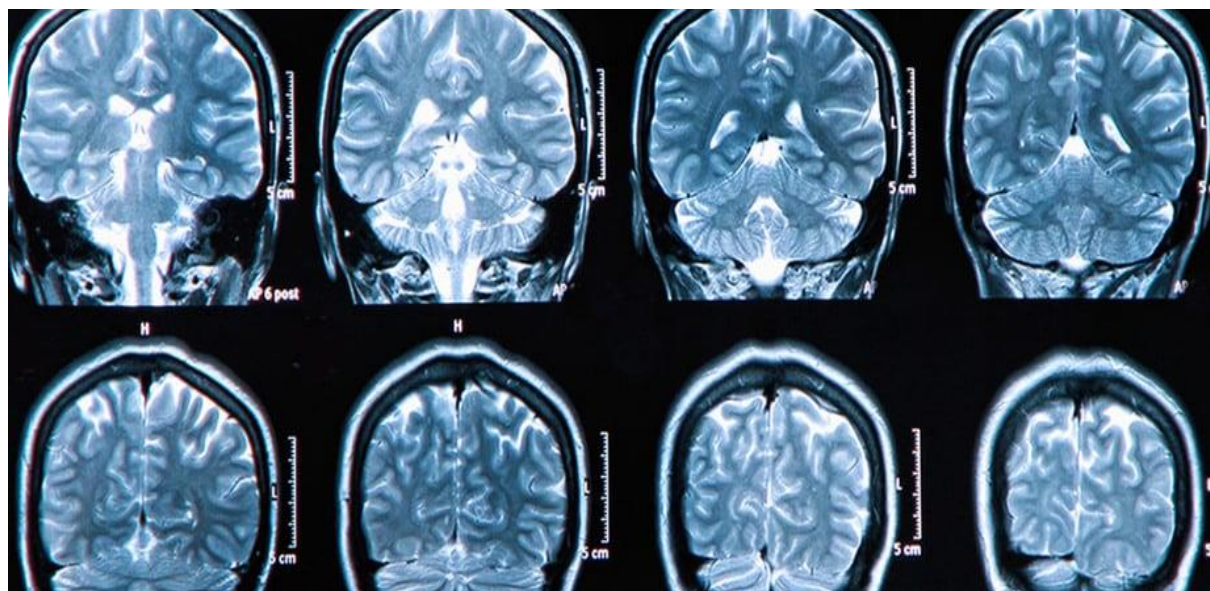


Figure 2 : IMAGE D'IRM cérébral pour le diagnostic de la maladie d'épilepsie

10. Traitement

La vigabatrine est utilisée, en association avec un autre antiépileptique, dans le traitement des épilepsies partielles en cas d'échec des autres traitements. Chez une personne sur trois, ce médicament provoque des anomalies du champ visuel, parfois imperceptibles, mais irréversibles. Un examen du champ visuel doit être effectué tous les six mois pendant toute la durée du traitement. Les autres effets indésirables fréquents sont des troubles neurologiques (somnolence, troubles de l'élocution, maux de tête, étourdissements, des fourmillements, troubles de l'attention et de la mémoire, diminution des facultés mentales, tremblements), nausées, douleur abdominale et prise de poids [12].

11. Médicaments contre l'épilepsie

11.1 Antiépileptiques anciens ou de première génération

Il est à noter que selon certains auteurs, distinguant les antiépileptiques de première génération, issus de l'empirisme ce sont : le Phénobarbital, la primidone, la phénytoïne, la fosphénytoïne, le valproate de sodium, la carbamazépine, l'ethosuximide.

11.2 Antiépileptiques nouveaux ou de deuxième génération

Synthétisés à partir des années 1990 et issus d'une recherche plus moderne et ciblée sur l'épilepsie ce sont : le valpromide, le felbamate, le progamide, le vigabatrine, la gabapentine, la lamotrigine, le tiagabine, le topiramate, l'oxcarbamazépine, le lévétiracétam, pregabaline, zonizamide (Figure 3) [13].

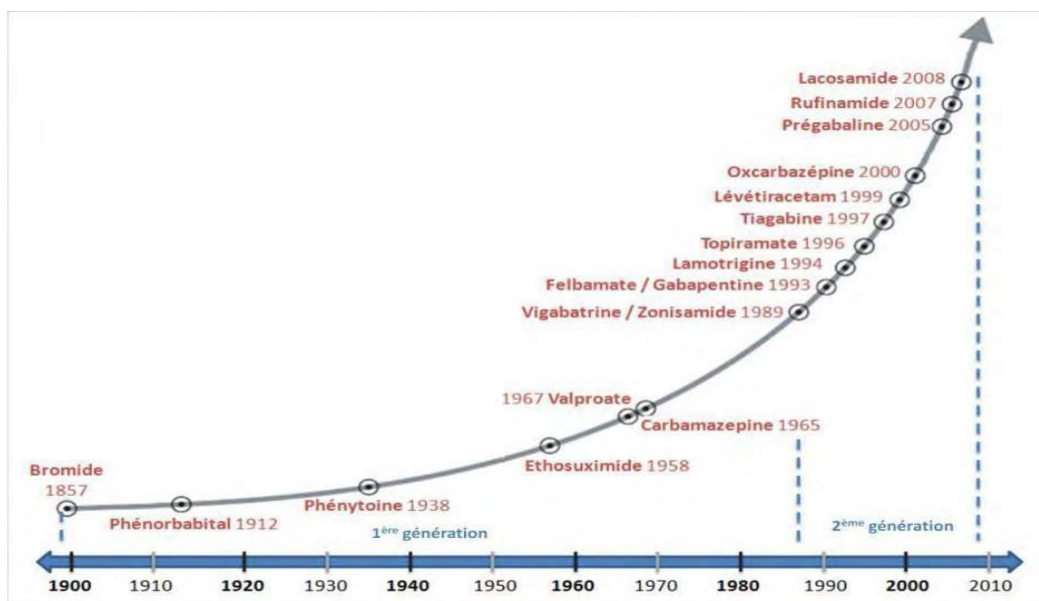


Figure 3 : Chronologie de la découverte des médicaments



CHAPITRE II : GABA AMINOTRANSFÉrase

1. Généralités

La gamma-aminobutyrique aminotransférase (GABA-AT) est une enzyme essentielle du cerveau qui régule le neurotransmetteur inhibiteur acide γ -aminobutyrique GABA. Le GABA, le principal neurotransmetteur inhibiteur du SNC, doit être régulé pour maintenir l'équilibre neuronique et pour ne pas sombrer dans l'hyperexcitabilité ; sinon, cela peut déclencher des maladies telles que l'épilepsie [14] [15]. GABA-AT dégrade le GABA dans le cerveau et produit du semi aldéhyde succinique qui est ensuite transformé en succinate, un intermédiaire du cycle de Krebs. Par la voie GABA-shunt. Comme l'inhibition de GABA-AT augmente les niveaux de GABA et réduit l'excitabilité neuronale, de nombreux agents anticonvulsivants ciblent cette enzyme [16].

2. Nomenclature et classification

La GABA-AT est classée sous le numéro EC 2.6.1.19 dans la nomenclature des enzymes. Elle appartient à la classe des transférases, sous-classe des transaminases, qui catalysent le transfert de groupes amino. Les synonymes de cette enzyme incluent : 4-aminobutyrate aminotransférase, bêta-alanine–oxoglutarate aminotransférase et gamma-amino-N-butyrate transaminase [17].

3. Structure de la protéine GABA-AT

La GABA-AT humain est une protéine homodimérique composée de 461 résidus d'acides aminés. La structure globale du GABA-AT comprenait des boucles, des hélices α et des feuillets β . De plus, selon les valeurs structurales VADAR 1.8, le GABA-AT était composé d'environ 39 % d'hélices α , 19 % de feuillets β , 40 % de bobines et 26 % de tours (Figure 4) [18].

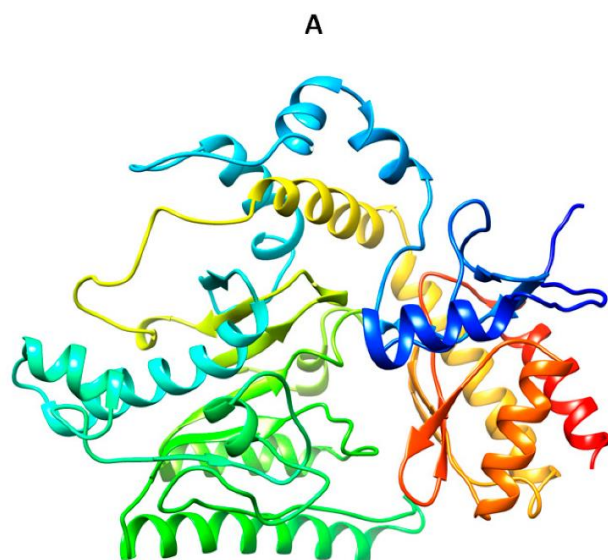


Figure 4 : (A) La structure 3D de la protéine GABA-AT

3.1 Site de liaison actif

Le site d'interaction dans l'Holo structure de la protéine détermine très probablement la poche de liaison de la protéine, où le ligand actif se lie. Les résidus de poche de liaison ont été sélectionnés à partir de données déjà publiées. Comme Ile100, Ser102, Ala162, Cys163, Gly164, Ser165, Phe217, His218, Gly219, Arg220, Glu293, Asp326, Val328, Gln_329, Gln330, Ser356, Lys357 et Met360. De plus, la poche de liaison a été visualisée à l'aide de Discovery Studio pour la comparaison et l'approbation de la position résiduelle (Figure 5) [18].

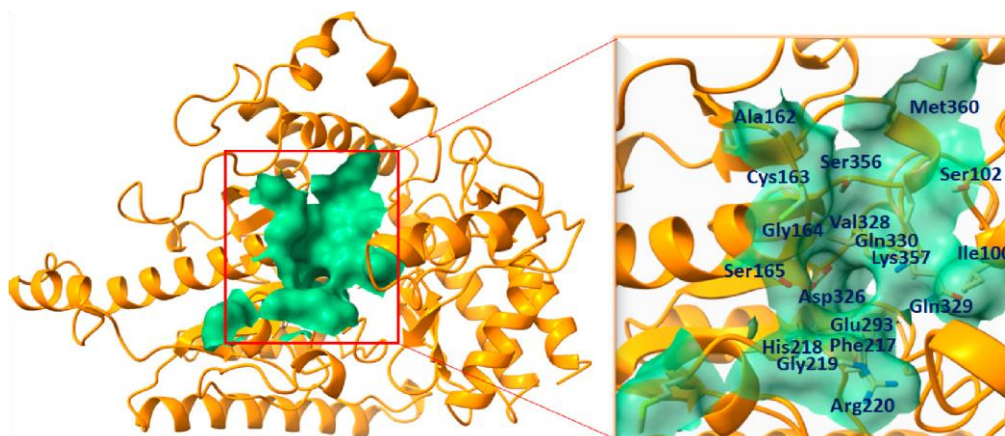


Figure 5 : La structure complète du GABA-AT avec le site actif

4. Rôle de GABA aminotransférase

Un acteur clé dans le catabolisme du GABA est la GABA transaminase, Le semi aldéhyde succinique (SSA) est ensuite oxydé en acide succinique, qui entre également dans le cycle de l'acide tricarboxylique (TCA). Ce processus régule non seulement la concentration de GABA dans la fente synaptique, mais il relie également le métabolisme du GABA à la production d'énergie dans le cerveau [19] [20].

La voie du shunt du GABA, validée par l'activité de la GABA transaminase, est une voie essentielle pour la régulation homéostatique de la neurotransmission gabaergique. L'inhibition de la GABA transaminase augmente la quantité de GABA disponible dans la fente synaptique, augmentant ainsi la neurotransmission inhibitrice et réduisant l'excitabilité neuronale, et c'est le mécanisme par lequel les inhibiteurs de la GABA transaminase exercent leur action anticonvulsivants [21].

La GABA-AT est un facteur critique pour les niveaux de GABA dans le cerveau et l'excitabilité neuronale et la neurotransmission qui en résulte. La régulation des activités liées au GABA y joue un rôle fondamental est impliquée dans de nombreux troubles neurologiques, notamment l'épilepsie, la maladie de Huntington et l'autisme, tous associés à des niveaux pathologiques du GABA [22].

5. Gene de GABA aminotransférase

La 4-aminobutyrate aminotransférase est une protéine, chez l'homme, est codée par le gène ABAT Qui code pour l'enzyme responsable du catabolisme du GABA en semi aldéhyde succinique. Ce gène est situé sur le chromosome 16 à la position 13.2 chez l'homme (Figure 6). Qui porte plusieurs noms, notamment GABA transaminase, GABAT, 4-aminobutyrate transaminase, NPD009, etc. Ce gène est principalement et abondamment localisé dans les tissus neuronaux. La 4-aminobutyrate aminotransférase appartient au groupe d'enzymes dépendantes du pyridoxal5-phosphate qui active une grande partie donnant une réaction aux acides aminés. L'ABAT est composé de deux monomères d'enzymes où chaque sous-unité a un poids moléculaire de 50 KDA. Il est identifié que le GABA est présent dans près d'un tiers des synapses humaines. Le GABA est un neurotransmetteur qui joue différents rôles dans

différentes régions des systèmes nerveux central et périphérique. On le retrouve également dans certains tissus dépourvus de neurones. De plus, le GAD et le GABA-AT régulent la concentration de GABA [23] [24].

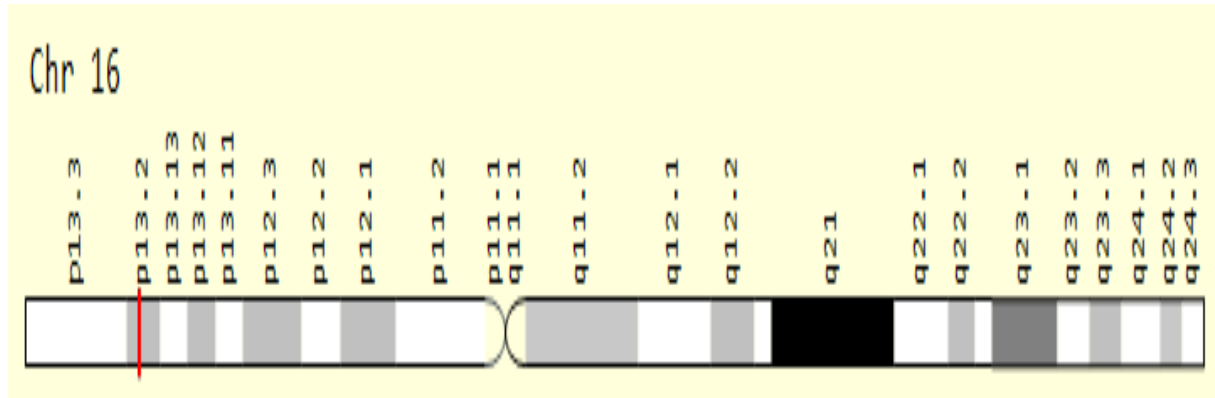


Figure 6 : La localisation du gène de GABA aminotransférase.

6. Activation et Régulation

Le PLP, qui dérive de la vitamine B6, est capable d'activer l'enzyme 5-aminolevulinate, ou 5-AT. Par ailleurs, le GABA et le GABA-AT. Le cofacteur PLP favorise la réaction de transamination et forme une base de Schiff avec le substrat pour la conversion d'GABA au semi-aldéhyde succinique. L'enzyme est régulée de deux manières, par la disponibilité de son substrat, GABA, ainsi que par plusieurs inhibiteurs. Les inhibiteurs de GABA-AT, tels que la vigabatrine et OV329, se lient au site actif de GABA-AT et inhibent la fonction catalytique de l'enzyme, entraînant une accumulation de GABA dans le cerveau [24] [25].

Les maladies de la GABA-AT sont liées à la fonction de l'enzyme en l'occurrence l'efficacité et la stabilité.

6.1 Mécanisme d'action du GABA-AT

La figure 7 illustre le mécanisme d'action de la GABA-AT. En absorbant le groupe amino, le PLP (phosphate de pyridoxal 5') qui est lié au GABA se transforme en semialdéhyde succinique (SSA) puis en PMP (phosphate de pyridoxamine 5'). Ensuite, lors de l'étape de conversion vers le PLP, le PMP est converti en L-glutamate en fournissant le groupe amino. Le

L-glutamate est ensuite converti en GABA par l'enzyme glutamate décarboxylase, ce qui libère également du CO₂ [23].

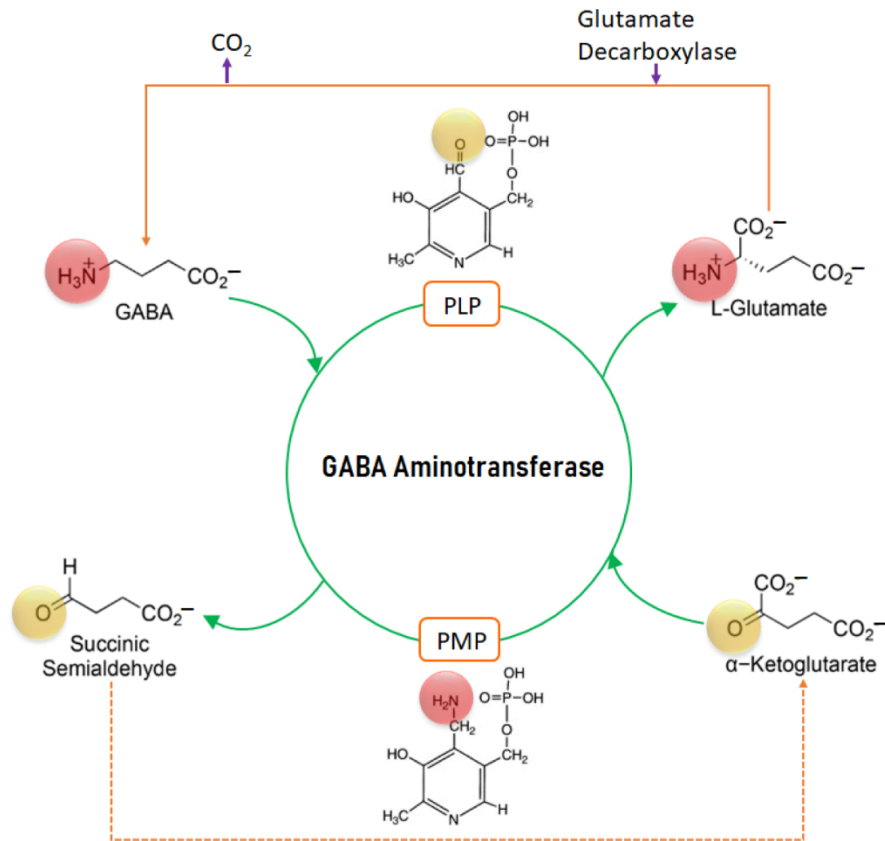


Figure 7 : Le mécanisme d'action du GABA-AT.

7. Fonction moléculaire du gène GABA aminotransférase

La 4-aminobutyrate aminotransférase (ABAT) est responsable du catabolisme de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) en semi aldéhyde succinique. Ce processus régule non seulement le taux de GABA. L'enzyme active est un homodimère de sous-unités de 50 KD complexées au pyridoxal-5-phosphate . La séquence protéiques similaire à plus de 95 % à celle de la protéine porcine. L'ABAT dans le foie et le cerveau est contrôlée par 2 allèles codominants avec une fréquence dans une population caucasienne de 0,56 et 0,44 [26]. Le GABA agit comme un facteur trophique qui affecte ensuite certaines activités cellulaires telles que la reproduction cellulaire rapide, la mort cellulaire et la différenciation. La communication intracellulaire est également l'une des nombreuses fonctions du GABA en dehors du système

Chapitre 2: GABA aminotransférase

nerveux [27]. La production de l'enzyme GABA-transaminase était assurée par le gène ABAT. La fonction principale de l'ABAT est l'inhibition (neurotransmetteur), où il empêche la surcharge de l'activité du cerveau due à une grande quantité de signaux [28]. L'ABAT active le début de la dégradation du GABA [29].

La dérégulation de ce gène a été impliquée dans divers troubles neurologiques, notamment l'épilepsie, la déficience intellectuelle et les troubles du mouvement.



Chapitre III: DOCKING MOLÉCULAIRE

1. Généralités

Le développement d'un nouveau médicament reposait initialement sur une méthode expérimentale, coûteuse et lente. Le criblage *in vitro* à haut débit permet de tester un grand nombre de ligands sur une cible thérapeutique dans le but d'identifier des composés potentiellement actifs. Cependant, cette méthode s'est rapidement heurtée à divers obstacles, notamment scientifiques, techniques, méthodologiques et surtout financiers. Actuellement, les compagnies pharmaceutiques font recours aux approches de modélisation moléculaire par Docking qui sont devenues des alternatives qui permettent de rationaliser le processus du drug design [30]. En effet, le criblage virtuel par Docking moléculaire permet de simuler l'affinité de nombreux ligands pour une cible thérapeutique donnée. Cette méthode, plus simple à mettre en œuvre, plus rapide et moins coûteuse que les approches expérimentales, s'est imposée comme une alternative efficace. Aujourd'hui, ces techniques occupent une place essentielle dans de nombreux programmes de découverte de médicaments. D'ailleurs, les industries pharmaceutiques consacrent près de 10 % de leur budget à la recherche assistée par ordinateur dans ce domaine [31].

2. Docking Moléculaire

Le docking (ancrage, amarrage, arrimage) moléculaire est une approche *in silico* qui permet de prédire les interactions entre le ligand et la cible thérapeutique. Cette méthode repose sur deux étapes principales (Figure 8), à la fois essentielles et complémentaires :

2.1 Docking

C'est l'étape de sélection où le ligand est positionné dans le site actif de la protéine en l'orientant selon diverses conformations et emplacements possibles [32].

2.2 Scoring

Il s'agit de l'étape de classement, qui vise à mesurer la compatibilité entre les poses du ligand obtenues lors de la phase initiale et la protéine. Cette phase donne naissance à un score [33].

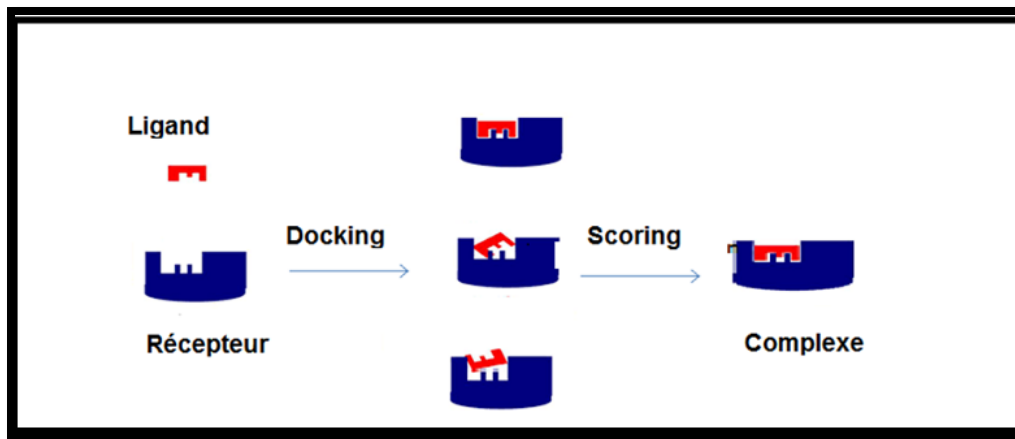


Figure 8 : Principe d'une simulation par Docking moléculaire [34].

3. Types de docking

Il existe trois types de docking moléculaire :

- a. Docking rigide : le corps rigide est un modèle très simpliste qui considère les deux protéines comme deux corps solides rigides. En se basant sur le concept « clé-serrure » c'est la méthode la plus rapide et ancienne au cours de laquelle le logiciel de docking ne tient pas compte de la flexibilité du ligand et du récepteur (Figure 9) [34].

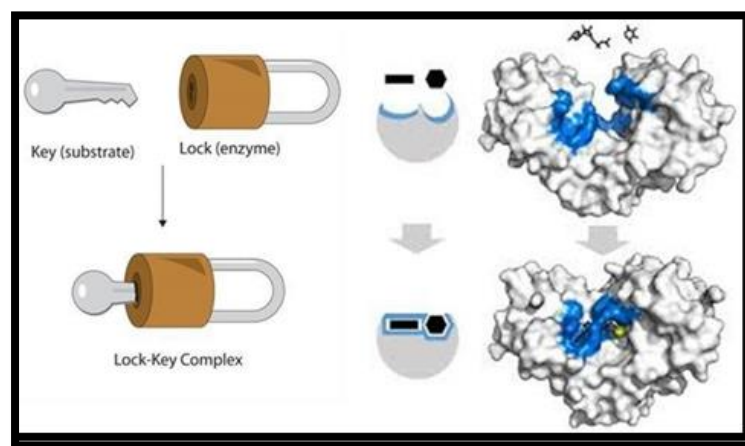


Figure 9 : Concept clé-serrure [34].

- b. Docking semi-flexible : Le dernier développement utilisé par la plupart des logiciels est un algorithme semi-flexible, où le récepteur est supposé être une entité rigide rond tandis qu'il

est capable de contrôler le mouvement du ligand. Les bords précis de couplage des dockings chimiques semi-flexibles sont plus précis [35].

c. Docking flexible : les deux molécules sont considérées comme flexibles, même si le degré de flexibilité de l'une ou l'autre (ou des deux) est nécessairement limité ou simplifié [35].

4 Outils du docking moléculaire

Les éléments essentiels à la réalisation d'un docking moléculaire comprennent : une macromolécule cible, généralement une protéine, servant de récepteur ; une chimiothèque, c'est-à-dire une collection de ligands ; ainsi qu'un logiciel capable de prédire la conformation la plus favorable des ligands au sein du récepteur [36].

4.1 Récepteur

Les Structures tridimensionnelles de diverses cibles thérapeutiques sont disponibles via la banque de données Protein Data Bank (PDB) ; qui est accessible gratuitement en ligne (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Il s'agit d'une grande archive de données structurales 3D des macromolécules biologiques : (protéines, ADN, ARN ...etc.). Elle contient des milliers de structures protéiques déterminées expérimentalement par cristallographie aux rayons X, par résonance magnétique nucléaire (RMN) ou par la microscopie électronique [37].

Cependant, la structure 3D de la cible expérimentale n'est souvent pas disponible. Pour obtenir cette information, des méthodes de prédiction théoriques sont appliquées ; l'une d'elles est la modélisation comparative des protéines [38].

4.2 Ligands (chimiothèques)

Le choix du ligand est crucial pour réussir le docking moléculaire. Donc, la structure tridimensionnelle d'un ligand spécifique est obtenue de deux manières :

- La première méthodologie est la conception et l'utilisation des ligands de la littérature qui peuvent être dessinés et optimisés puis enregistrés dans des fichiers aux formats (pdb, mol, mol2, SDF ...etc.) tels que ceux réalisable par les logiciels de modélisation moléculaire connu comme (ChemDraw, Marvin, Arguslab, Titan, Sybyl ...etc.) des ligands dérivés de la littérature.

- La deuxième méthode est liée à l'utilisation des diverses chimiothèques, ces dernières données procurent des structures 3D des ligands existantes dans les fichiers les mieux convenables pour le docking. Parmi les chimiothèques les plus fréquemment utilisées présentent la Chimiothèque Nationale Française, PubChem, ZINC ...etc[38].

4.3 Programmes du docking

Tableau 1 : Les Principaux programmes de Docking moléculaire

NOM Editeur	Site Internet
AutoDock Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodoc/
Dock UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/ .
FlexX BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/ .
Fred OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/applicatin/fred.html
Glide Schrodinger	http://www.schorodinger.com/products/glide .
Golde CCDC	http://ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/1 .
ICM Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html .
Ligand FitAcces	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit
Surflex Biopharmcs	http://www.biopharmics.com/products.html

5.Surflex-Dock

Parmi les programmes de Docking moléculaire, nous avons utilisé le programme surflex pour réaliser le travail de recherche donc surflex est l'un des programmes de docking moléculaire les plus utilisés et performants. Ce logiciel a été utilisé dans le présent travail afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de la GABA aminotransférase. Il est basé sur une méthode de fragmentation/reconstruction permettant d'explorer un grand nombre

de conformations de manière rapide et efficace, en optimisant simultanément les positions des atomes du ligand et de la cible. Le logiciel surflex a été utilisé dans de nombreuses applications de découverte de médicaments, notamment dans la conception de nouveaux inhibiteurs de protéines, la prédiction de l'activité biologique et la conception de médicaments dirigés contre des cibles spécifiques. Il a été validé dans de nombreuses études, qui ont montré qu'il est capable de prédire avec précision les structures de complexes de ligands et de protéines et d'identifier des composés prometteurs pour la découverte de médicaments [39].



PARTIE PRATIQUE





Chapitre 4: MATÉRIEL
ET MÉTHODES

I. Matériel

Dans le but de fournir de nouvelles suggestions d'inhibiteurs GABA -AT, il est impératif d'apprendre les stratégies utilisées en modélisation moléculaire, telle que le docking. À cet égard, le matériel utilisé est le suivant :

1.1 Microordinateur

Dans cette étude, nous avons utilisé deux micro-ordinateurs ont été utilisés pour l'exécution et l'analyse de notre travail dont les caractéristiques sont rassemblées dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Les micro-ordinateurs utilisés et leurs caractéristiques.

Caractéristiques	Micro-ordinateur LENOVO	Micro-ordinateur ACER
La Ram (mémoire)	8.00 GO	6,00 Go
Type du système	Système d'exploitation 64 bits, processeur x64	Système d'exploitation 64 bits, processeur x64
Processeur	Intel(R) Core (TM) i5-7300 CPU @2.60 GHz	Intel(R) Core (TM) i3-4030U CPU @ 1.90GHz 1.90 GHz
Système d'exploitation	Microsoft Windows 11 professionnel	Microsoft Windows 11 professionnel

1.2 Programmes

De plus, pour l'aspect pratique de ces travaux, nous avons eu besoin de plusieurs programmes.

1.2.1 Surflex

Surflex-dock est un algorithme de docking rapide et performant. Les paramètres mesures de Surflex ont été utilisés standard par défaut dans cette étude [40]

Le docking moléculaire avec Surflex est réalisé en 3 étapes [39] :

- Génération d'une pseudo-molécule (protomol) qui servira de cible (site actif) aux différents ligands étudiés.
- Docking moléculaire d'un ou de plusieurs ligands
- La visualisation des résultats (Final-0).

1.2.2 Biovia Discovery Studio Visualizer

BIOVIA Discovery Studio Visualizer est l'un des logiciels gratuits disponible pour la représentation moléculaire. C'est un outil qui permet à l'utilisateur de visualiser les structures moléculaires complexes en 3D, faire des analyses et les simulations des propriétés moléculaires. Il possède la capacité de lire et de traiter plusieurs formats de fichiers de modèles moléculaires, tel que les fichiers PDB, les fichiers MOL et les fichiers de trajectoire générés par des simulations de dynamique moléculaire [41].

1.2.3 PDB baser v 2.0

C'est un logiciel open source conçu pour effectuer rapidement la séparation des ligands et des chaînes protéiques tout en maintenant invariantes leurs coordonnées spatiales pour l'extraction moléculaire (figure 10) [42].

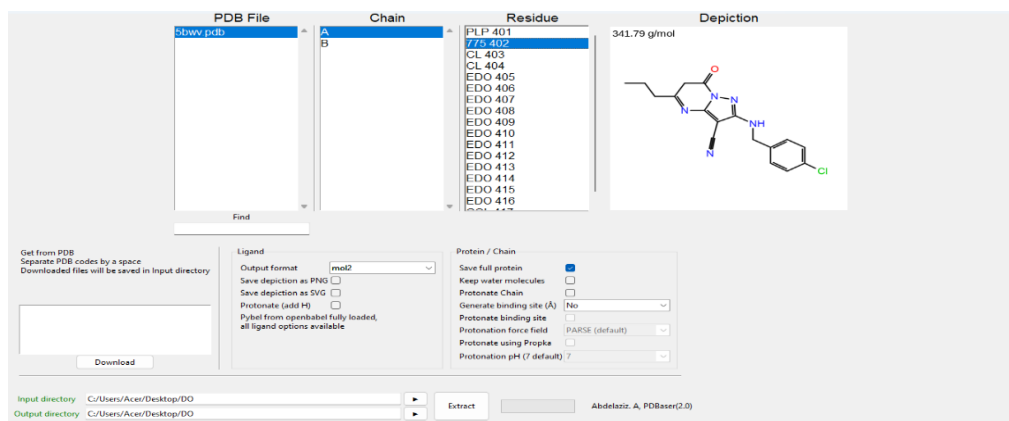


Figure 10 : Présentation visuelle du logiciel PDB baser.

1.2.4 OpenBabel

Le logiciel libre OpenBabel 3.0.0 est un système maître en chimie principalement utilisé pour interconvertir des formats de fichiers chimiques [43]. Il nous a servi pour la transformation des fichiers de structures chimiques (e.g. pdb, mol2, sdf, smi).

1.2.5 Microsoft Excel

Microsoft Excel 2019 est un logiciel de la suite bureautique Microsoft Office développé et distribué au standard Microsoft. Il intègre des fonctions de calcul numérique, de représentation graphique, d'analyse de données et de programmation [44]. Ce logiciel nous a permis de calculer les Log IC₅₀ des inhibiteurs, de tracer la droite de corrélation linéaire et calculer son coefficient.

1.2.6 ADMETlab 3.0

ADMETlab 3.0 est plus récent que 2.0, est maintenant doté d'un serveur web complètement fonctionnel qui fournit un cadre d'évaluation ADMET et des composés chimiques efficace dans le processus de développement de médicaments. Il aborde les préoccupations antérieures tout en offrant également une meilleure couverture, performance, support à la décision et fonctionnalité API. Cette version arrange de près de 400 000 enregistrements mis à jour avec 119 options pour la Gestion des Données et des Paramètres, ce qui en fait 31 de plus que la version précédente. Elle combine une ingénierie DMPNN multitâche avec des descripteurs moléculaires, ce qui offre une plus grande précision et robustesse tout en augmentant la vitesse de calcul pendant les calculs simultanés. Le besoin

croissant d'accès programmatique à de grands tenues de données a motivé le développement de la nouvelle API [45].

1.2.7 Banques de données

1.2.7.1 Protein Data Bank (PDB)

La Protein Data Bank (PDB ; <http://www.rcsb.org/pdb/>) est le seul référentiel mondial d'informations structurelles référentiel à propos d'informations structurelles sur les macromolécules biologiques. Il est considéré comme une compilation d'informations sur la structure tridimensionnelle (ou 3D) des structure macromolécules biologiques, Principalement des protéines des macromolécules biologiques, principalement des protéines et des acides nucléiques et les acides nucléiques [46].

1.2.7.2 PubChem

PubChem est une base de données américaine de molécules chimiques traitées par le NCBI (National Center for Information on Biotechnology - <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> -). Elle est actuellement constituée de plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques sont librement accessibles. Cette bibliothèque est utilisée pour fournir des structures comparables de notre ligand.

II. Méthodes

Avant d'aborder la recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la GABA AT, il est important d'analyser la fiabilité du logiciel Surflex. Pour ce faire, nous avons effectué trois tests de fiabilités :

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

1. Test de fiabilité

1.1 Écart quadratique moyen

L'évaluation des résultats d'un programme de docking moléculaire est essentielle pour prédire avec précision l'adaptation et l'orientation d'un ligand dans un complexe protéine ligand. Pour ce faire, il est courant de calculer la valeur de déviation quadratique moyenne ou RMSD (Root Mean Square Deviation) afin de mesurer le décalage entre la conformation d'un ligand prédite par le programme de docking, et sa posture expérimentale de référence obtenue à partir de la PDB [47].

Selon les références bibliographiques, si la valeur de RMSD est inférieure à 2 Å, la prédiction du positionnement d'un ligand au sein de sa cible est considérée fiable. Pour évaluer la performance d'un programme de docking moléculaire, il est courant de réaliser ce test sur environ une centaine de complexes protéine-ligand cristallisés [48].

Dans notre étude, le test de fiabilité par RMSD a été réalisé sur 100 complexes protéine ligand sélectionnés au hasard à partir de la PDB. Les valeurs de RMSD ont été calculées par le logiciel Surflex 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 peut optimiser le positionnement d'un ligand au sein de son récepteur en utilisant la commande suivante :

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

1.2 Analyse visuelle de la superposition

L'analyse visuelle faisant suite au test par RMSD, visant à donner un aperçu sur ce résultat numérique vu que c'est l'opération de la superposition de la théorique et expérimentale pose du ligand. Cette étape est effectuée à l'aide de la pose le ligand de référence.

1.3 Coefficient de corrélation linéaire (r)

C'est le second moyen de vérifier la fiabilité du programme Surflex. - L'IC₅₀ : correspond à la concentration d'un inhibiteur requise pour obtenir une inhibition de l'enzyme de 50%. On peut aussi exprimer cette valeur en log IC₅₀ ou en p IC₅₀ = -log IC₅₀. Ce test

a pour objectif d'évaluer le niveau de corrélation entre les valeurs log IC50 obtenues expérimentalement, provenant de la PDB, et les affinités correspondantes déterminées par Surflex. L'évaluation du coefficient de corrélation entre l'activité biologique et le score de docking moléculaire semble être une méthode efficace pour évaluer la performance du programme Surflex utilisé dans notre étude.

2. Préparation des molécules pour le docking moléculaire

2.1. Préparation de l'enzyme (récepteur)

La structure 3D de l'enzyme GABA transaminase (Figure 11), faisant l'objet de notre étude, a été téléchargée sous format pdb à partir de la PDB sous le code 5BWV (figure11), où elle existe sous forme de complexe lié à un inhibiteur, défini avec une résolution de 1.86 Å. Les caractéristiques de cette protéine sont représentées dans le tableau N°3 Le fichier de la protéine nécessite une préparation préalable avant d'aborder l'étude par docking moléculaire. En effet, Les molécules d'eau et l'inhibiteur liés au récepteur ont été éliminés par PDB baser pour ne conserver que la structure de l'enzyme qui a été ensuite enregistrée sous format pdb, puis convertie au format mol2 par le programme Open Babel que reconnaît Surflex.

Tableau 3:Principales caractéristiques du complexe 5BWV.

Code pdb	Nombre de chaines	Longueur	Code de l'inhibition	Résolution	Mutation	Score de docking	RMSD
5BWV	2 (A, B)	369	775	1,86 Å	Non	0.86	1.252



Figure 11 : Structure 3D du complexe 5BWV.

2.2 Préparation des ligands

- La séparation du ligand référence (**775**) du complexe **5BWV** a été réalisée par PDB baser en éliminant tous les composants : protéine, molécules d'eau, métaux etc...
- Le ligand (**775**) ainsi obtenu a été enregistré au format pdb.
- Conversion du ligand de référence (**775**) au format. Mol2 que reconnait Surflex grâce à OpenBabel-2.3.0.
- Tous les autres ligands étudiés dans ce travail ont également été convertis au format.mol2.

2.3. Docking moléculaire par Surflex

Le programme de docking moléculaire Surflex a été utilisé pour prédire les conformations les plus optimales d'un ligand dans le site actif de sa protéine cible. Pour ce faire, différentes étapes ont été nécessaires. Tout d'abord, le site actif a été identifié par la construction d'une pseudo-molécule appelée "**protomol**". Cette étape a été réalisée en utilisant la commande suivante :

Surflex-dock proto ligand.mol2 protein.mol2 pl

Ensuite, l'étape de docking a commencé par la fragmentation préalable du ligand. L'assemblage des fragments a permis 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 protein.mol2

2.4 Recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques

Dans le but de recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques de l'enzyme GABA AT, nous avons utilisé le ligand de référence comme structure de départ, la banque de donnée PubChem nous a fourni 1000 composés présentant un taux de similarité de 80 % d'affinité par rapport à notre ligand de référence (775), ces similaires ont subi un criblage virtuel en présence du site actif de notre enzyme GABA AT dans le but de prédire leur affinité à l'égard de celle-ci.

2.5 Analyse visuelle de l'interaction

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. Cela est essentiel pour comprendre la nature et la contrainte des interactions moléculaires impliquées dans la surveillance ligand-protéine et pour concevoir des ligands plus efficaces et spécifiques.

2.6 Les propriétés ADMET

Pour qu'une molécule puissante ayant une affinité qui lui confère une activité biologique puisse parvenir jusqu'à sa cible dans l'organisme, elle doit réussir à passer par divers obstacles pour y arriver avec une concentration suffisante pour que les événements biologiques attendus se produisent. Les études ADMET jouent un rôle central étant un élément essentiel de la découverte et du développement des médicaments.

Dans ce travail, nous avons utilisé le serveur ADMETlab 3.0 afin de prédire les propriétés physicochimiques et pharmacocinétique *in silico* régissant les paramètres ADME des composés d'intérêt. Par la suite, plusieurs critères de toxicité.

2.6.1 Propriétés physicochimiques

□ La règle de Lipinski (Ro5)

En 1997, Lipinski et *al* ont proposés « la règle de Lipinski » également appelée « règle de 5 » qui permet d'évaluer la biodisponibilité d'un composé chimique par voie orale à partir

de sa structure bidimensionnelle (2D). Selon cette règle, un composé doit valider au moins trois des cinq (3/5) critères suivants pour avoir la chance d'être disponible oralement :

- Le poids moléculaire (PM) ≤ 500 daltons (Da).
- Le nombre d'accepteurs de liaison hydrogène (O et N) ≤ 10 .
- Le nombre de donneurs de liaison hydrogène (OH et NH) $H \leq 5$.
- Le nombre de liaisons rotatives < 15 .
- Le coefficient de partition octanol/eau ($\log P$) ≤ 5 [49].

□ La règle de Veber

En outre des travaux de Lipinski, des études par Veber et *al* en 2002 suggèrent que les composés qui valident les deux critères suivants, présentaient généralement une bonne biodisponibilité orale :

- La surface polaire de la molécule (TPSA) $\leq 140 \text{ \AA}^2$
- Le nombre de liaisons à libre rotation ≤ 10 [50].

□ La solubilité dans l'eau

Une mauvaise solubilité des médicaments est l'un des principaux obstacles au processus de découverte et de développement de médicaments. Une solubilité acceptable est une condition préalable pour atteindre des concentrations médicamenteuses suffisamment élevées pour obtenir un effet thérapeutique [51].

□ Accessibilité à la synthèse

L'évaluation de l'accessibilité synthétique d'un composé est un angle vital dans le processus de la conception des médicaments car dans certains cas, les composés conçus *in silico* ne peuvent pas être synthétisés [52]. 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).

2.6.2 Propriétés pharmacocinétiques

□ L'absorption gastro-intestinal

Pour le développement de produits pharmaceutiques oraux, l'étude des processus de perméabilité intestinale des médicaments est cruciale. Pour qu'un médicament soit absorbé, accède au sang puis d'attendre sa cible, il doit être capable de traverser le tractus gastro-intestinal [53]. La barrière intestinale couvre une surface d'environ 400 m² comprenant une monocouche de cellules organisées en cryptes et en villosités. Elle possède des fonctions métaboliques, digestives et immunologiques. Le transport des molécules à travers cette barrière est moyen par des processus passifs ou actifs [53][54].

□ La perméabilité BBB

La barrière hémato-encéphalique (BBB) chez l'homme est formée par des jonctions serrées spécialisées entre les cellules endothéliales qui tapissent les capillaires cérébraux. C'est une barrière de perméabilité rigoureuse et hautement sélective séparant le cerveau du sang circulant. La BBB empêche la plupart des composés externes (98%) de pénétrer dans le système nerveux central (SNC) afin de maintenir l'homéostasie du SNC [55].

De nombreux composés testés ont échoué en raison du manque de capacité à pénétrer la barrière hémato-encéphalique plutôt que du manque de puissance, ce qui a provoqué un goulot d'étranglement dans la découverte de médicaments cibles du SNC [55].

□ L'inhibition des Cytochromes P450

Les protéines CYP sont considérées comme l'une des familles d'enzymes les plus importantes car elles jouent un rôle prédominant dans la biotransformation d'un vaste nombre de médicaments. Elles existent sous plusieurs isoformes (e.g. CYP1A2, CYP2D6). Les interactions médicamenteuses résultent de l'induction ou l'inhibition d'une ou de plusieurs enzymes du cytochrome P450 par des médicaments. Cela cause une diminution du métabolisme des autres molécules métabolisées par les isoformes inhibées, d'en augmenter leurs concentrations plasmatiques, de prolonger leurs effets thérapeutiques et de déclencher éventuellement des effets indésirables voir même toxique [56][57].

C'est pour cela que l'évaluation du potentiel d'un médicament candidat à inhiber ou à inactiver les protéines du cytochrome P450 (CYP) demeure une partie importante dans le processus de découverte et de développement de médicaments pharmaceutiques [58].

2.6.3 Tests de toxicité

Pendant le développement du médicament, la sécurité est toujours le problème le plus impératif qui doit être évalué dans les étapes des essais précliniques et cliniques. De nombreuses méthodes *in silico* ont été développées dans laquelle la toxicité peut être prédite directement à partir de la structure chimique. Ces approches de toxicologie *in silico* aident à réduire les expériences sur les animaux, en nous faire gagner du temps et de l'argent. Nous avons utilisé le serveur ADMETlab 3.0 afin de prédire la toxicité potentielle de nos inhibiteurs d'intérêt.

□ Le test d'AMES

Le test de mutation bactérienne reverse (test d'Ames) est l'un des tests les plus largement utilisés pour l'identification des substances mutagènes. Ce test consiste en des sous-tests parallèles dans lesquels chacune des souches bactériennes testées de *Salmonella typhimurium* est exposée à la substance d'intérêt. Chaque souche a une mutation différente dans un gène nécessaire à la synthèse de l'histidine cruciale à sa croissance. Si l'exposition à la substance d'intérêt permet à la cellule mutée de produire l'histidine nécessaire pour se développer sur un milieu de culture dépourvu de ce dernier, la substance est considérée comme un mutagène [59].

□ Le test de la cancérogénicité

Pour prédire si une substance ou un produit donné, a un pouvoir carcinogène pour l'homme, les études se fondent actuellement sur les données des essais biologiques sur la cancérogénicité chez deux espèces des rongeurs, généralement le rongeur et la souris [60][61].

□ Le test de l'inhibition de hERG

La toxicité cardiaque est l'un des effets secondaires et une des principales causes de retrait de médicaments lors de la découverte de médicaments. Les candidats-médicaments provoquent souvent un blocage indésirable du canal des particules potassiques de hERG

(*human ether-a-go-go-related gene*) qui entraîne un trouble du QT long (LQTS), et conduit éventuellement à des arythmies ventriculaires fatales et à une mort subite [62].

□ Les tests de la toxicité aigue

Les tests de toxicité aigüe permettent d'évaluer l'intensité à laquelle une molécule peut causer des dommages à un être vivant. On effectue généralement ces tests sur les sauteurs organismes aquatiques.



Chapitre 5: RÉSULTATS ET DISCUSSION



Le but principal de notre mémoire de master est de développer des compétences en simulation informatique par docking moléculaire afin de contribuer à la conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la GABA aminotransférase, une cible thérapeutique pour le traitement de la maladie d'épilepsie.

Notre travail est divisé en trois parties. Dans la première partie, nous avons évalué la performance du programme de docking moléculaire Surflex. Dans la deuxième partie, nous avons étudié les interactions moléculaires impliquées dans l'inhibition de la GABA AT afin de concevoir de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus affins pour cette cible. Enfin, la dernière partie de notre travail consiste à mener une étude prédictive des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des composés nouvellement proposés.

1. Test de fiabilité

L'étude *in silico* de l'inhibition de la GABA- AT par docking moléculaire nécessite une évaluation préalable de la performance du programme Surflex-dock, en faisant appel à trois tests : RMSD suivi d'une analyse visuelle des complexes formés, et le coefficient de corrélation.

1.1. RMSD

Le test est approuvable si et seulement si la valeur du RMSD est inférieure ou égale à 2 Å. Dans notre travail, l'évaluation de la fiabilité du programme par le RMSD a été effectuée sur 100 complexes protéine-ligand que nous avons téléchargés de la PDB et dont les résultats sont regroupés dans l'annexe 1

Parmi les 100 complexes étudiés, 69 complexes ont présenté une valeur de $\text{RMSD} \leq 2 \text{ Å}$ correspondant à un taux de 69% alors que seulement 31 % des résultats sont supérieurs à 2 Å (Figure 12). Ces résultats sont corroborés et en accord avec le travail de Chikhi. A et Bensegueni. A (2008), qui révèlent un taux de RMSD de 63% inférieurs ou égales à 2 Å ce qui prouve la fiabilité du programme Surflex [63].

Les prédictions sont jugées fiables si les valeurs de RMSD sont inférieures ou égales à 2 Å [64].

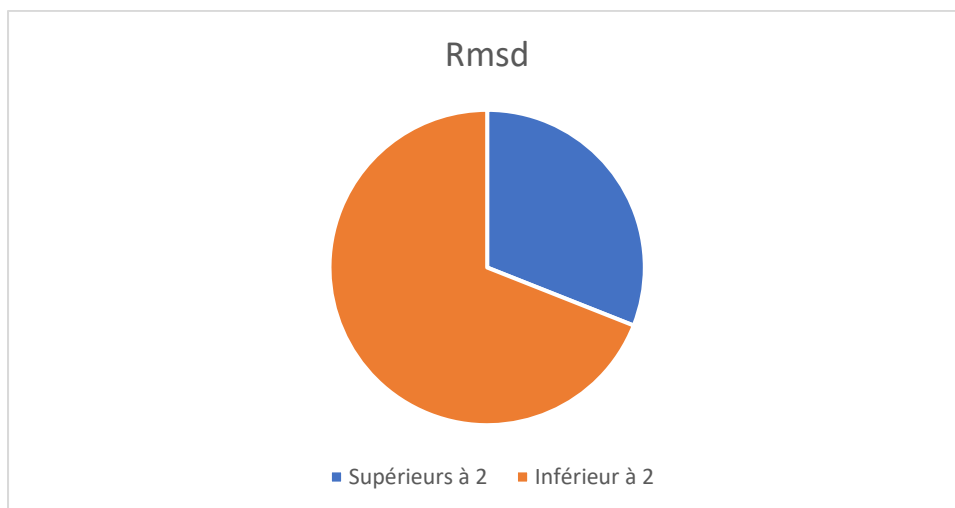


Figure 12 : Représentation graphique des pourcentages de RMSD obtenus par Surflex sur 100 complexes protéine-ligand.

1.2 Analyse visuelle

L'analyse visuelle par Discovery 2019 faisant suite au test RMSD est aussi une étape essentielle pour juger la performance du programme Surflex. Elle permet de visualiser les résultats décrits par la valeur numérique RMSD.

A ce titre, nous avons réalisé l'analyse visuelle avec trois inhibiteurs dont le premier a un RMSD inférieur à 2 Å (Figure 13) ; le deuxième a une valeur proche de 2 Å (Figure 14) et le troisième est nettement supérieur à 2 Å (Figure 15).

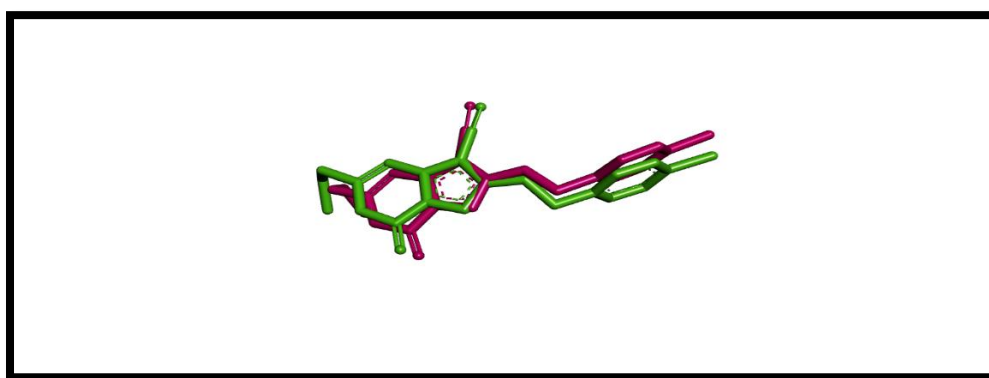


Figure 13 : Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en vert) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en rose) du complexe 5BWV (RMSD = 1.252 Å)

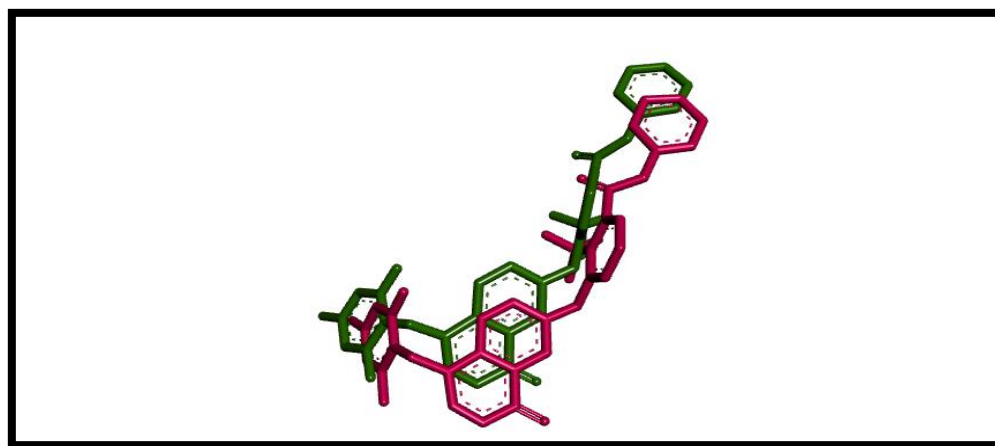


Figure 14 : Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en vert) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en rose) du complexe 4JTZ (RMSD = 1,951Å).

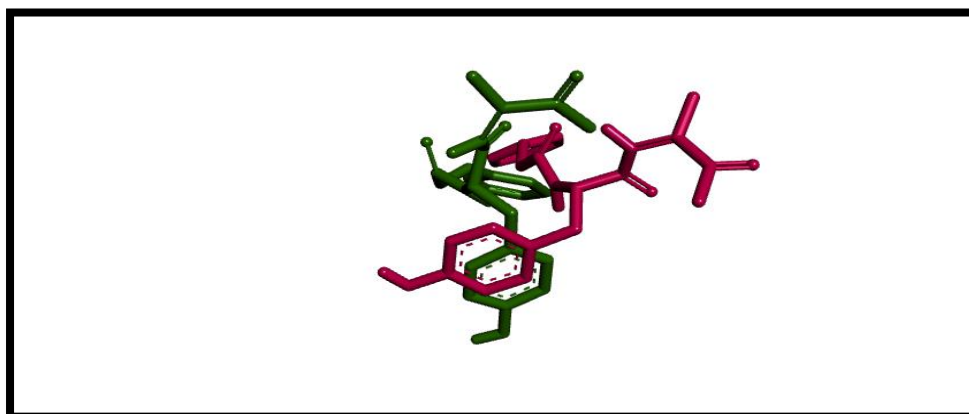


Figure 15 : Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en vert) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en rose) du complexe 1AIM (RMSD = 3,512Å).

Dans les deux premiers cas où le RMSD est inférieur à 2 Å, la superposition des conformations optimales des ligands générées par docking avec la géométrie des mêmes ligands obtenues par diffraction des rayons-X est maximale. Dans le cas du troisième complexe, avec un RMSD de 3.512 Å il n'y a aucune superposition puisque le ligand expérimental et le ligand calculé sont diamétralement divergents.

1.3 Coefficient de corrélation (r)

Ce test a pour but d'évaluer le degré de corrélation linéaire existant entre les affinités des inhibiteurs de la 5BWV calculés par Surflex et les valeurs de leurs IC₅₀ déterminées expérimentalement. Pour réaliser ce test, nous avons utilisé 31 inhibiteurs de la 5BWV issus

Chapitre 5: Résultats et Discussion

de la littérature. Nous avons employé les valeurs de Log IC₅₀ car les valeurs des IC₅₀ sont très divergentes.

Les résultats des affinités des inhibiteurs étudiés, leurs IC₅₀, ainsi que leurs Log IC₅₀ sont représentés dans le tableau n°4.

Tableau 4 : Les affinités des 31 inhibiteurs de la GABA_AAT, leurs IC₅₀ et Log IC₅₀.

Composé	Complexe	IC50 (nM)	Log IC50	Affinité (M-1)
C1	1EM6	6 Nm	0.78	0.20
C2	1EXV	45 nM	1.65	0.13
C3	1L5Q	45 nM	1.65	1.78
C4	1L5S	45 nM	1.65	0.11
C5	1L7X	45 Nm	1.65	1.71
C6	2ABJ	230 nM	2.36	0.39
C7	2ZB2	900 nM	2.95	0.20
C8	3DDS	22.61 Nm	1.35	1,96
C9	3DDW	22.61 Nm	1.35	1.59
C10	4U6Q	745 nM	2.87	0.36
C11	4UWH	3 nM	0.48	1.20
C12	5BWR	10.82 nM	1.03	0.48
C13	5BWU	631 nM	2.80	0.26
C14	5BWV	79 nM	1.90	0.86
C15	5BWW	501 nM	2.70	0.05
C16	5CR5	2000 nM	3.30	0.64
C17	5HNE	50 nM	1.70	1.37
C18	5I5V	21.15 nM	1.33	1.04
C19	5I5X	200 nM	2.30	0.69
C20	5I5Y	1000 nM	3	1.14
C21	5I60	1995 nM	3.30	0.85
C22	5U7I	13 nM	1.11	0.19
C23	6I3U	14 nM	1.15	0.43
C24	6T8P	1549 nM	3.19	0.08
C25	7NWC	3300 nM	3.52	0.43
C26	7NWM	162 nM	2.21	1.23
C27	7NY2	70 nM	1.85	2.03
C28	7RSJ	13 nM	1.11	0.13
C29	7RSP	78 nM	1.89	0.23
C30	7RSV	83 nM	1.92	1.11
C31	8BHG	0.2 nM	-0.6	4.63

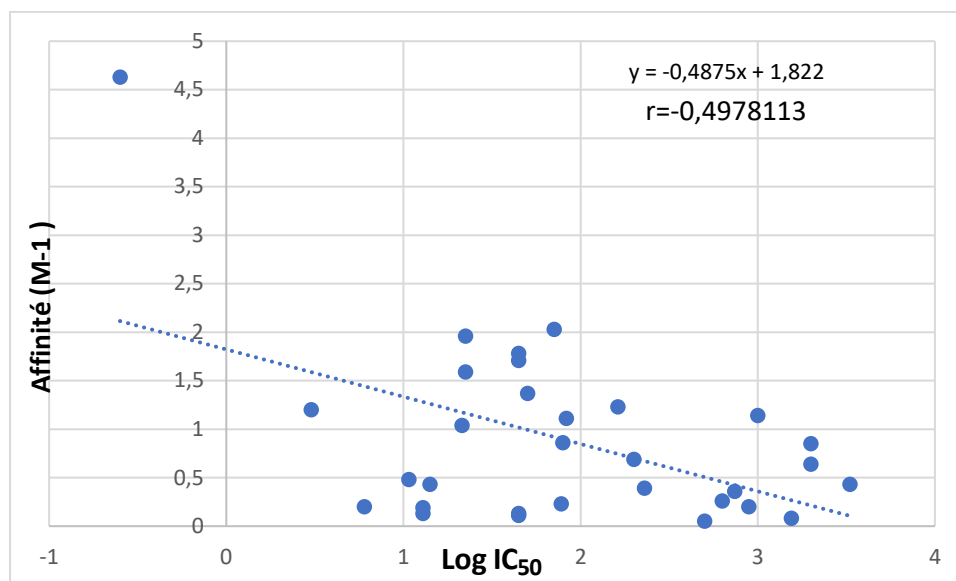


Figure 16 : Corrélation entre logIC50 et les affinités calculées par Surflex des 31 complexes choisis.

La valeur r égale à -0.49 montre qu'il y a une corrélation entre les deux paramètres analysés. Cette valeur légèrement supérieure au valeur absolue à -0.5 signifie que la corrélation a une intensité moyenne négative.

Les résultats des travaux effectués par d'autres auteurs sont bien meilleurs que le nôtre. En effet, ils ont trouvé la valeur $r = 0.70$ [55] affirmant ainsi la performance du logiciel Surflex.

Conclusion :

Les différents tests utilisés dans cette étude pour évaluer la qualité de programme Surflex, le test RMSD, l'analyse visuelle et l'étude de la corrélation nous ont permet de conclure que Surflex est un programme hautement performant et fiable. Il peut donc être utilisé, sans grands risque d'erreurs, pour étudier *in silico* l'inhibition de GABA -AT par différents ligands.

2. Etude et recherche de nouveaux inhibiteurs de la 5BWV

La plupart des laboratoires pharmaceutiques implique une stratégie pour optimiser et découvrir de nouveaux médicaments plus efficaces à dose minimale dévoilant une moindre toxicité.

C'est dans ce même contexte que nous avons tenté dans ce travail de rechercher de nouveaux inhibiteurs de la protéine GABA aminotransférase présentant une meilleure affinité que le ligand de référence (775) dont l'affinité est de 0.86. Pour ce faire nous avons utilisé la banque de données PubChem afin de nous fournir les composés similaires au ligand de référence (775) en vue de calculer leur affinité pour l'enzyme avec Surflex.

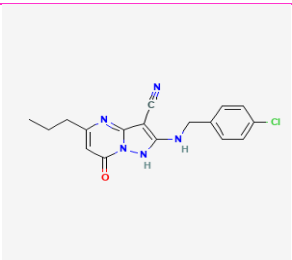
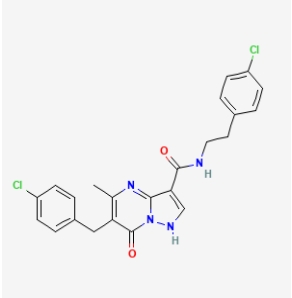
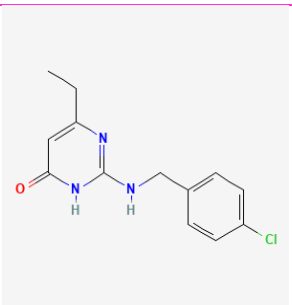
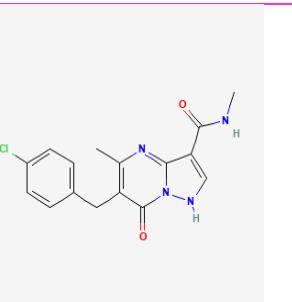
2.1. Criblage virtuel des similaires

Avec une homologie structurale de 80% à notre ligand de référence, la chimiothèque PubChem nous a fournis 1000 similaires dont la modélisation de leurs interactions avec le site actif de la protéine GABA aminotransférase par docking moléculaire avec Surflex a permis d'évaluer leur affinité à l'égard de ce dernier (annexe 2). Parmi les 1000 similaires, il ressort que 866 composés présentent une affinité nettement supérieure à celle de notre ligand de référence 775 estimée à 0.86 M⁻¹.

Dans les résultats obtenus, bien que 46 similaires présentent une grande affinité de liaison avec la GABA-AT, révélant que, bien qu'ils montrent un potentiel inhibiteur significatif, leurs prévisions ADMET indiquent une toxicité. Cela signifie que l'utilisation de ces composés en tant que candidats médicaments est compromise par le développement de propriétés pharmacochimiques ou toxicologiques défavorables, telles que l'hépatotoxicité, la mutagénicité ou une biodisponibilité médiocre. Ces résultats soulignent l'importance de combiner la modélisation moléculaire avec une évaluation toxicologique préliminaire pour sélectionner des composés qui sont à la fois sûrs et efficaces pour une utilisation thérapeutique potentielle. Pour cela, nous avons menés à l'étude de trois similaires, dont leur affinité est nettement supérieure au ligand de référence (tableau 5) et présentant des propriétés ADMET favorable (voir tableau 6,7 et 8). La structure, le code CID et les résultats d'affinité des trois similaires ainsi que le ligand de référence sont reportés dans le tableau 5 suivant :

Tableau 5 : Le ligand de référence et les 3 meilleurs similaires, leurs affinités et leurs structures

N°	Nom du composé	N° CID	Affinité (M-1)	La structure
----	----------------	--------	-------------------	--------------

775	2-[(4-chlorobenzyl)amino]-7-oxo-5-propyl-4,7-dihydropyrazolo[1,5-A]pyrimidine-3-carbonitrile	122190028	0.86	
S47	N-[2-(4-chlorophényl)éthyl]-6-[(4-chlorophényl)méthyl]-7-hydroxy-5-méthylpyrazolo[1,5-A]pyrimidine-3-carboxamide	15988860	4.01	
S37	2-(4-chloro-benzylamino)-6-éthyl-pyrimidin-4-ol	135713542	4.15	
S13	6-[(4-chlorophényl)méthyl]-N,5-diméthyl-7-oxo-1H-pyrazolo[1,5-a]pyrimidine-3-carboxamide	56948959	4.75	

3. Analyse visuelle et discussion des interactions

Le docking moléculaire de ces 3 composés dans le site actif de l'enzyme GABA transaminase donne plusieurs informations intéressantes concernant les interactions formées par ces derniers. Nous avons fait appel à l'interface graphique " Show 2D" du programme Biovia Discovery Studio pour visualiser et analyser le nombre, le type et la qualité des liaisons des complexes formés par ces 3 similaires avec GABA transaminase.

Parmi les liaisons fiables impliquées dans la formation de ces complexes, les liaisons hydrogène sont, du point de vue énergétique, les plus importantes en raison de leur force qui bascule entre celle de la liaison covalente et celle des forces de Van Der Waals [65].

Afin de mieux appréhender les mécanismes d'interaction de ces 3 similaires avec le site actif de la protéine 5BWV, il nous a semblé judicieux de connaître d'abord en premier lieu le mode d'interaction du ligand de référence 775 (figure 17).

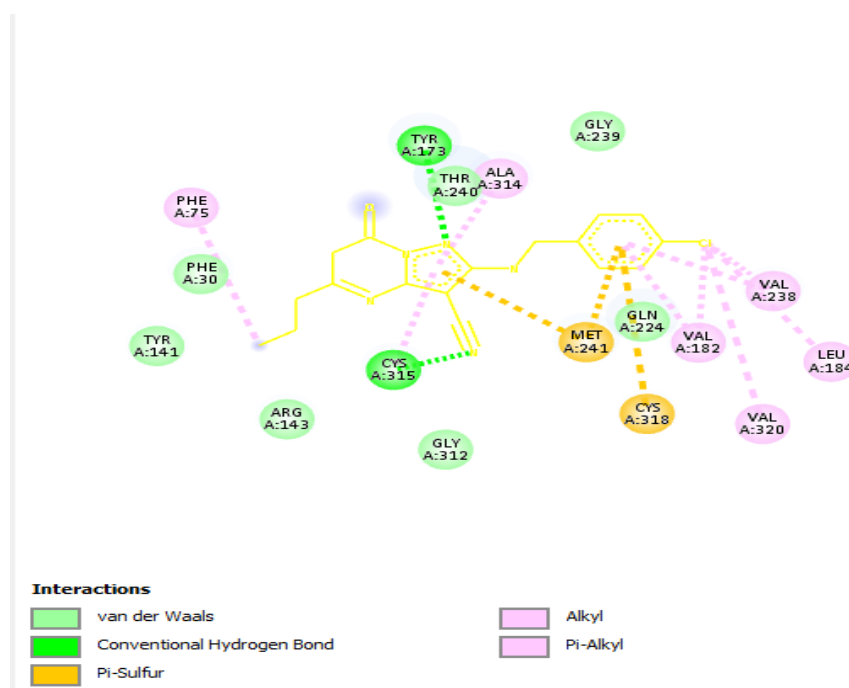


Figure 17 : Représentation 2D du mode d'interaction de ligand de référence (775) avec le site actif de la GABA aminotransférase.

La Figure 17 montre que le ligand forme 18 interactions de natures différentes, réparties comme suit :

Le ligand établit deux liaisons hydrogène classiques avec les résidus Tyr173 (distance de 5,74) et Cys315 (3,62). Il interagit également par liaisons Pi-Soufre avec les résidus Met241 (distances de 7,10 et 5,05) et Cys318 (7,02). De plus, neuf interactions hydrophobes de type Pi-Alkyle et Alkyle sont observées avec plusieurs résidus : Phe75 (6,12), Val238 (6,21 et 3,99), Val182 (6,95 et 4,90), Leu184 (5,18), Val320 (5,38), Ala314 (5,32) et Cys315 (6,82). Enfin, le ligand présente quatre interactions de van der Waals avec les résidus Tyr141, Arg143, Gly239 et Gly312.

Le mode d'interaction du similaire S47 est respectivement représenté en 2D dans les figures 18 suivante :

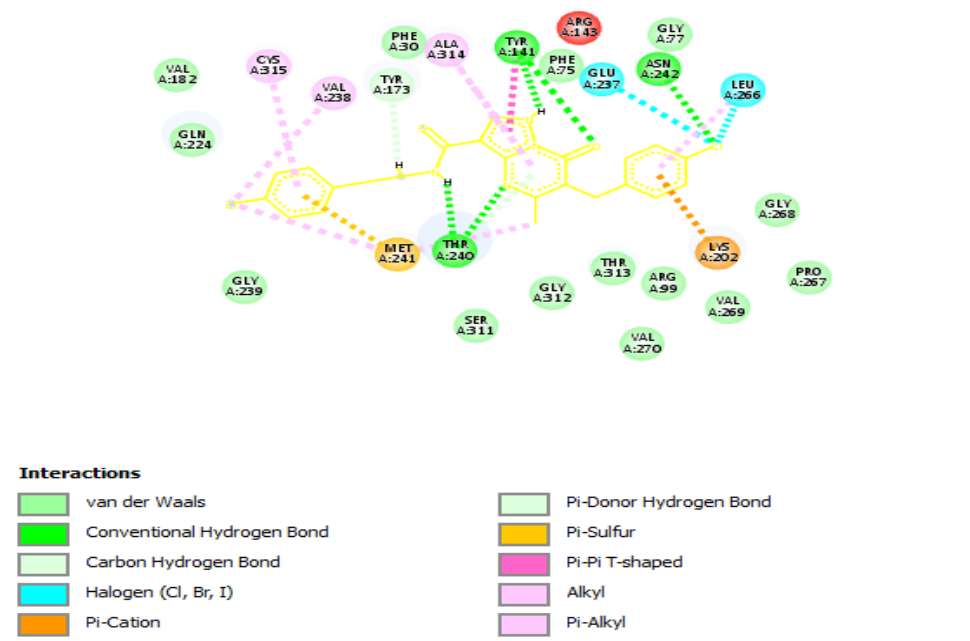


Figure 18 : Représentation en 2D des interactions de S47 avec le site actif de GABA aminotransférase.

La figure 18 montre que le ligand forme 26 interactions de natures différentes, réparties comme suit :

Le ligand forme cinq liaisons hydrogène classiques avec Tyr141 (6,08 et 7,18) et Thr240 (3,56 et 4,57) et Asn242 (3,88). Il crée aussi deux liaisons halogène avec Glu237 (5,59) et Leu266 (3,44), ainsi que deux liaisons hydrogène C-H avec Thr240 (5,66) et Tyr173 (5,27). Une interaction Pi-Soufre est observée avec Met241 (5,18), en plus d'une interaction Pi-Cation avec Lys202 (5,66). Le ligand établit également sept interactions hydrophobes de type Pi-Alkyle avec Val238, Cys315, Leu266, Ala314, Met241 et Thr240, avec des distances comprises entre 4,04 et 5,96. Il présente aussi une interaction Pi-Pi T-shaped avec Tyr141 (7,03). Enfin, sept interactions de van der Waals sont notées avec Gly239, Gly268, Gly312, Ser311, Val269, Val270 et Pro267.

Dans le cas du similaire S37, les interactions sont représentées dans la figure 19 suivante :

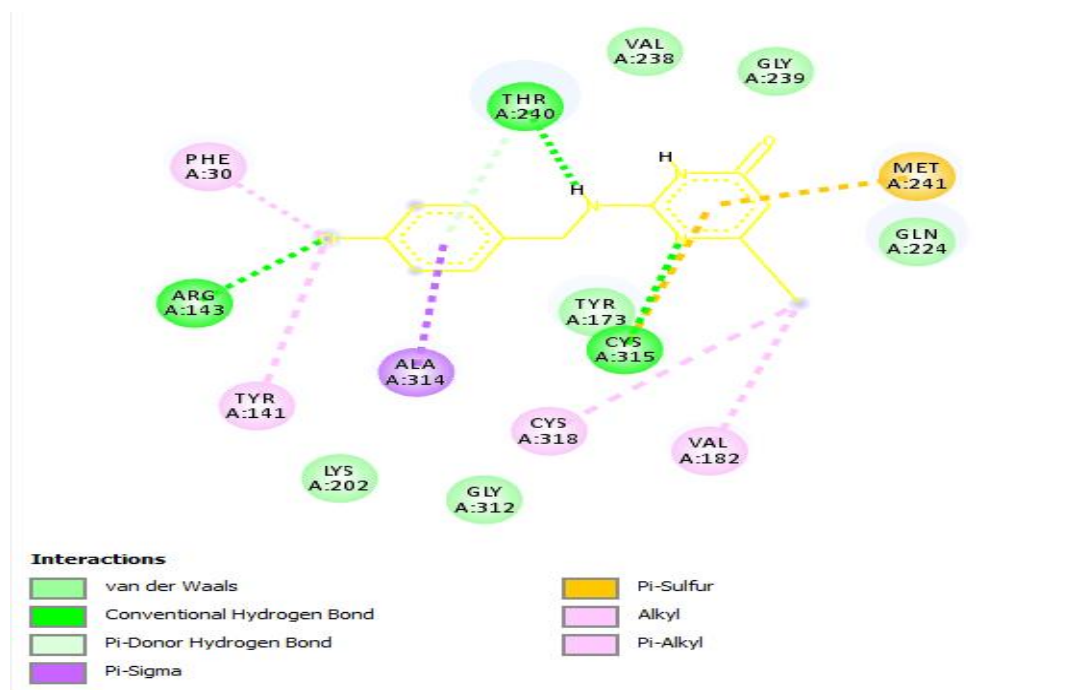


Figure 19 : Représentation en 2D des interactions de S37 avec le site actif de GABA aminotransférase.

Le composé S37 forme 16 liaisons de nature différente :

Le composé S37 établit un total de 16 interactions de nature variée avec les résidus de la protéine cible. Il forme trois liaisons hydrogène conventionnelles avec Thr240 (3,11), Cys315 (5,13) et Arg143 (6,33). Une liaison Pi-Donneur d'hydrogène est observée avec Thr240 (4,94), ainsi qu'une liaison Pi-Sigma avec Ala314 (4,26). Trois interactions Pi-Alkyle sont notées avec Cys318 (6,16), Val182 (5,10) et Tyr141 (6,53), en plus d'une interaction Alkyle avec Phe30 (6,11). Le ligand forme également deux interactions Pi-Soufre avec Met241 (4,22) et Cys315 (7,03). Enfin, cinq interactions de van der Waals sont identifiées avec les résidus Val238, Gly239 (deux occurrences), Gly312 et Lys202.

Enfin les interactions du similaire S13 sont représentées dans les figures 20 suivante :

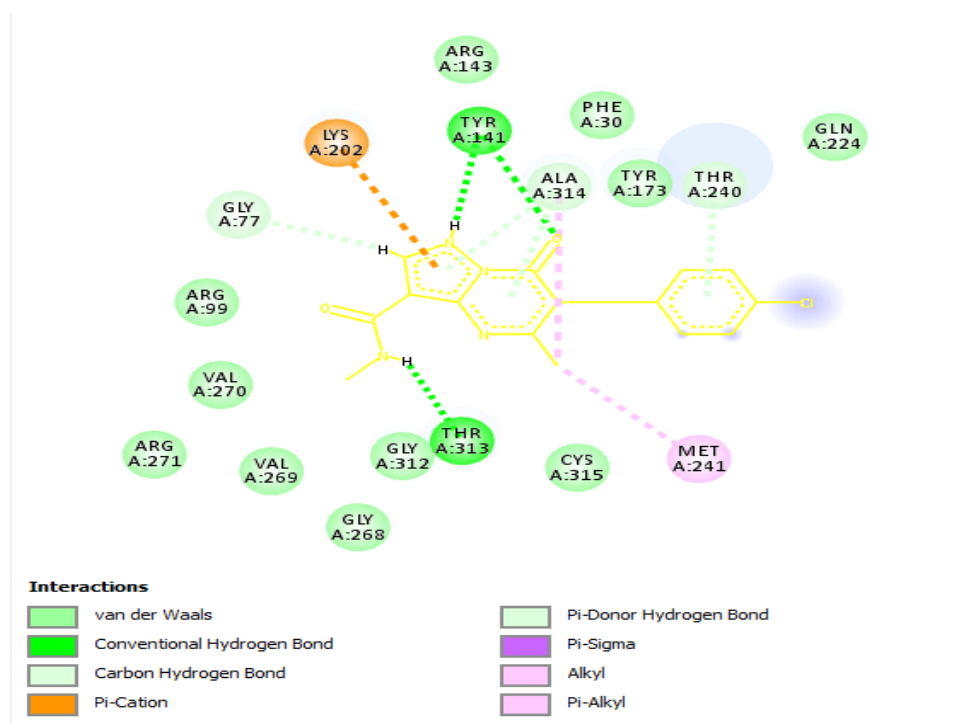


Figure20 : Représentation en 2D des interactions de S13 avec le site actif de GABA aminotransférase.

Le composé S13 forme 17 liaisons de nature différente :

Le composé S13 établit un total de 17 interactions de différentes natures avec les résidus protéiques. Il forme trois liaisons hydrogène classiques avec Tyr141 (5,40 et 5,51) et Thr313 (2,74). Quatre liaisons hydrogène de type carbone-hydrogène sont observées avec Ala314 (deux interactions à 4,10), Gly77 (3,18) et Thr240 (4,60). Une interaction Pi-Cation est notée avec Lys202 (7,68). Le ligand présente également deux interactions Pi-Alkyle avec Ala314 (4,66) et Met241 (3,90). Enfin, sept interactions de van der Waals sont détectées avec les résidus Arg99, Val269, Arg271, Val270, Gly312, Gly268 et Cys315.

4.Comparaison de l'effet inhibiteur des meilleurs inhibiteurs de GABA-AT

Pour évaluer l'effet inhibiteur des molécules proposées S_47, S_37, et S_13 en comparaison avec le ligand de référence (775), nous avons résumé les résultats des interactions dans le tableau 6. Les scores d'affinité des molécules S_47, S_37 et S_13 sont nettement supérieurs à celui du ligand de référence (775). Ceci indique une meilleure affinité de liaison des molécules naturelles avec le site actif du GABA-AT.

Chapitre 5: Résultats et Discussion

Le composé S_47 formé cinq liaisons hydrogène avec la cible, et les molécules S_37et S_13 forment trois liaisons hydrogène avec le récepteur GABA -AT, tandis que le ligand de référence 775 forme que deux liaisons. Ces liaisons hydrogène supplémentaires peuvent renforcer la stabilité de l'interaction. S47 et le ligand de référence ont respectivement 7 et 9 interactions hydrophobes, tandis que S_13 et S_37 ont respectivement 2 et 4. Ces interactions hydrophobes supplémentaires améliorent également la stabilité de la liaison.

Tableau 6 : Tableau récapitulatif score et de nombre des interactions du ligand de référence (775), S_47, S_37, S_13.

Composés	775 (référence)	S_47	S_37	S_13
Score d'affinité M ⁻¹	0,86	4,01	4,15	4,75
Nombre de liaisons hydrogène	2	5	3	3
Nombre de liaisons Carbone-Hydrogène	0	2	0	4
Nombre d'interactions Hydrophobes (Alkyl-pi alkyl)	9	7	4	2
Interactions avec les résidus clés de l'enzyme	Phe75, Cys315, Val182, Val320, Leu184, Val238, Tyr173	Val238, Met241, Thr240, leu266, Asn242, Glu237, Tyr141, Tyr173	Thr240, Phe30, Arg143, Tyr141, Cys315, Val182	Tyr141, Gly77 Thr313, Met241
Nombre d'interactions totales	11	14	7	9

Enfin, S_47 présente un nombre total d'interaction plus élevé (14) par rapport au ligand de référence et les deux autres similaires. Un nombre total d'interactions plus élevé indique une meilleure efficacité potentielle de l'inhibiteur.

Les molécules S_47, S_37, et S_13 montrent des performances supérieures par rapport au ligand de référence en termes de score d'affinité, de nombre de liaisons hydrogène. En particulier, S_47 se distingue avec le plus grand nombre total d'interactions (14), suggérant qu'il pourrait être le meilleur inhibiteur potentiel de la GABA-AT parmi les composés étudiés. Ces résultats indiquent que ces nouveaux inhibiteurs pourraient offrir une meilleure efficacité pour le blocage d'enzyme GABA-AT donc elle a fort effet inhibiteur contre la maladie d'épilepsie.

5. Filtrage ADMET des meilleurs inhibiteurs

5.1. Propriétés physico-chimiques

Nous avons prédit les paramètres physico-chimiques des trois meilleurs similaires en utilisant le serveur ADMETlab 3.0 dans le tableau 7.

Tableau7 : Propriétés physico-chimiques de ligand de référence et des trois meilleurs similaires.

Propriétés	775	C1	C2	C3
PM (g/mol)	318.1	454.1	263.08	330.09
Log P	2.801	3.539	2.988	2.091
nHa:Accepteur de H	5.0	6.0	4.0	6.0
NHd: Donneur de H	0.0	2.0	2.0	2.0
nRot : Nombre de liaisons rotatives optimal	7.0	7.0	4.0	4.0

TPSA	80.05	79.26	57.78	79.26
Règle de Lipinski	Accepté	Accepté	Accepté	Accepté
Règle de veber	Accepté	Accepté	Accepté	Accepté
Accessibilités à la synthèse	Facile	Facile	Facile	Facile

PM : poids moléculaire, **Log P** : coefficient de partage du composé Eau/octanol, **TPSA** : surface totale polaire.

Les résultats du tableau 7 montrent que le poids moléculaire des trois composés et le ligand ne dépasse pas 500 g/mol, facilitant ainsi leur pénétration dans les membranes biologiques. Les quatre composés sont en parfait accord avec les règles de Lipinski et Veber, ce qui indique qu'ils peuvent être pris par voie orale. De plus, ces quatre composés sont fortement solubles dans l'eau, qui peuvent se dissoudre dans les milieux aqueux tels que le sang pour atteindre leur site d'action. Le dernier critère étudié est l'accessibilité à la synthèse et dans notre cas, les quatre composés indiquent qu'ils peuvent être synthétisé chimiquement, cette évaluation étant basée sur des chiffres allant de 1 (facile à synthétiser) jusqu'à 10 (difficile à synthétiser).

5.2. Propriétés pharmacocinétiques

Pour obtenir une vision la plus complète possible des caractéristiques ADME des quatre meilleurs similaires, il était nécessaire d'évaluer les propriétés pharmacocinétiques via le serveur ADMETlab 3.0 dans le tableau 8.

Tableau8 : Propriétés pharmacocinétiques de ligand de référence et des meilleurs similaires à

partir de serveurs ADMETlab3.0.

Propriétés	775	C1	C2	C3
HIA	Non	Non	Non	Non
BBB	Non	Oui	Oui	Oui
CYP1A2 inhibition	Oui	Oui	Non	Non
CYP2C19 inhibition	Oui	Oui	Non	Oui
CYP2C9 inhibition	Oui	Oui	Non	Oui
CYP2D6 inhibition	Non	Oui	Non	Non
CYP3A4 inhibition	Oui	Oui	Non	Oui
t_{1/2} (Half-Life)	0.446	0.844	0.291	0.782

HIA absorption : absorption gastro intestinale, **BBB** pénétration : pénétration de la barrière hémato-encéphalique.

- **Absorption**

Toutes les molécules ont une perméabilité gastro-intestinale faible. Ces composés ne peuvent pas traverser la barrière gastro-intestinale pour arriver au sang avec une concentration thérapeutique efficace.

- **Distribution**

Selon les résultats du test BBB, les trois composés sauf l'inhibiteur de référence présentent une capacité à franchir la barrière hémato-encéphalique.

- **Métabolisme**

Ces isoenzymes de cytochrome P450 jouent un rôle très important dans le métabolisme des médicaments. D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que le cytochrome CYP3A4 est inhibé par les molécules 775, C1 et C3 étudiées, par contre, nous avons remarqués l'absence d'inhibition des cytochromes CYP2C19 et CYP2C9 par C2. Nous avons observé également que les molécules 775 et C1 inhibent CYP1A2 à l'exception de les molécules C2 et C3.

- **Excrétion**

La demi-vie ($t_{1/2}$) équivaut au temps qu'il faut pour que la concentration sanguine d'un médicament diminue à la moitié. Ce test montre que toutes les molécules possèdent un temps de demi-vie court.

5.3. Toxicité

Les serveurs ADMETlab 3.0 a été utilisés pour simuler la toxicité potentielle des composés d'intérêt. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 9.

Tableau9 : Toxicité potentielle de ligand de référence et des trois meilleurs similaires à partir de serveurs ADMETlab3.0.

Test	775	C1	C2	C3
Test d'Ames	Negative	Negative	Negative	Negative
HERG inhibitors	Negative	Negative	Negative	Negative

Cancérogénicité	Non	Non	Non	Non
H-HT: Hépatotoxicité humaine	Negative	Negative	Negative	Negative
Néphrotoxicité d'origine médicamenteuse	Positive	Negative	Negative	Negative
Toxicité aiguë par voie orale chez les rats	Negative	Negative	Negative	Negative
Corrosion oculaire	Negative	Negative	Negative	Negative
Sensibilité cutanée	Positive	Negative	Negative	Negative
Toxicité respiratoire	Positive	Negative	Negative	Negative

Les résultats du tableau 9 montrent que les trois similaires n'ont pas un effet mutagène c'est-à-dire qu'ils ne changent pas le matériel génétique. Cependant, il a été prédit que toutes ces molécules n'ont aucun effet cancérigène sur les souris et les rats. En ce qui concerne le test d'inhibition du gène HERG, aucun risque n'a été démontré pour les quatre composés.

Toutes les molécules n'ont aucun pouvoir toxique sur le foie. De plus, les résultats obtenus des tests de toxicité aiguë étaient prometteurs pour tous les composés. Toutefois, on a un risque positif sur la peau par le composé 775, et un effet négatif par les trois composés C1, C2 et C3. De plus, La molécule 775 peut provoquer un risque dans le cas de la toxicité respiratoire, par contre les molécules C1, C2 et C3 ne provoquent aucun problème respiratoire.

En conclusion, l'étude théorique que nous avons menée sur l'inhibition de la GABA AT fait ressortir les trois composées C1, C2, C3 comme nouvel inhibiteur de cette enzyme, présentant ainsi un profil ADMET favorable pour une application biologique.



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif principal de notre travail était de proposer de nouveaux inhibiteurs potentiels de la cible thérapeutique GABA aminotransférase pour le traitement de la maladie d'épilepsie et ce en faisant appel au docking moléculaire par surflex. Afin de vérifier que Surflex est un programme de docking moléculaire adapté à notre étude, nous avons tenté tout d'abord d'évaluer sa fiabilité via trois tests. Le premier consiste à calculer l'écart quadratique moyen ou RMSD pour 100 complexes protéine-ligand tirés arbitrairement via la PDB. Les résultats obtenus montrent que 69% des complexes étudiés ont présenté un RMSD parfaitement dans les normes. L'analyse visuelle faisant suite à ce test, confirme davantage la fiabilité du programme surflex en montrant de bonnes superpositions des modèles des ligands simulés et expérimentaux. Le deuxième test consiste à évaluer le coefficient de corrélation linéaire existant entre les scores de 31 inhibiteurs de la GABA-AT issus de la littérature et leur valeur d'IC₅₀ déterminées expérimentalement. Ce test a également confirmé la fiabilité du logiciel utilisé après l'obtention d'un coefficient de corrélation égal à -0.49. Ainsi, nous pouvons conclure que le programme surflex est suffisamment performant pour simuler les interactions gaba aminotransférase -inhibiteurs.

Afin de rechercher de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la GABA_{AT} le ligand a été choisi comme structure de départ pour tirer, à partir de la PubChem, 1000 composés similaires avec un taux de similarité égale à 80%. Le criblage virtuel de cette collection à l'égard du site actif étudié fait ressortir les composés S47, S37 et S13 comme meilleurs inhibiteurs potentiels de la GABA_{AT} avec les scores respectifs de 4,01, 4,15 et 4,75 M⁻¹. Valeurs bien supérieures à celle du ligand de référence qui est de 0,68 M⁻¹. L'analyse visuelle de leur mode d'interaction nous a permis de mettre en exergue l'importance des liaisons hydrogènes formées par ces 3 similaires à l'égard du site actif et, Van Der Waals, Pi-Anion, Pi-Sulfur, Pi-Pi stacking, Alkyl, Pi-Alkyl et Pi-Cation etc....

Enfin, l'étude des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques montre que ces trois composés prometteurs présentent un bon profil ADME. Avec une absorption hémato encéphalique élevée, nos composés peuvent atteindre le système nerveux central pour arriver jusqu'à leur cible.

En termes de perspectives d'avenir, ce travail pourra être complété et prolongé par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* afin de valider nos résultats théoriques et vérifier l'efficacité de l'approche *in silico*.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1] Aminoff, M. J., & Daroff, R. B. (Éds.). (2014). Encyclopedia of the neurological sciences (2nd edition). Academic Press, Elsevier.
- [2] Sethi, A., Joshi, K., Sasikala, K., & Alvala, M. (2020). Molecular Docking in Modern Drug Discovery : Principles and Recent Applications. In V. Gaitonde, P. Karmakar, & A. Trivedi (Éds.), Drug Discovery and Development—New Advances. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85991>
- [3] Projecteur sur le docking moléculaire. [En ligne]. <https://www.ebi-edu.com/coup-de-coeur-recherche-3/>.(consulte le 07 03 2025).
- [4] Etude descriptive statistique des crises d'épilepsie à l'Est Algérien. (s. d.).
- [5] Jallon P. 2002, Introduction. Presses Universitaires De France » ; P. 3–6.
- [6] Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Engel, J., Forsgren, L., French, J. A., Glynn, M., Hesdorffer, D. C., Lee, B. I., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Perucca, E., Scheffer, I. E., Tomson, T., Watanabe, M., & Wiebe, S. (2014). ILAE Official Report : A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55(4), 475-482. <https://doi.org/10.1111/epi.12550>
- [7] Epilepsie - « Symptômes, Causes, Traitements Et Prévention. VIDAL N.D». [En ligne]. <https://www.vidal.fr/maladies/systeme-nerveux/epilepsie.html>. Consulté Le 09 04 2025.
- [8] Epilepsie - « Causes, Traitements Et Prévention. Institut de cerveau ». [En ligne]. <https://institutducerveau.org/fiches-maladies/lepilepsie/causes-lepilepsie>. Consulte le 17 03 2025.
- [9] Flyer_Ursachen-2019_f.pdf. [En ligne]. https://www.epi.ch/wp-content/uploads/Flyer_Ursachen-2019_f.pdf.consulté le 27 03 2025.
- [10] « Les Différentes Formes D'épilepsie Chez L'adulte ». VIDAL N.D. [En ligne]. <https://www.vidal.fr/maladies/systeme-nerveux/epilepsie/medicaments.html>. Consulté Le 27 04 2025.
- [11] « Épilepsie : Symptômes Et Diagnostic N.D ». [En ligne]. <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/epilepsie/symptomes-diagnostic>. Consulté Le 09 05 2025.
- [12] Epilepsie. [En ligne]. <https://www.vidal.fr/maladies/systeme-nerveux/epilepsie.html>. Consulte le 17 03 2025.
- [13] Traore, B., Bah, S., & de Conférences, M. (s. d.). LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE PAR GRADE ET PAR DER ANNEE UNIVERSITAIRE 2020-2021.

Références bibliographiques

- [14] Seyma Sevincli, Z., Bildirici, N., Cetin, A., & Bildirici, I. (2023). GABA–AT Inhibitors : Design, Synthesis, Pharmacological Characterization, Molecular Docking and ADMET Studies. *ChemistrySelect*, 8(35), e202302683. <https://doi.org/10.1002/slct.202302683>.
- [15] Storici, P., Capitani, G., De Biase, D., John, R. A., Jansonius, J. N., & Schirmer, T. (2000). GABA-aminotransferase, a target for antiepileptic drug therapy. In A. Iriarte, M. Martinez-Carrion, & H. M. Kagan (Éds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Vitamin B6 and PQQ-dependent Proteins* (p. 315-318). Birkhäuser Basel. https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8397-9_52.
- [16] Storici, P., Capitani, G., De Biase, D., Moser, M., John, RA, Jansonius, JN, & Schirmer, T. (1999). Structure cristalline de la GABA-aminotransférase, une cible pour les traitements antiépileptiques. *Biochimie*, 38 (27), 8628-8634.
- [17] 4-aminobutyrate-2-oxoglutaratetransaminase (EC 2.6.1.19). [En ligne]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/protein/EC:2.6.1.19>. Consulté le 13 04 2025.
- [18] Yasir, M., Park, J., Lee, Y., Han, E.-T., Park, W. S., Han, J.-H., Kwon, Y.-S., Lee, H.-J., & Chun, W. (2023). Discovery of GABA Aminotransferase Inhibitors via Molecular Docking, Molecular Dynamic Simulation, and Biological Evaluation. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(23), 16990. <https://doi.org/10.3390/ijms242316990>.
- [19] Grover, S., Narang, RK, & Singh, S. (2024). La GABA-transaminase : un acteur clé et une cible thérapeutique potentielle pour les troubles neurologiques. *Agents du système nerveux central en chimie médicinale (Chimie-Agents du système nerveux central)*, 24 (1), 57-67.
- [20] Schousboe, A. et Waagepetersen, HS (2009). Acide gamma-aminobutyrique (GABA).
- [21] Schousboe, A., Larsson, O. M., Wood, J. D., & Krogsgaard-Larsen, P. (1983). Transport and Metabolism of 7-Aminobutyric Acid in Neurons and Glia : Implications for Epilepsy. *Epilepsia*, 24(5), 531-538. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1983.tb03417.x>.
- [22] Gène ABAT. <https://medlineplus.gov/genetics/gene/abat/> Consulté le 13 04 2025
- [23] Yasir, M., Park, J., Han, E.-T., Park, W. S., Han, J.-H., Kwon, Y.-S., Lee, H.-J., & Chun, W. (2023). Computational Exploration of the Effects of Mutations on GABA Aminotransferase in GABA Aminotransferase Deficiency. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 10933. <https://doi.org/10.3390/ijms241310933>.
- [24] Al-Obaidi, A., Elmezayen, A. D., & Yelekçi, K. (2021). Homology modeling of human GABA-AT and devise some novel and potent inhibitors via computer-aided drug design techniques. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(11), 4100-4110. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1774417>.
- [25] Gene: 4-aminobutyrateaminotransférase. [En ligne]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/18>. Consulté le 13 04 2025.

Références bibliographiques

- [26] Jirholt, J., Åsling, B., Hammond, P., Davidson, G., Knutsson, M., Walentinsson, A., Jensen, J. M., Lehmann, A., Agreus, L., & Lagerström-Fermer, M. (2011). 4-Aminobutyrate Aminotransferase (ABAT) : Genetic and Pharmacological Evidence for an Involvement in Gastro Esophageal Reflux Disease. PLoS ONE, 6(4), e19095. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019095>.
- [27] Salazar-Sánchez, J. C., Morales-Villagrán, A., López-Pérez, S. J., Pardo-Peña, K., Villalpando-Vargas, F., & Medina-Ceja, L. (2018). γ -Aminobutyric acid quantification in small volume biological samples through enzymatically induced electrochemiluminescence. *Luminescence*, 33(4), 722-730. <https://doi.org/10.1002/bio.3469>.
- [28] Watanabe, M., Maemura, K., Kanbara, K., Tamayama, T., & Hayasaki, H. (2002). GABA and GABA Receptors in the Central Nervous System and Other Organs. In International Review of Cytology (Vol. 213, p. 1-47). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(02\)13011-7](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(02)13011-7).
- [29] Empereur-Mot, C. (s. d.). Développement d'outils statistiques d'évaluation de méthodes de criblage virtuel : Courbes de prédictivité & Screening Explorer.
- [30] Hoffer, L. (2013). *Développement et validation du logiciel S4MPLE : application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du fragment-based drug design* (Thèse de doctorat, Université de Strasbourg).
- [31] Meslamani, JE (2012). *Développement de nouvelles méthodes de criblage in silico en chémogénomique* (Thèse de doctorat, Université de Strasbourg).
- [32] ZERDAOUI, S., & BOUNASLA, S. (2020). Docking moléculaire de deux flavones naturelles contre l'acétylcholinestérase et le butyrylcholinestérase. *Mémoire de master d'université : Chimie. M'sila : Université Mohamed Boudiaf. Algérie*.
- [33] TIFOURAK, D. (2019). Etude par Docking Moléculaire de l'inhibition des CYP3A4 par le jus de pamplemousse.
- [34] Halperin, I., Ma, B., Wolfson, H., & Nussinov, R. (2002). Principles of docking : An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 47(4), 409-443. <https://doi.org/10.1002/prot.10115>
- [35] BOUHEBEL A., DADOU T. (2022). Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la tryptophane 2,3 dioxygénase. Mémoire de master d'université : Biochimie Appliquée. Constantine : Université Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 12 p.
- [36] Mokrani, E. h. (2020). Introduction et rappels bibliographique. [En ligne] https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/BCM/2020/cours_docking-MOKRANI.pdf. Consulté le [17-3-2025].
- [37] Stefaniu, A. (éd.). (2019). *Amarrage moléculaire et dynamique moléculaire*. BoD–Livres à la demande.

Références bibliographiques

- [38] Torres, P. H. M., Sodero, A. C. R., Jofily, P., & Silva-Jr, F. P. (2019). Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4574. <https://doi.org/10.3390/ijms20184574>.
- [39] Jain, A. N. (2003). Surflex : Fully Automatic Flexible Molecular Docking Using a Molecular Similarity-Based Search Engine. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46(4), 499-511. <https://doi.org/10.1021/jm020406h>.
- [40] Chikhi, A. (2007). *Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase substances antibactériennes à l'aide de techniques de "docking"(arrimage) moléculaire* (Thèse de doctorat, thèse de doctorat, Université de Mentouri Constantine : Algérie).
- [41] BIOVIA Discovery Studio Visualizer [En ligne]. Available: <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer>. [Accès le 01-05-2025].
- [42] “GitHub - mimminou/PDB BASER: A fast Protein Chain / Ligand Extractor and organizer.” <https://github.com/mimminou/PDBASER?fbclid=IwAR0TAk5i9BAzTc5qSNPoszqgjkVpGToGamBG0d9STqeWAuG7GGZwLk4qyY> (accessed 01. 04, 2025).
- [43] 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. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>.
- [44] Microsoft, « Excel 2019 », 2019. [En ligne]. <https://www.microsoft.com/fr-fr/microsoft-365/excel> (consulté le mai 1, 2025).
- [45] Fu, L., Shi, S., Yi, J., Wang, N., He, Y., Wu, Z., Peng, J., Deng, Y., Wang, W., Wu, C., Lyu, A., Zeng, X., Zhao, W., Hou, T., & Cao, D. (2024). ADMETlab 3.0 : An updated comprehensive online ADMET prediction platform enhanced with broader coverage, improved performance, API functionality and decision support. *Nucleic Acids Research*, 52(W1), W422-W431. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae236>.
- [46] Berman, HM, Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, TN, Weissig, H., ... & Bourne, PE (2000). La banque de données sur les protéines. *Recherche sur les acides nucléiques*, 28 (1), 235-242.
- [47] Leach, A. R., Shoichet, B. K., & Peishoff, C. E. (2006). Prediction of Protein–Ligand Interactions. Docking and Scoring : Successes and Gaps. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(20), 5851-5855. <https://doi.org/10.1021/jm060999m>.
- [48] 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. <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0362-7>.

Références bibliographiques

- [49] 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 IPII of original article : S0169-409X(96)00423-1. The article was originally published in *Advanced Drug Delivery Reviews* 23 (1997) 3–25. 1. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3), 3-26. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0).
- [50] Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H.-Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(12), 2615-2623. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>.
- [51] Bergström, C. A. S., & Larsson, P. (2018). Computational prediction of drug solubility in water-based systems : Qualitative and quantitative approaches used in the current drug discovery and development setting. *International Journal of Pharmaceutics*, 540(1-2), 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.01.044>.
- [52] Fukunishi, Y., Kurosawa, T., Mikami, Y., & Nakamura, H. (2014). Prediction of Synthetic Accessibility Based on Commercially Available Compound Databases. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54(12), 3259-3267. <https://doi.org/10.1021/ci500568d>.
- [53] Dahlgren, D., & Lennernäs, H. (2019). Intestinal Permeability and Drug Absorption : Predictive Experimental, Computational and In Vivo Approaches. *Pharmaceutics*, 11(8), 411. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11080411>.
- [54] Akik, W. (2018). Étude de la perméabilité intestinale des médicaments par la reconstitution du transporteur BCRP/ABCG2 dans des protéoliposomes.
- [55] Gao, Z., Chen, Y., Cai, X., & Xu, R. (2017). Prédire la perméabilité des médicaments à la barrière hémato-encéphalique à partir des phénotypes cliniques : effets secondaires et indications des médicaments. *Bioinformatique*, 33 (6), 901-908.
- [56] Mathis, A. (2012). Rôle du cytochrome P450 dans les interactions médicamenteuses et environnementales chez les pharmaciens.
- [57] Badyal, DK et Dadhich, AP (2001). Cytochrome P450 et interactions médicamenteuses.
- [58] O. Nettleton, D., & J. Einolf, H. (2011). Assessment of Cytochrome P450 Enzyme Inhibition and Inactivation in Drug Discovery and Development. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 11(4), 382-403. <https://doi.org/10.2174/156802611794480882>.
- [59] Levy, D. D., Zeiger, E., Escobar, P. A., Hakura, A., Van Der Leede, B. M., Kato, M., Moore, M. M., & Sugiyama, K. (2019). Recommended criteria for the evaluation of bacterial mutagenicity data (Ames test). *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 848, 403074. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.07.004>.
- [60] Goodman, G. et Wilson, R. (1991). Prédiction de la cancérogénicité des produits chimiques chez l'homme à partir de données d'essais biologiques sur des rongeurs. *Environmental Health Perspectives*, 94, 195-218.

Références bibliographiques

- [61] Johnson, DE (2012). Estimation du risque de cancer humain à partir d'études de cancérogénicité chez les rongeurs : le paradigme changeant des produits pharmaceutiques. *Journal of Drug Metabolism & Toxicology*, 3 (06).
- [62] Lee, H.-M., Yu, M.-S., Kazmi, S. R., Oh, S. Y., Rhee, K.-H., Bae, M.-A., Lee, B. H., Shin, D.-S., Oh, K.-S., Ceong, H., Lee, D., & Na, D. (2019). Computational determination of hERG-related cardiotoxicity of drug candidates. *BMC Bioinformatics*, 20(S10), 250. <https://doi.org/10.1186/s12859-019-2814-5>.
- [63] Chikhi, A. (2008). Docking Efficiency Comparison of Surflex, a Commercial Package and Arguslab, a Licensable Freewar. *Journal of Computer Science & Systems Biology*, 01(01). <https://doi.org/10.4172/jcsb.1000007>.
- [64] Bell, E. W., & Zhang, Y. (2019b). DockRMSD : An open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. *Journal of Cheminformatics*, 11(1), 40. <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0362-7>.
- [65] BRAHMI AMINA et BOUGUERN ABIR. (2019). CARACTERISATION DE NOUVEAUX INHIBITEURS DE LA RIPK1, ENZYME DE LA NÉCROPTOSE, mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine1, 136 p.



ANNEXES

Annexe N°1 : Les valeurs de RMSD de 100 complexes étudiés.

COMPOSÉ NOMBRE	CODE PDB DE COMPLEX	CODE PDB DU LIGAND	VALEUR RMSD (Å°)	COMPOSÉ NOMBRE	CODE PDB DE COMPLEX	CODE PDB DU LIGAND	VALEUR RMSD (Å°)
01	1AGW	SU2	1,690	51	4A5S	N7F	1,454
02	1AH3	TO4	1,154	52	4A7B	3W4	2,223
03	1AIM	ZYA	3,512	53	4BTK	DTQ	1,802
04	1BQM	HBV	1,420	54	4CDL	LLK	0,626
05	1BNQ	AL4	1,690	55	4DO9	GFH	0,608
06	1DM2	HMD	1,687	56	4DPF	OLG	2,498
07	1DTQ	FPT	1,217	57	4EKU	1CK	3,481
08	1EL3	I84	1,912	58	4EY7	E20	1,555
09	1FRB	ZST	2,678	59	4FLL	Y76	1,375
10	1FS4	CRA	1,417	60	4GCA	2X9	2,287
11	1GSV	HC4	0,864	61	4IH6	1EP	1,616
12	1IL9	MOG	3,914	62	4JTZ	1NW	1,951
13	1OF1	SCT	3,483	63	4MKC	4MK	1,628
14	1PMN	984	2,574	64	4MOE	1YL	1,494
15	1RTT	HEF	1,593	65	4MPC	PV2	1,802
16	1ZHM	GSH	0,450	66	4MPX	2AV	1,920
17	2AN5	SAH	3,067	67	4MS6	28T	1,329
18	2BAN	357	1,926	68	4NFN	2KC	1,398
19	2C6T	DT5	2,391	69	4O09	2R6	0,500
20	2EXM	ZIP	1,050	70	4UED	QMN	1,465
21	2F6T	1C2	2,348	71	4ZLZ	4RV	2,204
22	2F6V	SK2	1,558	72	5AXP	1CK	3,481
23	2FDU	D1G	1,243	73	5BWV	775	1,252
24	2JBJ	G88	0,289	74	5CCU	EDO	1,718
25	2QDH	M2P	1,147	75	5DH4	5AV	1,183
26	2QU6	857	2,479	76	5ECV	5M2	2,809
27	2R3R	6SC	0,992	77	5EDH	5MF	3,026
28	2RJP	886	1,013	78	5EQQ	5RS	0,959
29	2V35	J54	0,905	79	5ETK	APC	0,813
30	2VEX	IZ4	1,948	80	5ETX	5R5	2,021
31	2VTT	LZD	0,423	81	5F00	5T8	1,744
32	2YIG	5EL	1,248	82	5F12	MHO	3,260
33	2Z5X	HRM	0,979	83	5F37	N5J	3,255

34	2ZJF	BSU	0,303	84	5FI2	5XX	1,629
35	3CCC	7AC	1,270	85	5HDX	60U	2,970
36	3CSE	N22	0,255	86	5IH5	AUE	3,294
37	3I5A	C2E	0,309	87	5JL9	ASD	0,869
38	3KEC	3KE	2,195	88	5L01	6Z4	3,526
39	3KK6	CEL	0,541	89	5LO1	70L	2,185
40	3KWF	B1Q	1,171	90	6FAF	D3B	2,432
41	3L54	LXX	1,407	91	6FW0	E92	1,142
42	3LJZ	LA3	2,047	92	6HHG	G4T	3,249
43	3MAK	GSH	1,230	93	6MA3	JAJ	1,742
44	3OOZ	ZOO	2,482	94	6MSA	JY4	0,400
45	3QQK	XO2	2,162	95	6NCG	KJD	0,103
46	3PKC	Y08	1,365	96	6OHS	JY	0,660
47	3V35	NTI	0,759	97	6SUK	FT8	1,183
48	3VEU	0GO	1,757	98	7K40	U5G	1,73
49	3ZMS	FAD	2,095	99	7TLN	INC	1,205
50	3ZNP	SE2	1,004	100	9HVP	OE9	1,650

Annexe 02 : Tableau des 1000 composés similaires issu de la PubChem avec leur affinité.

Composé nombre	N° CID	Affinité (M-1)	Composé nombre	N° CID	Affinité (M-1)	Composé nombre	N° CID	Affinité (M-1)
01	9255351	7,27	17	122190017	4,67	33	122190009	4,23
02	29780866	5,64	18	122190034	4,64	34	8084010	4,2
03	69079579	5,61	19	4261244	4,63	35	16734187	4,19
04	156562875	5,35	20	163454215	4,62	36	53003236	4,17
05	122190010	5,32	21	122190023	4,6	37	135713542	4,15
06	53044376	5,23	22	122190015	4,56	38	122190018	4,13
07	143995622	5,2	23	122190008	4,5	39	53207917	4,12
08	143995106	5,07	24	53045561	4,49	40	122190030	4,11
09	53044375	5,03	25	20942546	4,48	41	122190019	4,11
10	70890249	4,97	26	122190016	4,47	42	2030662	4,1
11	145194692	4,82	27	3878315	4,46	43	122190035	4,1
12	122190024	4,81	28	78319104	4,45	44	11590311	4,06
13	56948959	4,75	29	23610694	4,35	45	122190022	4,03
14	122190020	4,74	30	23610677	4,3	46	23613959	4,03
15	23610699	4,71	31	122190033	4,28	47	15988860	4,01
16	23613922	4,71	32	56615086	4,24	48	52533619	4,01

49	51117921	4,01	68	168300842	3,86	87	17600694	3,66
50	145564620	4,01	69	166361733	3,85	88	146424116	3,66
51	143995658	4	70	122190029	3,84	89	56628881	3,66
52	136498995	3,99	71	73315444	3,84	90	50748842	3,65
53	145024676	3,99	72	71056033	3,84	91	50748793	3,65
54	143995595	3,99	73	23613958	3,84	92	13381752	3,65
55	70925623	3,98	74	8710605	3,81	93	143995020	3,64
56	1263479	3,97	75	122190028	3,79	94	4039942	3,64
57	23610637	3,94	76	137382534	3,76	95	53044346	3,63
58	122190021	3,93	77	4548094	3,75	96	122136832	3,63
59	122190032	3,92	78	4997627	3,75	97	124614903	3,63
60	23613928	3,92	79	46268292	3,73	98	53003201	3,62
61	146423749	3,91	80	53003301	3,73	99	2026346	3,62
62	122190031	3,9	81	23613921	3,73	100	46263250	3,62
63	66836719	3,88	82	4894847	3,72	101	56636473	3,62
64	143995378	3,88	83	168571258	3,7	102	168573667	3,59
65	172026882	3,87	84	23610693	3,69	103	1863159	3,59
66	16733954	3,87	85	168573612	3,68	104	16448794	3,59
67	23610698	3,87	86	68088525	3,68	105	23610673	3,59

106	8710607	3,59	125	8710606	3,46	144	168571990	3,32
107	57494527	3,59	126	91505931	3,45	145	53003307	3,31
108	68250199	3,58	127	53044289	3,45	146	53003315	3,31
109	3242087	3,57	128	2035267	3,44	147	53207966	3,31
110	666913	3,56	129	143995376	3,44	148	46263227	3,31
111	122190038	3,55	130	68173261	3,44	149	143995563	3,31
112	53003203	3,55	131	1847983	3,43	150	650677	3,3
113	1851972	3,55	132	2027971	3,42	151	11619966	3,3
114	137641624	3,53	133	16734435	3,42	152	137220545	3,3
115	1281059	3,51	134	29780960	3,42	153	156562882	3,29
116	155536930	3,5	135	3579062	3,4	154	46202772	3,29
117	146423786	3,49	136	172423587	3,37	155	867917	3,28
118	156805561	3,49	137	46268303	3,35	156	2861392	3,28
119	162247161	3,49	138	22160357	3,35	157	53003169	3,28
120	89417870	3,49	139	8709653	3,34	158	46382028	3,28
121	3973410	3,48	140	90454676	3,34	159	23610687	3,28
122	5026172	3,47	141	4894276	3,33	160	4553019	3,27
123	53003308	3,47	142	4620559	3,32	161	23610676	3,27
124	13381732	3,47	143	1959288	3,32	162	166797952	3,27

163	53003217	3,26	182	46382039	3,2	201	98472909	3,1
164	4548099	3,26	183	20942561	3,2	202	53003202	3,1
165	53003306	3,26	184	137223710	3,2	203	22427259	3,1
166	90454675	3,26	185	166303741	3,19	204	46369724	3,1
167	3997577	3,25	186	147606233	3,17	205	168571397	3,1
168	53207914	3,25	187	23613963	3,17	206	137638085	3,09
169	46973402	3,25	188	20942547	3,16	207	53003168	3,09
170	5122601	3,25	189	1280225	3,15	208	68088642	3,08
171	1851570	3,25	190	15996682	3,15	209	46995905	3,08
172	53044276	3,25	191	53044284	3,15	210	16734188	3,07
173	24279520	3,24	192	40053822	3,15	211	1851038	3,06
174	665869	3,23	193	935384	3,14	212	675291	3,05
175	162357280	3,23	194	143126109	3,14	213	3275738	3,05
176	46205666	3,23	195	53003289	3,14	214	4526204	3,04
177	4642664	3,22	196	50748831	3,11	215	146423807	3,03
178	1848013	3,21	197	166643252	3,11	216	146424113	3,02
179	46263232	3,21	198	40170392	3,11	217	123280049	3,02
180	50929858	3,2	199	29780921	3,11	218	162357289	3,01
181	50926777	3,2	200	53044282	3,11	219	4374451	3,01

220	53003170	3,01	239	155313055	2,95	258	143995593	2,88
221	53003310	3,01	240	143995473	2,95	259	50929857	2,86
222	3544763	3,01	241	867913	2,94	260	53003290	2,86
223	162357294	3,01	242	171133936	2,94	261	53003303	2,86
224	162357306	3,01	243	144837711	2,94	262	23610650	2,86
225	146424119	3	244	162357264	2,93	263	4780179	2,85
226	137632970	2,99	245	166297144	2,92	264	53013463	2,85
227	46382015	2,99	246	70334404	2,92	265	46295701	2,85
228	166797890	2,99	247	58662275	2,92	266	4904620	2,85
229	5130856	2,98	248	25032870	2,91	267	3382301	2,85
230	29780969	2,98	249	16733976	2,9	268	161435819	2,85
231	22308866	2,98	250	145024670	2,9	269	16002438	2,84
232	17598706	2,98	251	46206671	2,9	270	53003216	2,84
233	91058441	2,98	252	17027593	2,89	271	143995283	2,84
234	29781023	2,97	253	46263226	2,89	272	1863824	2,83
235	5038717	2,97	254	4896392	2,89	273	2208508	2,83
236	137633949	2,96	255	1976348	2,89	274	162357199	2,83
237	23610714	2,96	256	162357279	2,89	275	753150	2,82
238	17595418	2,96	257	162357221	2,89	276	56615174	2,82

277	46201760	2,82	296	135459609	2,76	315	162357237	2,71
278	135459601	2,81	297	16668184	2,76	316	53044291	2,71
279	156805505	2,81	298	45896502	2,76	317	155533537	2,7
280	171140466	2,81	299	51950728	2,76	318	46263229	2,7
281	20854792	2,81	300	753114	2,75	319	53207913	2,7
282	126459950	2,81	301	68088296	2,75	320	1079880	2,69
283	653420	2,8	302	16734510	2,74	321	130192937	2,69
284	16425921	2,8	303	45896679	2,74	322	16733818	2,69
285	53298127	2,8	304	89639071	2,74	323	46203417	2,69
286	5204013	2,8	305	804643	2,72	324	22308862	2,69
287	137223832	2,8	306	130192964	2,72	325	171140467	2,68
288	90112644	2,79	307	24072977	2,72	326	162357251	2,68
289	69079580	2,78	308	46382025	2,72	327	667280	2,67
290	122190041	2,77	309	784601	2,72	328	1839248	2,67
291	53207912	2,77	310	29780877	2,72	329	155550337	2,67
292	1959647	2,77	311	23610635	2,72	330	130192967	2,67
293	3357859	2,77	312	4018619	2,72	331	867912	2,67
294	46382017	2,77	313	66836829	2,72	332	46382061	2,67
295	162357247	2,77	314	20863876	2,71	333	137220541	2,67

334	130182766	2,67	353	46263230	2,59	372	666420	2,52
335	157338723	2,66	354	3942804	2,59	373	23610648	2,52
336	42648193	2,65	355	157048590	2,59	374	146424115	2,52
337	51363635	2,65	356	135995051	2,59	375	145617466	2,52
338	45896381	2,65	357	60075426	2,59	376	172427633	2,51
339	130192851	2,64	358	46270606	2,58	377	23613957	2,51
340	162357220	2,64	359	1857801	2,56	378	87052486	2,5
341	144248250	2,64	360	2256878	2,56	379	146423774	2,5
342	139921187	2,64	361	56948231	2,56	380	31191878	2,5
343	155530070	2,63	362	20217711	2,55	381	59392857	2,5
344	1938713	2,63	363	155406675	2,54	382	17584695	2,49
345	8710608	2,63	364	23610643	2,54	383	162357300	2,49
346	90454844	2,63	365	21035750	2,54	384	43889279	2,49
347	156181074	2,62	366	1870397	2,54	385	51072926	2,49
348	793394	2,61	367	158012068	2,54	386	29780881	2,49
349	1942902	2,61	368	146424009	2,53	387	66836795	2,49
350	162357202	2,61	369	124614904	2,53	388	893481	2,48
351	46973412	2,6	370	23610629	2,53	389	137652425	2,48
352	135609656	2,6	371	46263247	2,53	390	1356539	2,48

391	1832881	2,48	410	70890335	2,41	429	45031106	2,37
392	162357196	2,48	411	21979606	2,41	430	930338	2,37
393	753151	2,47	412	146423993	2,4	431	145024906	2,37
394	46337927	2,47	413	4211147	2,4	432	137645042	2,36
395	46263237	2,47	414	22308863	2,4	433	77958502	2,36
396	794161	2,46	415	10073076	2,4	434	135331780	2,36
397	34909231	2,46	416	146402484	2,4	435	162357200	2,36
398	170066398	2,46	417	137301962	2,4	436	135857526	2,36
399	163772535	2,46	418	137641586	2,39	437	784605	2,36
400	155540110	2,44	419	1079882	2,39	438	143995102	2,36
401	877067	2,44	420	77955917	2,39	439	20486492	2,35
402	53044345	2,43	421	162357253	2,39	440	3350062	2,35
403	23610628	2,43	422	129198024	2,39	441	70532495	2,35
404	5306826	2,43	423	1943193	2,38	442	155514910	2,34
405	137647237	2,42	424	135645066	2,38	443	14547532	2,34
406	28688815	2,42	425	4216816	2,38	444	845857	2,34
407	22308920	2,42	426	1954514	2,37	445	23613940	2,34
408	146424010	2,42	427	16457462	2,37	446	7583103	2,34
409	15988862	2,41	428	20486467	2,37	447	4903352	2,34

448	4909407	2,34	467	16457428	2,28	486	51950726	2,24
449	3293855	2,34	468	784608	2,28	487	89808114	2,24
450	162357252	2,34	469	4972085	2,28	488	137660995	2,23
451	1954637	2,33	470	58772830	2,28	489	46263233	2,23
452	1972620	2,33	471	46337929	2,27	490	46263225	2,23
453	82273429	2,33	472	4367765	2,27	491	166645677	2,23
454	3387393	2,33	473	171133935	2,27	492	405216	2,23
455	23412456	2,33	474	135813629	2,27	493	66836836	2,23
456	3371434	2,33	475	56949073	2,27	494	46205339	2,23
457	4899002	2,32	476	70937736	2,26	495	10200127	2,22
458	16457252	2,32	477	4907222	2,26	496	23613938	2,22
459	3693812	2,32	478	138376926	2,26	497	22308921	2,22
460	1969094	2,31	479	2844420	2,26	498	143078811	2,22
461	70982597	2,31	480	23610626	2,26	499	124093296	2,22
462	68249909	2,31	481	23610675	2,26	500	58448095	2,22
463	46382021	2,3	482	9279254	2,26	501	135473093	2,21
464	53003304	2,3	483	53207918	2,25	502	893593	2,21
465	10223312	2,29	484	166606576	2,24	503	1956392	2,21
466	68088203	2,29	485	16734077	2,24	504	2034290	2,21

505	46382018	2,21	524	46263234	2,17	543	1863047	2,13
506	53207908	2,21	525	3624378	2,16	544	666574	2,12
507	53207910	2,21	526	4112034	2,16	545	134439487	2,11
508	13671689	2,21	527	1265655	2,15	546	2028980	2,11
509	146423765	2,21	528	17603532	2,15	547	20942567	2,11
510	126708789	2,2	529	146422572	2,15	548	49665732	2,11
511	754772	2,19	530	90454667	2,15	549	21083700	2,11
512	155545523	2,19	531	156600979	2,14	550	2034747	2,11
513	784381	2,19	532	53207889	2,14	551	162357233	2,11
514	17168375	2,19	533	2205555	2,14	552	1298403	2,1
515	122619999	2,19	534	18406977	2,14	553	70925426	2,1
516	90109889	2,19	535	20486486	2,14	554	123981353	2,1
517	70984148	2,19	536	20486545	2,14	555	53183911	2,09
518	153585435	2,18	537	23610636	2,14	556	784612	2,09
519	1078583	2,18	538	69483383	2,14	557	40053824	2,09
520	46382044	2,18	539	764165	2,13	558	24105262	2,09
521	166606379	2,18	540	46382022	2,13	559	23610627	2,09
522	53184100	2,18	541	810745	2,13	560	16004184	2,09
523	16675132	2,17	542	49964810	2,13	561	16762319	2,09

562	146422596	2,09	581	139470126	2,05	600	810748	2
563	56947454	2,09	582	1977386	2,04	601	17579438	2
564	21083713	2,09	583	155558460	2,04	602	143687622	2
565	137220586	2,08	584	1871857	2,04	603	124011174	2
566	7326949	2,08	585	20486351	2,04	604	123647617	1,99
567	23610638	2,08	586	4136725	2,04	605	930514	1,99
568	46203415	2,08	587	91512589	2,04	606	50926776	1,99
569	42957364	2,07	588	70925531	2,03	607	2029494	1,98
570	3926781	2,07	589	66635769	2,03	608	16012154	1,98
571	6473407	2,06	590	2888583	2,02	609	23613939	1,98
572	53003218	2,06	591	4912540	2,02	610	136465485	1,98
573	53044281	2,06	592	1857327	2,02	611	857489	1,97
574	163287228	2,06	593	53003312	2,02	612	156805516	1,97
575	122190037	2,05	594	53003487	2,02	613	171133931	1,96
576	22427257	2,05	595	22029345	2,02	614	49667302	1,96
577	154764370	2,05	596	29780893	2,01	615	143994974	1,96
578	22308919	2,05	597	137426209	2,01	616	90112124	1,96
579	4997240	2,05	598	20898937	2	617	90126872	1,95
580	145024673	2,05	599	155511789	2	618	2039206	1,94

619	155524707	1,94	638	405212	1,89	657	134441097	1,84
620	137426178	1,94	639	29781027	1,89	658	53003167	1,83
621	122620070	1,94	640	14950772	1,89	659	138377124	1,83
622	70094985	1,94	641	90126905	1,88	660	171133934	1,83
623	5345898	1,93	642	90110293	1,88	661	17147872	1,83
624	17079173	1,93	643	46201759	1,88	662	78426282	1,82
625	17168528	1,93	644	130192875	1,87	663	155543964	1,82
626	13465969	1,93	645	130192971	1,87	664	143563095	1,82
627	23610649	1,93	646	8032675	1,87	665	50752943	1,82
628	23610674	1,93	647	135609618	1,87	666	53184099	1,81
629	160987516	1,93	648	90419540	1,87	667	17079183	1,8
630	23789970	1,92	649	71100332	1,87	668	10847972	1,8
631	53003311	1,91	650	675328	1,86	669	5130855	1,79
632	1264254	1,9	651	17160005	1,85	670	21379631	1,79
633	162357216	1,9	652	171140469	1,85	671	134441096	1,79
634	123825598	1,9	653	166645695	1,85	672	90442348	1,78
635	118373084	1,9	654	90416517	1,85	673	68088592	1,78
636	90944267	1,9	655	23607416	1,84	674	156805480	1,78
637	956210	1,89	656	22308892	1,84	675	138377073	1,78

676	90442348	1,78	695	114514191	1,71	714	89498616	1,62
677	90454789	1,78	696	70925625	1,7	715	155514106	1,61
678	136030774	1,77	697	11669820	1,7	716	6501340	1,61
679	46382030	1,77	698	819028	1,68	717	90454785	1,6
680	16415154	1,76	699	54191843	1,68	718	3771788	1,6
681	146422523	1,75	700	46214564	1,68	719	162357272	1,59
682	4620560	1,75	701	819048	1,67	720	53207907	1,59
683	16414710	1,75	702	59333257	1,66	721	50752981	1,59
684	1837418	1,74	703	134441222	1,66	722	22308890	1,59
685	22308894	1,74	704	5134517	1,65	723	155521916	1,58
686	90454820	1,74	705	22308922	1,65	724	53003214	1,57
687	90419818	1,74	706	101897059	1,64	725	22308864	1,57
688	50753010	1,73	707	17079185	1,64	726	163287232	1,56
689	90454750	1,73	708	25136542	1,64	727	90126897	1,56
690	90110921	1,73	709	136087782	1,64	728	66974743	1,55
691	50753120	1,72	710	66974860	1,63	729	126837433	1,55
692	70006879	1,72	711	53003213	1,62	730	4667937	1,55
693	155529826	1,71	712	46973537	1,62	731	155486271	1,55
694	46263249	1,71	713	23610647	1,62	732	59876757	1,55

733	21035711	1,54	752	51357366	1,44	771	17147880	1,36
734	158893322	1,54	753	14867544	1,44	772	22308923	1,35
735	91614032	1,53	754	70925758	1,42	773	137426223	1,35
736	86602235	1,52	755	156601011	1,42	774	90454795	1,34
737	90454621	1,51	756	16417460	1,41	775	325511	1,34
738	52953381	1,51	757	166606641	1,41	776	149018746	1,34
739	70009470	1,51	758	21035716	1,41	777	46382072	1,33
740	21083708	1,51	759	158293862	1,41	778	22308893	1,33
741	152099673	1,5	760	135995110	1,41	779	53184085	1,31
742	98127674	1,49	761	156805491	1,4	780	130192896	1,31
743	146424003	1,48	762	15988878	1,39	781	2034860	1,31
744	46382038	1,48	763	154765137	1,39	782	1845455	1,31
745	68088318	1,48	764	22308865	1,39	783	91838332	1,3
746	90454622	1,47	765	135994995	1,39	784	155512252	1,29
747	21066088	1,47	766	122619996	1,39	785	138377072	1,29
748	53046133	1,47	767	20942289	1,38	786	130192981	1,28
749	137426106	1,46	768	90110026	1,38	787	134439495	1,28
750	66974884	1,46	769	6471579	1,37	788	142324846	1,28
751	53183931	1,45	770	145024740	1,37	789	46973755	1,28

790	53003212	1,28	809	21083707	1,2	828	3539665	1,11
791	153812602	1,28	810	20893181	1,18	829	784540	1,11
792	146052237	1,27	811	66650580	1,18	830	155346658	1,09
793	50752982	1,27	812	6471281	1,17	831	156805555	1,09
794	4886347	1,27	813	138377273	1,17	832	146423847	1,08
795	70925354	1,27	814	956211	1,17	833	156805498	1,08
796	54404716	1,27	815	50753012	1,17	834	90454853	1,08
797	53183923	1,26	816	142496513	1,17	835	123797760	1,07
798	6501336	1,25	817	142496560	1,17	836	53003208	1,05
799	135813628	1,25	818	137220569	1,17	837	136030649	1,03
800	66836785	1,25	819	58448350	1,17	838	10872495	1,02
801	53183921	1,23	820	137426205	1,15	839	50752940	1,02
802	164852376	1,23	821	135391567	1,14	840	68088475	1,02
803	761950	1,22	822	68088546	1,14	841	137658549	1,01
804	138377222	1,22	823	68088145	1,14	842	156181073	1,01
805	29780888	1,22	824	166593584	1,13	843	52533621	1
806	46382029	1,21	825	53207911	1,12	844	6501290	0,99
807	53184119	1,2	826	51357367	1,11	845	66836804	0,98
808	90321277	1,2	827	46382045	1,11	846	54086883	0,97

847	68105198	0,94	866	90454841	0,85	885	90454806	0,74
848	46382026	0,93	867	90454371	0,85	886	166606663	0,74
849	53046112	0,93	868	58772831	0,85	887	50752996	0,73
850	142259334	0,93	869	130192925	0,84	888	118545086	0,71
851	137362494	0,93	870	50752957	0,84	889	135264790	0,71
852	54338044	0,93	871	142324727	0,83	890	58100987	0,7
853	10136898	0,92	872	1836827	0,82	891	122620081	0,68
854	166645678	0,92	873	1850327	0,82	892	17336914	0,65
855	144700221	0,92	874	130192881	0,8	893	156805560	0,64
856	66974862	0,89	875	90126881	0,8	894	90419692	0,63
857	71837085	0,88	876	70925428	0,8	895	153812603	0,63
858	87052485	0,88	877	155811418	0,79	896	156805507	0,62
859	156181068	0,88	878	156805513	0,79	897	6521049	0,62
860	68088295	0,88	879	21083709	0,78	898	11589074	0,61
861	405231	0,87	880	122190042	0,76	899	53046119	0,6
862	156805548	0,87	881	1857788	0,76	900	136452736	0,6
863	137220614	0,87	882	118908395	0,76	901	17027594	0,57
864	68243550	0,87	883	68088530	0,76	902	53207906	0,57
865	118908406	0,86	884	49879215	0,75	903	118908442	0,56

904	10593906	0,56	923	145024771	0,35	942	78427124	0,14
905	53003313	0,53	924	51352517	0,35	943	53046122	0,13
906	46973534	0,53	925	53003215	0,34	944	156023026	0,12
907	10317144	0,52	926	156805552	0,31	945	53184110	0,12
908	29780907	0,51	927	146423748	0,31	946	66974886	0,12
909	46973500	0,5	928	156805502	0,29	947	15634896	0,1
910	46382073	0,5	929	43889280	0,27	948	68088312	0,09
911	68088527	0,5	930	50752983	0,26	949	58772856	0,09
912	21083705	0,47	931	78427120	0,24	950	46253434	0,08
913	130192872	0,46	932	53046201	0,23	951	6228516	0,05
914	29780884	0,46	933	90419691	0,23	952	90454630	0,04
915	46214565	0,45	934	9550249	0,22	953	90454370	0,02
916	50753119	0,43	935	90454812	0,21	954	90454576	0
917	9601326	0,43	936	68088379	0,2	955	155548682	-0,04
918	130192856	0,4	937	6141385	0,19	956	46270604	-0,05
919	50752944	0,4	938	4529348	0,19	957	90454673	-0,07
920	68757974	0,38	939	53046118	0,18	958	50752995	-0,1
921	50752994	0,37	940	90109607	0,17	959	144837690	-0,12
922	29780872	0,36	941	155551969	0,15	960	68088169	-0,12

961	88964849	-0,16	975	11070424	-0,78	989	29780899	-3,73
962	90454700	-0,19	976	66689525	-0,93	990	46951278	-7,44
963	90454817	-0,23	977	66685379	-0,93	991	70925394	-8,22
964	162653711	-0,24	978	50753136	-0,98	992	53044279	-8,93
965	53046117	-0,26	979	53207909	-1,02	993	172461601	-11,23
966	78427121	-0,28	980	53046132	-1,1	994	167954046	-25,26
967	156023017	-0,36	981	1484254	-1,2	995	155902807	-25,4
968	90454669	-0,38	982	171347073	-1,37	996	172658032	-27,16
969	171133932	-0,43	983	50753135	-1,74	997	166375772	-31,36
970	118908402	-0,48	984	137643457	-1,9	998	167800811	-31,55
971	53046236	-0,49	985	68088542	-2,58	999	167801690	-31,81
972	78426698	-0,5	986	10983748	-3,18	1000	172635977	-39,73
973	9572612	-0,54	987	156805557	-3,36			
974	5472894	-0,62	988	29780913	-3,52			



RESUME

Résumé

Notre travail, s'inscrit dans le cadre de la recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs potentiels de GABA aminotransférase ; cible thérapeutique validée pour le traitement de la maladie d'épilepsie. Le logiciel de docking moléculaire Surflex permet de simuler les interactions entre une cible enzymatique et différents ligands. Avec un pourcentage de 69% des valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2Å, cela nous a permis de conclure que le programme Surflex est assez performant et qu'on peut l'utiliser en toute confiance pour étudier profondément le mécanisme d'inhibition de l'GABA-AT. Dans cette étude, nous avons réalisé un docking basé sur la structure de ligand de référence avec le programme Surflex-dock d'une collection de 1000 similaires du ligand de référence 775 ; afin de découvrir de nouveau inhibiteur potentiel de GABA AT plus affins et plus sélectifs que le ligand de référence. Les résultats ont révélé que les composés S_13, S_37 et S_47 se sont distingués comme les meilleurs inhibiteurs de GABA-AT. Enfin, les propriétés ADMET des composés étudiés ont été évaluées, confirmant leur potentiel en tant qu'inhibiteurs de GABA-AT, avec des caractéristiques physico-chimiques et pharmacocinétiques favorables.

Les mots clés : GABA-AT, l'épilepsie, docking moléculaire, Surflex, RMSD, inhibiteur.

Abstract

Our work is part of the *in silico* search for new potential inhibitors of GABA aminotransferase; a validated therapeutic target for the treatment of epilepsy. The molecular docking software Surflex allows us to simulate the interactions between an enzymatic target and different ligands. With a percentage of 69% of RMSD values less than or equal to 2Å, this allowed us to conclude that the Surflex program is quite powerful and can be used with confidence to deeply study the mechanism of GABA-AT inhibition. In this study, we performed a docking based on the reference ligand structure with the Surflex-dock program of a collection of 1000 similar to the reference ligand 775; in order to discover new potential inhibitors of GABA-AT with greater affinity and more selective than the reference ligand. The results revealed that compounds S_13, S_37 and S_47 stood out as the best GABA-AT inhibitors. Finally, the ADMET properties of the studied compounds were evaluated, confirming their potential as GABA-AT inhibitors, with favorable physicochemical and pharmacokinetic characteristics.

Keywords: GABA-AT, epilepsy, molecular docking, Surflex, RMSD, inhibitor.

ملخص

عملنا هو جزء من البحث الحاسوبي عن مثبطات محتملة جديدة لإنزيم ناقلة أمين غابا (GABA aminotransferase)؛ وهو هدف علاجي معتمد لعلاج الصرع. يتيح لنا برنامج الالتحام الجزيئي Surflex محاكاة التفاعلات بين هدف إنزيمي وربيطات مختلفة. مع نسبة 69% من قيم RMSD أقل من أو تساوي 2Å، سمح لنا هذا باستنتاج أن برنامج Surflex قوي للغاية ويمكن استخدامه بثقة لدراسة آلية تنشيط GABA-AT بعمق. في هذه الدراسة، أجرينا عملية إرساء بناءً على بنية الربطة المرجعية باستخدام برنامج Surflex-dock لمجموعة من 1000 مشابهة للربطة المرجعية 775؛ بهدف اكتشاف مثبطات محتملة جديدة لـ GABA_AT ذات ألفة أكبر وانتقائية أكثر من الربطة المرجعية. كشفت النتائج أن المركبات S_13 و S_37 و S_47 برزت كأفضل مثبطات GABA-AT. وأخيراً، تم تقييم خصائص ADMET للمركبات المدروسة، مما يؤكد إمكاناتها كمثبطات GABA-AT، مع خصائص فيزيائية وكيميائية ودوائية مواتية.

الكلمات المفتاحية : GABA-AT ، الصرع، الالتحام الجزيئي، Surflex، RMSD، المثبط.

Année Universitaire : 2024/2025

Présenter Par :

❖ **BOUTEFNOUCHE Radja**

❖ **MENNOUR Zahra Nour**

Thème : Développement *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la GABA transaminase par docking moléculaire pour le traitement de la maladie de L'épilepsie.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en biochimie appliqué

Notre travail, s'inscrit dans le cadre de la recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs potentiels de GABA aminotransférase ; cible thérapeutique validée pour le traitement de la maladie d'épilepsie. Le logiciel de docking moléculaire Surflex permet de simuler les interactions entre une cible enzymatique et différents ligands. Avec un pourcentage de 69% des valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2Å, cela nous a permis de conclure que le programme Surflex est assez performant et qu'on peut l'utiliser en toute confiance pour étudier profondément le mécanisme d'inhibition de l'GABA-AT. Dans cette étude, nous avons réalisé un docking basé sur la structure de ligand de référence avec le programme Surflex-dock d'une collection de 1000 similaires du ligand de référence 775 ; afin de découvrir de nouveau inhibiteur potentiel de GABA_AT plus affins et plus sélectifs que le ligand de référence. Les résultats ont révélé que les composés S_13, S_37 et S_47 se sont distingués comme les meilleurs inhibiteurs de GABA-AT. Enfin, les propriétés ADMET des composés étudiés ont été évaluées, confirmant leur potentiel en tant qu'inhibiteurs de GABA-AT, avec des caractéristiques physico-chimiques et pharmacocinétiques favorables.

Mots clés : GABA-AT, l'épilepsie, docking moléculaire, Surflex, RMSD, inhibiteur.

Laboratoires de recherche: laboratoire de Biochimie appliquée (U Constantine 1 Frères Mentouri).

Jury d'évaluation :

Président du jury : M^{me} GUENDOUZE A. (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrante : M^{me} TENIOU S. (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinatrice : M^{me} DEMMAK R.G. (MCA- U Constantine 3 Salah Boubnider).