



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



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

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم البيولوجيا التطبيقية

### Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie  
**Filière :** Biotechnologie  
**Spécialité :** Bio-informatique

N° d'ordre :  
N° de série :

---

Conception de nouveaux composés de rhodanine comme  
puissants inhibiteurs de Mcl-1 pour le traitement du cancer,  
guidés par l'amarrage moléculaire.

---

**Présenté par :**  
**Melle Hadjer BECHARA**  
**Melle Amira ZERGAINOH**

**Soutenu le : 25/06/2025**

#### Jury d'évaluation :

**Présidente :** Pr Habiba BOUHALOUF

(PR U 1Frères Mentouri Constantine1)

**Examinatrice :** Dr Chaima BOUREGHDA

(MCA U 1Frères Mentouri Constantine1)

**Encadrant :** Dr Adel KRID

(MCB U 1Frères Mentouri Constantine1)

**Année universitaire : 2024 - 2025**

## Remerciements

Avant toute chose, nous rendons grâce à Allah (سبحانه وتعالى) qui nous a guidés et donné la force d'accomplir ce travail exigeant. الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات.

Nous exprimons notre profonde gratitude à Monsieur le docteur Adel KRID, notre encadrant, dont le soutien a été le pilier de ce mémoire. Son expertise en modélisation moléculaire et chimie computationnelle nous a permis d'aborder ce projet avec rigueur méthodologique. Sa disponibilité constante, même face à nos interrogations les plus techniques, et sa patience à l'égard des inévitables défis informatiques ont été précieuses. Ses conseils éclairés ont transformé nos hypothèses initiales en résultats concrets, faisant de cette expérience un véritable apprentissage scientifique et humain.

Nos remerciements les plus sincères vont également à Madame la Docteure Chaima BOUREGHDA pour l'intérêt attentif qu'elle a porté à notre travail. Ses remarques constructives sur les méthodes établies dans ce travail ont considérablement enrichi la qualité de nos analyses. Son regard expert a su identifier les axes d'amélioration tout en encourageant nos démarches les plus prometteuses.

Nous sommes particulièrement reconnaissants envers Madame la Professeure Habiba BOUHALOUF pour avoir accepté de présider ce jury. Sa vaste expérience dans le domaine de bio-informatiques et de physique théorique et de modélisation a donné une dimension supplémentaire à notre soutenance. Ses questions pertinentes et son écoute bienveillante ont permis d'approfondir la portée de nos interprétations.

Ce travail n'aurait pu aboutir sans le soutien institutionnel de notre Université Frères Mentouri Constantine 1. Nous remercions l'ensemble de l'équipe pédagogique du Master Bio-informatique pour avoir forgé nos compétences techniques et scientifiques.

Une pensée particulière va au centre de recherches en sciences pharmaceutiques CRSP de Constantine pour l'accès aux ressources informatiques.

Enfin, nos remerciements les plus émouvants vont à nos familles pour leur soutien inconditionnel tout au long de ce parcours universitaire.

Cette aventure scientifique nous a appris que la bio-informatique est bien plus qu'une simple rencontre entre biologie et informatique : c'est un langage nouveau pour décrypter le vivant. Si ce mémoire représente l'aboutissement d'un cycle, il n'est sans doute qu'un premier pas dans l'exploration de cet océan de données qu'est la vie.

## **Dédicace**

*A mon père, l'homme de ma vie, pour son soutien et la confiance qu'il m'a accordée, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir.*

*A ma mère, pour son amour, ses encouragements, ses sacrifices et ses prières.*

*A mes chers frères « Youcef et Sohaib », qui ont été une source de fierté et d'encouragement pour moi. Merci d'être toujours là.*

*A mes grands-pères et mes grands-mères, merci pour vos prières constantes, que dieu ait pitié des morts parmi eux et protège les autres.*

*A mon oncle « Larbi » et ma belle-sœur « Amira », merci d'être à mes côtés.*

*A toute ma famille et tous ceux qui ont participé de près et de loin à mon succès A tous ceux-là, je voudrais exprimer haut et fort, et en toute âme et conscience, ma gratitude et mes remerciements pour leur soutien permanent et infini.*

*Sans oublier mon binôme « Amira », pour son soutien et son amour, et toutes mes amies je vous souhaite une vie pleine de succès.*

**HADJER**

**A ma chère mère,**

**A mon cher père,**

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

**A ma chère Sœur MANEL**

**A mes chers frères ILYES, ADEL, AISSA**

Pour leurs soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, la gratitude et le respect que je vous ai Toujours portés

**A ma grande mère, Que dieu ait son âme !**

**A ma cher binôme Bechara Hadjer**

Pour son entente, sympathie, entraide et connivence.

**A toute ma famille et mes chères amies**

**Merci à vous**

**AMIRA**

## Table des matières

<b>Introduction générale .....</b>	<b>1</b>
<b>I. Méthodes In Silico en Drug Design : Révolution Computationnelle .....</b>	<b>6</b>
<b>I.1 Importance des Approches Computationnelles .....</b>	<b>6</b>
<b>I.2 L'intégration de l'intelligence artificielle dans la découverte de médicaments : enjeux et perspectives .....</b>	<b>8</b>
<b>I.3 Application du docking moléculaire dans le drug design .....</b>	<b>9</b>
<b>I.4 Amarrage moléculaire (docking moléculaire) .....</b>	<b>10</b>
<b>I.4.1 Étapes de l'amarrage moléculaire .....</b>	<b>10</b>
<b>I.4.1.a Recherche conformationnelle .....</b>	<b>11</b>
<b>I.4.1.b Fonction de score .....</b>	<b>11</b>
<b>II. Étude de la cible Mcl-1 dans un contexte bio-informatique et pharmacologique .....</b>	<b>12</b>
<b>II.1 Introduction .....</b>	<b>12</b>
<b>II.2 Contexte biologique de Mcl-1 .....</b>	<b>13</b>
<b>II.3 Rôles physiologiques .....</b>	<b>13</b>
<b>II.4 Mécanismes de régulation .....</b>	<b>13</b>
<b>II.5 Rôle en pathologie .....</b>	<b>13</b>
<b>II.6 Intérêt pharmacologique de Mcl-1 .....</b>	<b>14</b>
<b>II.7 Inhibiteurs de Mcl-1 .....</b>	<b>14</b>
<b>II.8 Domaine BH3 et BH3-mimétiques ? .....</b>	<b>16</b>
<b>I. Matériel .....</b>	<b>24</b>
<b>I.1 Equipements informatiques .....</b>	<b>24</b>
<b>I.2 Logiciels .....</b>	<b>24</b>
<b>I.2.1 MarvinSketch .....</b>	<b>24</b>
<b>I.2.2 Chimera .....</b>	<b>24</b>
<b>I.2.3 Autodock vina .....</b>	<b>25</b>
<b>I.2.4 PyMOL .....</b>	<b>25</b>
<b>I.2.5 PLIP (Protein-Ligand Interaction Profiler) .....</b>	<b>26</b>
<b>I.2.6 DockRMSD [7] .....</b>	<b>26</b>

I.2.7 Banques de données .....	26
RCSB Protein Data Bank (PDB) : La Référence Mondiale des Structures Biomoléculaires .....	26
II. Méthodes .....	27
II.1 Pré-docking.....	27
II.1.1 Préparation des éléments nécessaires au docking.....	27
II.1.1.A Sélection de la cible biologique .....	27
II.1.1.B Préparation de la cible.....	28
II.1.1.C Préparation des ligands .....	29
II.1.1.C.a Pour le selfdocking.....	29
II.1.1.C.b Pour le docking.....	29
II.1.1.D Génération de la boîte de grille (GRID BOX) .....	30
II.2 Validation du protocole de docking moléculaire .....	31
II.3 Docking moléculaire des ligands rhodanines .....	32
II.4 Analyse et visualisation des interactions .....	32
I. Docking moléculaire .....	36
II. Validation du docking .....	36
III. Protocole de validation .....	36
IV. Résultats et Discussion .....	37
IV.1 Analyse Structurale et Énergétique des Inhibiteurs de MCL-1 Ciblant les Poches P1-P4 et Arg263 .....	38
IV.2 Résultats Clés issus de cette étude in silico .....	38
IV.2.1 Profil Énergétique (simulations de docking) des Ligands .....	38
IV.2.2 Corrélation Structure-Activité (SAR) .....	39
IV.2.3 Implications pour la Conception d'Inhibiteurs .....	39
IV.2.4 Limitations et perspectives .....	40
IV.2.5 Conclusion synthétique .....	40
V. Profil ADME des dérivés de rhodanines .....	40
V.1 Absorption gastro-intestinale (GI) .....	42
V.2 Barrière hémato-encéphalique (BBB).....	43

<b>V.3 Substrat de la glycoprotéine P (P-gp) .....</b>	<b>43</b>
<b>V.4 Inhibition des enzymes du cytochrome P450 .....</b>	<b>43</b>
<b>V.5 Conclusion .....</b>	<b>45</b>
<b><i>Conclusion générale</i> .....</b>	<b>49</b>
<b>Perspectives .....</b>	<b>50</b>
<b>Résumé : .....</b>	<b>51</b>
<b>Annexe: .....</b>	<b>53</b>

## Liste des figures :

<b>Figure 1</b> : Résumé schématique du processus de découverte de médicaments superposé aux approches computationnelles correspondantes [5] .....	7
<b>Figure 2</b> : Résumé schématique du processus de découverte de médicaments superposé aux approches computationnelles correspondantes [5] .....	8
<b>Figure 3</b> : Méthodes d'amarrage rigide, flexible-rigide et entièrement flexible [24] .....	10
<b>Figure 4</b> : Applications de l'amarrage moléculaire dans la découverte et le développement de médicaments [32] .....	12
<b>Figure 5</b> : Représentation des différentes poches P1-P4 du domaine BH3 de la cible Mcl-1 .....	15
<b>Figure 6</b> : Représentation du complexe Mcl-1- BH3 (L'hélice BH3 est représentée en rouge) .....	16
<b>Figure 7</b> : L'interface du logiciel Chimera 1.18 .....	24
<b>Figure 8</b> : Structure 3D de la chaîne A de la PDB 6FS0 [10], visualisée par UCSF Chimera. ....	28
<b>Figure 9</b> : Schéma représentatif du protocole de synthèse des molécules rhodanines objets de cette étude [11] .....	30
<b>Figure 10</b> : Représente 2D des molécules synthétisée (3a-3v) [11] .....	30
<b>Figure 11</b> : Boîte de grille (Grid Box) du site actif BH3 de la Mcl-1 (E4W en représentation ball and stick) .....	31
<b>Figure 12</b> : superposition des Ligands Co-cristallisés (rouge) et la meilleure pose générée par Autodock vina (rouge) .....	37
<b>Figure 13</b> : Diagramme de dispersion des dérivés de rhodanines sur le plan WLOGP (lipophilie) versus TPSA (surface polaire topologique), généré par SwissADME .....	44
<b>Figure 14</b> : 3O-INTERACTIONS .....	53
<b>Figure 15</b> : 3P-INTERACTIONS .....	53
<b>Figure 16</b> : 3Q-INTERACTIONS .....	54
<b>Figure 17</b> : 3R-INTERACTIONS .....	54



<b>Figure 18 : 3S-INTERACTIONS .....</b>	<b>55</b>
--	-----------

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 1</b> : Avantages Décisifs des méthodes in silico [2] .....	6
<b>Tableau 2</b> : Énergies de liaisons des molécules rhodanine avec la MCL-1 (PDB :6FS0) .....	37
<b>Tableau 3</b> : Interactions observées des cinq meilleures ligands (3O-3S) .....	37
<b>Tableau 4</b> : Tableau Synthétique des Interactions Clés .....	39
<b>Tableau 5</b> : Propriétés physico-chimiques et descripteurs moléculaires des composés 3A–3S .....	41
<b>Tableau 6</b> : Évaluation des propriétés ADME des composés 3A–3S : GI, BBB, P-gp et isoformes CYP450 .....	41
<b>Tableau 7</b> : Profil de toxicité et propriétés pharmacocinétiques des molécules 3A–3S : Mutagénicité (AMES), risque cardio-toxique (hERG), hépato- toxicité et conformité à la règle de Lipinski .....	42

### **Liste des abréviations :**

**ADMET** : Absorption Distribution Métabolisme Elimination Toxicité

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**ARN** : Acide RiboNucléique

**AZD5991** : Inhibiteur de Mcl-1

**Bad** : Un sensibilisateur de l'apoptose

**Bak**: Bcl-2 antagonist/killer

**Bax**: Bcl-2-associated X protein

**Bcl-2**: Protéine pro-apoptotique

**BH3**: Bcl-2 Homology 3 (domaine structural)

**Bid**: Protéine activatrice de l'apoptose

**BIM**: Bcl-2 Interacting Mediator of Cell Death

**CADD** : Computer Aided Drug Design

**CRBN-E3 ligase** : Cereblon-E3 Ubiquitin Ligase

**CYP450** : Cytochrome P450 (enzymes métaboliques)

**E2F1** : Facteur de transcription

**E4W** : Ligand co-cristallisé avec Mcl-1 dans la PDB 6FSO

**GI**: Absorption Gastro-Intestinale

**GOLD** : Genetic Optimisation for Ligand Docking (logiciel de docking)

**HTS**: High-Throughput Screening (Criblage à Haut Débit)

**IA** : Intelligence Artificielle

**KRAS** : Kirsten Rat Sarcoma viral oncogene homolog

**LAM** : Les Leucémies Aiguës Myéloïdes

**MCL-1** : Myeloid Cell Leukemia 1

**miR** : microRNA

**ML** : Machine Learning

**NF- $\kappa$ B**: Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

**Noxa et Puma** : Des cibles transcriptionnelles de p53

**PDB** : Protein Data Bank (banque de données protéique)

**PLIP** : Protein-Ligand Interaction Profiler (outil d'analyse)

**P-gp** : Glycoprotéine P (pompe à efflux)

**PROTACs**: Proteolysis Targeting Chimeras

**QSAR**: Quantitative Structure-Activity Relationship

**QSPR**: Quantitative Structure-Property Relationship

**RCSB PDB**: Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank

**RMSD** : Root Mean Square Dérivation

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

**RX** : Rayons X

**SAR** : Corrélation Structure-Activité

**STAT3**: Signal Transducer and Activator of Transcription 3

**SUMO** : Small Ubiquitin-like Modifie

**TPSA** : Topological Polar Surface Area (surface polaire topologique)

**ZDOCK** : Algorithm de docking protéin-protéin

**6FSO** : La cible Mcl-1 dans la PDB

# ***Introduction générale***

## ***Introduction générale***

Les avancées récentes en modélisation moléculaire et la conception *in silico* de composés thérapeutiques et des molécules biologiquement actives ont révolutionné le développement de thérapies oncologiques. Dans ce travail, notre étude se focalise intensément sur l'évaluation par quelques méthodes de modélisation moléculaire (*in silico*) de 19 dérivés du noyau rhodanine comme inhibiteurs potentiels de la cible MCL-1, tout en situant ce travail dans un contexte plus large des approches computationnelles modernes dans le domaine de l'oncologie.

Les approches et techniques dites « *in silico* » ou computationnelles constituent un pilier indispensable dans la conception et la découverte de médicaments d'une manière générale et en oncologie plus spécifiquement. Ceci est connu sous le nom du « Computer Aided Drug Design (CADD) ». Comme l'ont démontré Sliwoski et al. [1], ces méthodes permettent non seulement de réduire les coûts et le temps de développement des édifices chimiques, mais aussi d'explorer des mécanismes d'action innovants. Notre méthodologie de travail (ici présent) combine la modélisation moléculaire par le docking moléculaire [2-3] et la prédiction des propriétés pharmacocinétiques ou profile ADMET [4].

Au-delà des inhibiteurs conventionnels dans le domaine de l'oncologie, deux stratégies émergentes illustrent la puissance des méthodes computationnelles :

Coles moléculaires (Molecular Glues) :

Ces petites molécules stabilisent des interactions protéine-protéine normalement transitoires. Le processus est désormais assez complexe avec le traitement des complexes ternaires protéine-protéine-ligand. La découverte récente du Thalidomide et ses dérivés (CRBN-E3 ligase [5]) a démontré leur potentiel thérapeutique. Les méthodes *in silico* sont cruciales pour prédire ces interactions ternaires complexes.

PROTACs (Proteolysis Targeting Chimeras) :

Ces molécules bifonctionnelles induisent la dégradation de protéines cibles. Le développement réussi d'ARV-110 contre le cancer de la prostate [6] a validé cette approche, qui repose largement sur la modélisation des interactions ternaires (cible-PROTAC-E3 ligase).

Le choix de MCL-1 dans ce travail, s'appuie sur son rôle central dans la résistance apoptotique, bien caractérisé par Czabotar et al. [7]. Nos travaux s'inscrivent dans la continuité des études récentes sur les inhibiteurs de MCL-1 [8], tout en apportant une approche computationnelle innovante pour les dérivés de rhodanine comme inhibiteurs de cette cible.

Ce manuscrit est présenté sous forme de trois chapitres. Une revue bibliographique succincte comprenant les concepts clés en modélisation moléculaire [9] ainsi que l'état de l'art sur MCL-1 et les molécules rhodanines [10]. Le second chapitre présente la méthodologie suivie, notamment les protocoles de docking moléculaire [2,3] d'une part et l'analyse des propriétés pharmacocinétiques

d'autre part [4]. Le dernier chapitre quant à lui sera consacré aux résultats et discussion : l'évaluation de l'amarrage des 19 dérivés rhodanine avec la cible Mcl-1, l'analyse des interactions non covalentes entre la cible et ces dérivés et l'étude du profil pharmacocinétique.

Ce manuscrit sera achevé par une conclusion générale et des perspectives.

## Références

- [1] Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., & Lowe, E. W. (2014). Computational methods in drug discovery. *Pharmacological Reviews*, 66(1), 334–395. <https://doi.org/10.1124/pr.112.007336>
- [2] Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- [3] Case, D. A., Aktulga, H. M., Belfon, K., Ben-Shalom, I. Y., Berryman, J. T., Brozell, S. R., Cerutti, D. S., Cheatham, T. E., III, Cisneros, G. A., Cruzeiro, V. W. D., Darden, T. A., Duke, R. E., Giambasu, G., Gilson, M. K., Gohlke, H., Goetz, A. W., Harris, R., Izadi, S., Izmailov, S. A., ... Kollman, P. A. (2021). *AMBER 2021*. University of California, San Francisco.
- [4] Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7, Article 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- [5] Ito, T., Ando, H., Suzuki, T., Ogura, T., Hotta, K., Imamura, Y., Yamaguchi, Y., & Handa, H. (2010). Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity. *Science*, 327(5971), 1345–1350. <https://doi.org/10.1126/science.1177319>
- [6] Snyder, L. B., Willard, R. R., Lin, M., McElvain, M., Zhang, Y., Zhou, H., ... & Hager, J. H. (2021). Discovery of ARV-110, a first-in-class androgen receptor degrading PROTAC for the treatment of men with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(20), 15189–15200. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01324>
- [7] Czabotar, P. E., Lessene, G., Strasser, A., & Adams, J. M. (2014). Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: Implications for physiology and therapy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(1), 49–63. <https://doi.org/10.1038/nrm3722>
- [8] Kotschy, A., Szlavik, Z., Murray, J., Davidson, J., Maragno, A. L., Le Toumelin-Braizat, G., Chanrion, M., Kelly, G. L., Gong, J.-N., Moujalled, D. M., Bruno, A., Csekei, M., Paczal, A., Szabo, Z. B., Sipos, S., Radics, G., Prosenyak, A., Balint, B., Ondi, L., ... Wei, A. H. (2016). The MCL1 inhibitor S63845 is tolerable and effective in diverse cancer models. *Nature*, 538(7626), 477–482. <https://doi.org/10.1038/nature19830>
- [9] Jorgensen, W. L. (2009). Efficient drug lead discovery and optimization. *Science*, 323(5918), 1019–1020. <https://doi.org/10.1126/science.1169330>
- [10] Zhang, H., Zhang, W.-D., Zhang, H.-R., Huang, W., & Liu, Y. (2021). Design, synthesis and biological evaluation of novel rhodanine derivatives as potential anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, Article 112872. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112872>



***Partie I :***  
***Contexte bibliographique***

***Chapitre 01***  
***Approches In Silico et***  
***Ciblage Thérapeutique de***  
***MCL-1***

## I. Méthodes In Silico en Drug Design : Révolution Computationnelle

Les approches et méthodes in silico désignent l'ensemble des techniques computationnelles et de modélisations numériques et moléculaires utilisées pour prédire, analyser et optimiser des propriétés de molécules thérapeutiques en amont de toute validation expérimentale. Ces méthodes s'appuient sur des algorithmes avancés, des simulations moléculaires et l'exploitation des bases de données chimiques dans le but d'accélérer la découverte de médicaments. Elles intègrent des méthodes et approches fondées sur la mécanique quantique, mécanique moléculaire tout en appelant les champs de forces et l'apprentissage automatique.

*"In silico methods have become indispensable in modern drug discovery, enabling the rapid exploration of chemical space while reducing reliance on serendipity." [1]*

### I.1 Importance des Approches Computationnelles

Les méthodes dites in silico ou computationnelles représentent de nos jours un pilier fondamental et indispensable dans la recherche et découverte de molécules biologiquement actives et de médicaments. Ceux sont des méthodes alternatives aux méthodes expérimentales.

**Tableau 1 :** Avantages Décisifs des méthodes in silico [2]

<i>Aspect</i>	<i>Impact</i>	<i>Exemple</i>
<i>Coût</i>	<i>Réduction jusqu'à 60%</i>	<i>1 million de composés testés pour &lt;10 000€</i>
<i>Délai</i>	<i>Accélération 100x</i>	<i>Découverte du sotorasib (anti-KRAS) en 6 mois vs 5 ans</i>
<i>Précision</i>	<i>Résolution atomique</i>	<i>Prédiction des modes de liaison à 1.5 Å près</i>

Et comme toute approche, les méthodes in silico présentent certaines des limites et soulèvent plusieurs défis :

- Qualité des données d'entrée (PDB, paramètres de force)
- Prédiction des effets in vivo (complexité biologique)
- Nécessite validation expérimentale (complémentarité essentielle)

Elles ont permis d'identifier plus de 60% des inhibiteurs de kinases approuvés depuis 2010 [3] et ont significativement contribué à la réduction du taux d'échec clinique grâce aux prédictions précoces des profils ADMET [4].

La Conception Assistée par Ordinateur de Médicaments (CADD) repose sur trois stratégies principales [5] :

- Approche systémique (basée sur les voies biologiques),
- Approche structurale (ciblant la conformation des protéines),
- Approche ligand-based (utilisant des molécules de référence connues).

Entre autres, les méthodes expérimentales, le criblage à haut débit (High-throughput

screening : HTS) permet d'identifier des composés dits "hit" qui sont potentiels, mais ce criblage reste assez coûteux et laborieux. Cependant, le CADD offre une alternative de pointe tout en réduisant le nombre de candidats (molécules) à tester expérimentalement, optimisant ainsi les coûts et accélérant la découverte de médicaments (comme déjà mentionné plus haut).

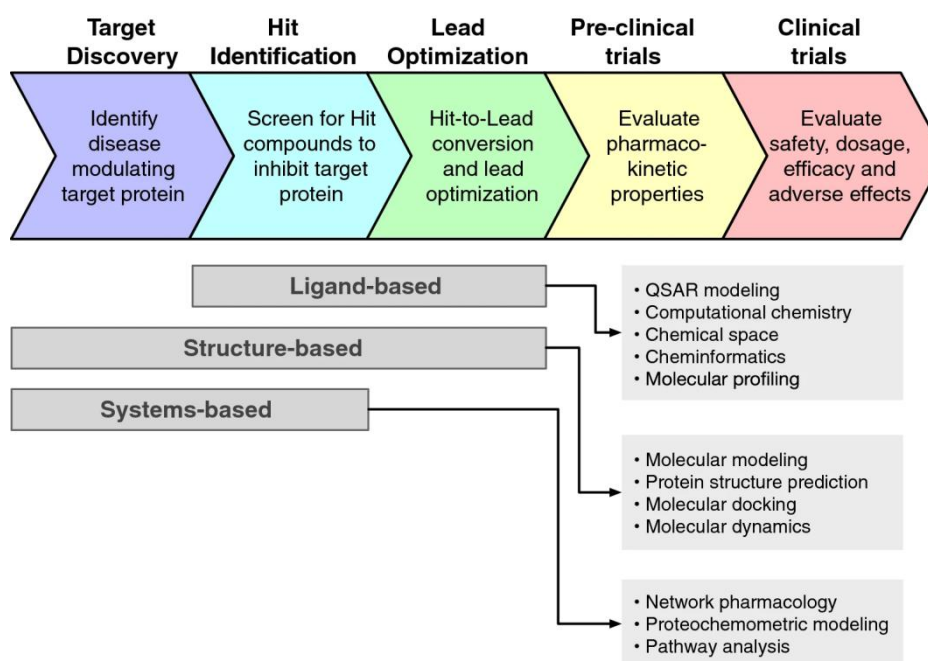
Les techniques de criblage virtuel, telles que l'amarrage moléculaire (docking), permettent d'évaluer *in silico* l'interaction entre une/des cible(s) thérapeutique(s) (généralement protéique) et des millions de composés virtuels.

Ces approches fournissent des données sur :

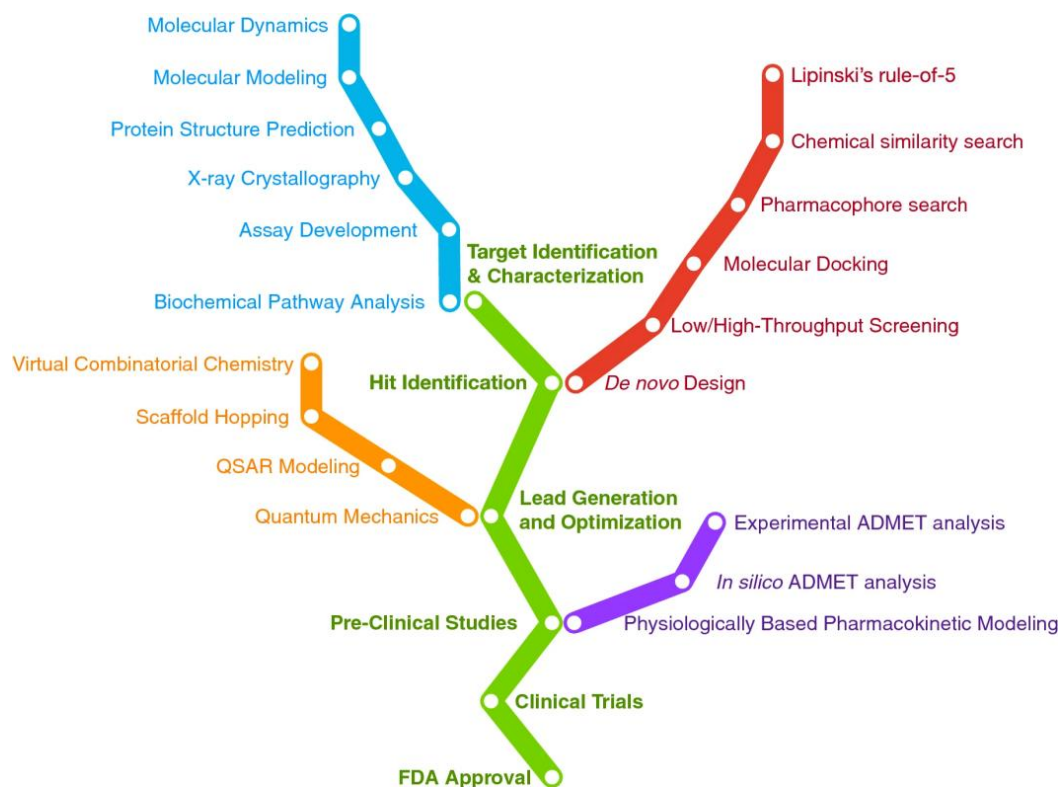
1. Affinité de liaison et énergie libre (aspect thermodynamique).
2. Les motifs structuraux des sites de liaison.
3. Les mécanismes d'action.

En intégrant modélisation moléculaire et analyses computationnelles, le CADD constitue un outils stratégique, qui permet non seulement des médicaments plus sélectifs et performants mais de mieux appréhender aussi les interactions moléculaires à l'échelle atomique.

Les figures suivantes [5-6] montrent et schématisent les différentes étapes ainsi que les différentes techniques expérimentales et computationnelles utilisées lors du développement de médicaments.



**Figure 1 :** Résumé schématique du processus de découverte de médicaments superposé aux approches computationnelles correspondantes [5]



**Figure 2 :** Résumé schématique du processus de découverte de médicaments superposé aux approches computationnelles correspondantes [5]

## I.2 L'intégration de l'intelligence artificielle dans la découverte de médicaments : enjeux et perspectives

L'intégration croissante de l'intelligence artificielle (IA) dans le domaine pharmaceutique constitue un tournant décisif dans les approches de découverte et de développement de nouveaux édifices chimiques thérapeutiques. Par sa capacité à traiter et analyser des volumes massifs de données (big data) et à modéliser des interactions moléculaires assez complexes, elle permet d'accélérer d'une manière exponentielle les processus traditionnellement longs et coûteux [7]. Les différents algorithmes d'apprentissage automatisés ont la capacité et la possibilité de cribler virtuellement des millions de composés en un temps record, tout en optimisant les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des candidats en question. Ces avancées techniques ouvrent la voie à une médecine plus personnalisée, où les traitements pourraient être adaptés aux caractéristiques génomiques individuelles [7].

Cependant, cette révolution technologique et comme toute autre technique ne va pas sans défis majeurs [7-8]. C'est la qualité et la représentativité des données d'apprentissage (data) qui constituent un premier écueil, pouvant conduire à des biais algorithmiques préjudiciables [8-9].

Enfin, le nécessaire de la validation expérimentale des prédictions *in silico* rappelle que l'IA doit être considérée comme un outil complémentaire plutôt que substitutif aux approches

traditionnelles [9].

### I.3 Application du docking moléculaire dans le drug design

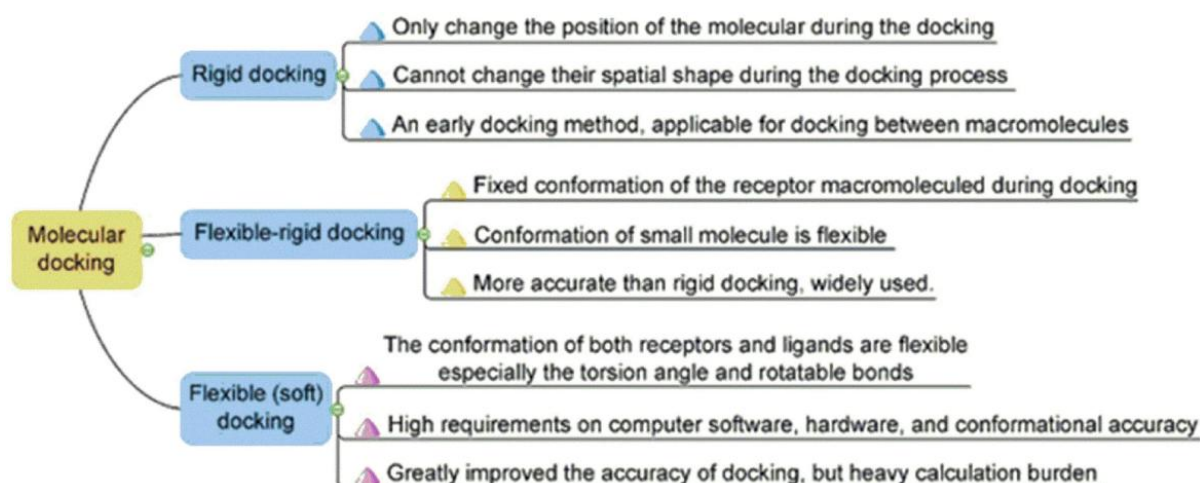
L'amarrage moléculaire ou docking moléculaire représente une approche essentielle et primordiale dans la conception rationnelle de médicaments [9-10]. Cette technique de simulation permet de prédire l'orientation, la conformation ainsi que l'affinité de liaison (d'interactions) des ligands (petites molécules) aux macromolécules cibles (généralement de natures protéiques). Cette méthode computationnelle facilite l'identification d'édifices et architectures moléculaires (thérapeutiques) potentiels en modélisant les interactions protéine-ligand. Elle repose sur trois objectifs fondamentaux : l'estimation de l'affinité de liaison (ou l'énergie d'interaction), la prédiction des conformations optimales (poses) et le criblage virtuel de vastes chimiothèques (molecular data sets) [10-11].

L'analyse initiale de la structure des complexes (protéine-ligand) vise à localiser des cavités de liaison exploitables à l'aide de méthodes *in silico* (connue sous le nom *de binding site detection*) [12]. Lorsque le site de liaison de la cible biomoléculaire est connu, le criblage virtuel est ainsi dirigé par l'amarrage moléculaire [12-13] et constitue une approche privilégiée, qui permet l'évaluation et la prédiction de ligands ayant un potentiel d'exercer une inhibition sur la cible en question [14]. En revanche, en l'absence d'informations structurales précises sur le site actif, une approche dite *blind docking* [15] peut être envisagée ; cependant, cette approche se heurte à des performances moindres en raison d'un espace de recherche conformationnel considérablement élargi et d'un coût computationnel plus élevé [11].

L'efficacité d'une simulation de docking moléculaire est étroitement liée à la précision et la rapidité des algorithmes utilisés [14] [16]. Plusieurs logiciels, tels que ZDOCK [17], GOLD [18] et AutoDock [19], mettent en œuvre des stratégies de recherche stochastiques ou déterministes, incluant les algorithmes de Monte Carlo, génétiques et de construction incrémentale, dans le but d'explorer l'espace de recherche conformationnel (échantillonnage) des complexes protéine-ligand engendrés [11]. Ces algorithmes prennent en compte divers paramètres, notamment les degrés de liberté de ligand et du récepteur (flexibilité), les interactions non covalentes mises en jeu (intermoléculaires : forces de Van der Waals, interactions électrostatiques et liaisons hydrogène) ainsi que la complémentarité géométrique et énergétique (beaucoup plus électrostatique) [11] [20-21].

Ces simulations de docking génèrent des ensembles de poses moléculaires, qui peuvent être classées selon la flexibilité du système étudié (pose ranking). L'amarrage (docking) rigide connu

aussi sous le nom de "lock-and-key model", dans lequel la flexibilité n'est pas prise en compte (ni le ligand ni le récepteur ne subissent de réarrangements conformationnels) [22], contrairement à l'amarrage flexible, celui-ci modélise plusieurs conformations accessibles du complexe [23] (voir figure 03). Actuellement, le docking moléculaire constitue un outil central dans plusieurs domaines de recherches pharmaceutiques, notamment le repositionnement de médicaments, la polypharmacologie, le criblage virtuel à haut débit et le profilage des cibles thérapeutiques.



**Figure 3 :** Méthodes d'amarrage rigide, flexible-rigide et entièrement flexible [24]

## I.4 Amarrage moléculaire (docking moléculaire)

Comme il a été déjà mentionné plus haut, le docking moléculaire constitue une méthode de simulation computationnelle centrale au sein de la conception assistée par ordinateur (CADD). Cette technique vise à prédire de prédire l'interaction et l'affinité de liaison entre une molécule bioactive (ligand) et sa cible protéique. Plusieurs logiciels spécialisés (AutoDock, Glide, GOLD, DOCK) implémentent et intègrent des algorithmes variés pour explorer les conformations de liaisons et estimer les énergies d'interaction relatives [25, 26].

### I.4.1 Étapes de l'amarrage moléculaire

Le processus d'amarrage s'articule autour de deux piliers fondamentaux : la recherche conformationnelle qui explore l'orientation et les conformations possibles du ligand au sein du site de liaison et l'évaluation par fonction de score destinée à estimer la stabilité et l'affinité de l'interaction. Ces étapes permettent de modéliser aussi bien les interactions protéine-protéine que protéine-ligand [27].

#### **I.4.1.a Recherche conformationnelle**

Cette phase repose sur des structures 3D déterminées expérimentalement (cristallographie, RMN) ou par modélisation (par homologie) ou par IA (alphafold). L'algorithme de recherche explore systématiquement :

- Les différentes (possibles) orientations spatiales du ligand au sein du site actif.
- Les degrés de liberté qui traduit la flexibilité du ligand (rotations des liaisons)
- Les conformations possibles (génération de poses candidates) [28, 29].

#### **I.4.1.b Fonction de score**

La fonction de score est une équation mathématique qui a pour but de quantifier l'énergie libre de liaison ( $\Delta G$ ) (ou énergie d'interaction) afin de classer les poses générées lors de la recherche conformationnelle. Trois approches principales coexistent :

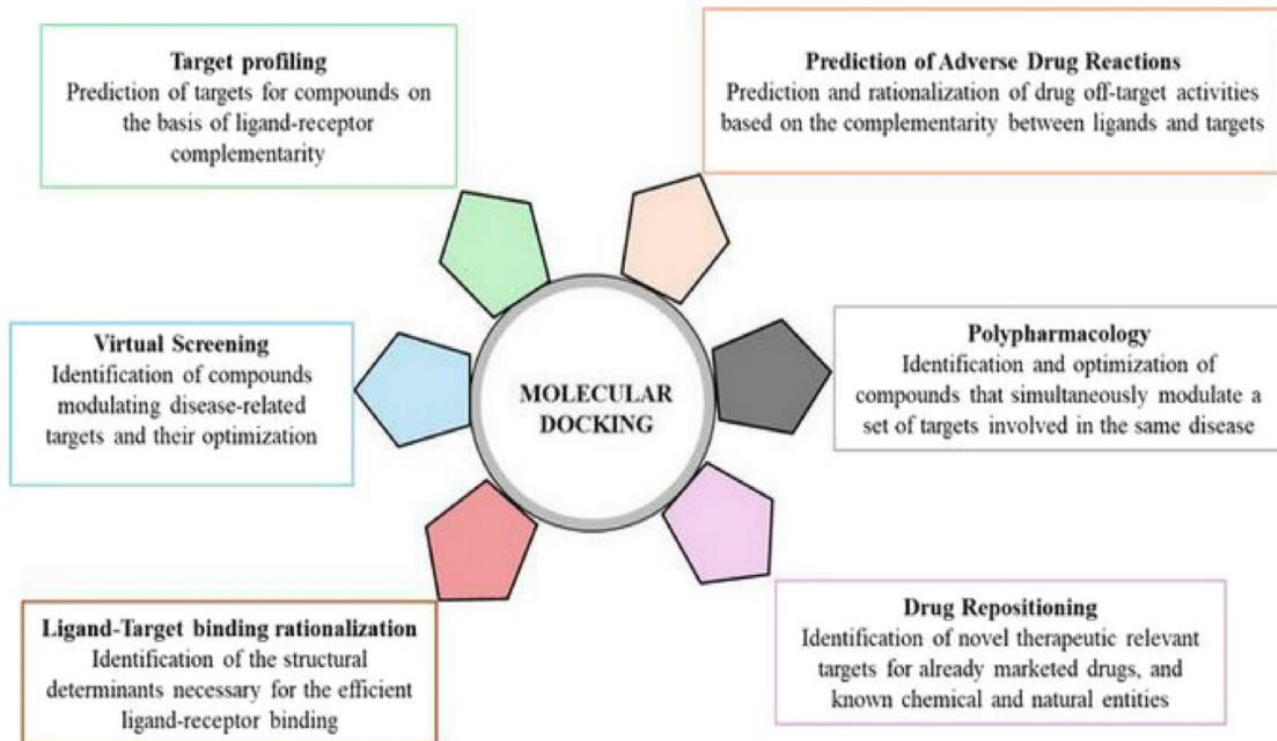
- Méthodes empiriques (paramètres ajustés sur des bases de données empiriques (expérimentales))
- Méthodes mécanistiques (calculs de mécanique moléculaire ou champs de forces)
- Méthodes hybrides (intégrant l'apprentissage automatique tels que ML et Deep Learning)

Cette étape est déterminante pour le criblage virtuel en conception de médicaments [30, 31].

La figure 4 illustre les différentes applications du docking moléculaire :

1. Profilage de cibles : Prédire les cibles potentielles de composés basés sur la complémentarité ligand-récepteur.
2. Criblage virtuel : Identifier et optimiser des composés modulant des cibles thérapeutiques.
3. Rationalisation des interactions ligand-cible : Déterminer les éléments structuraux clés pour une liaison efficace.
4. Repositionnement de médicaments : Découvrir de nouvelles cibles pour des médicaments existants.
5. Poly-pharmacologie : Identifier des composés agissant simultanément sur plusieurs cibles d'une même maladie.
6. Prédiction des effets indésirables : Anticiper les interactions hors-cible par analyse de complémentarité.





**Figure 4 :** Applications de l’amarrage moléculaire dans la découverte et le développement de médicaments [32]

## II. Étude de la cible Mcl-1 dans un contexte bio-informatique et pharmacologique

### II.1 Introduction

Dans le contexte de ce master en bio-informatique, et comme mentionné précédemment, l’étude des cibles thérapeutiques et pharmacologiques associées aux processus oncogéniques constitue un axe de recherche prioritaire. Elle est essentielle non seulement pour élucider les mécanismes pathologiques à l’échelle moléculaire et atomique, mais aussi pour orienter la conception de nouvelles stratégies thérapeutiques plus ciblées et plus efficaces.

La protéine Mcl-1 (*Myeloid cell leukemia 1*), membre de la famille Bcl-2, intervient de manière cruciale et centrale dans la régulation de l’apoptose en empêchant la mort cellulaire programmée. Son implication dans la survie des cellules cancéreuses, notamment dans les hémopathies malignes, en fait une cible thérapeutique stratégique dans le développement de traitements anticancéreux [33].

Mcl-1 est une protéine à régulation rapide, dont l’expression et la stabilité sont finement contrôlées au sein de la cellule. Sa surexpression est fréquemment corrélée à des phénotypes de résistance aux traitements, ce qui rend son inhibition particulièrement stratégique dans de nombreuses pathologies oncologiques [34]. Le développement de modulateurs ciblant spécifiquement Mcl-1 constitue ainsi un enjeu majeur pour la recherche en oncologie de précision.

## **II.2 Contexte biologique de Mcl-1**

La protéine Mcl-1 appartient à la famille des protéines Bcl-2, qui régulent l'équilibre entre la survie et la mort cellulaire par apoptose. Elle est codée par le gène Mcl-1, situé sur le chromosome 1q21.2, une région fréquemment amplifiée dans divers cancers [35]. Mcl-1 est essentielle à la survie des cellules souches hématopoïétiques, des lymphocytes B et T, ainsi que des cellules cardiaques et neuronales dans certains contextes développementaux.

## **II.3 Rôles physiologiques**

1. Préservation de la viabilité cellulaire en empêchant la perméabilisation de la membrane externe mitochondriale.
2. Inhibition de l'activation de Bax et Bak, deux effecteurs pro-apoptotiques. Bax (Bcl-2-associated X protein) et Bak (Bcl-2 antagonist/killer) sont capables de former des pores dans la membrane mitochondriale externe lorsqu'ils sont activés, entraînant la libération du cytochrome c et d'autres facteurs pro-apoptotiques [36].
3. Inhibition indirecte de l'activation de la caspase-9, une protéase initiatrice activée par le complexe apoptosome formé suite à la libération du cytochrome c. La caspase-9 déclenche ensuite une cascade enzymatique activant les caspases effectrices (caspase-3, -6, -7), conduisant à l'apoptose [37].
4. Implication dans la réponse au stress cellulaire, à la signalisation de l'ADN endommagé, et à la régulation du cycle cellulaire.

## **II.4 Mécanismes de régulation**

- Régulation transcriptionnelle : par des facteurs comme STAT3, NF- $\kappa$ B, E2F1 [38].
- Post-transcriptionnelle : via des microARNs (ex : miR-29, miR-101) et des protéines liant l'ARN.
- Post-traductionnelle : phosphorylation, ubiquitinylation, SUMOylation qui conditionnent la stabilité de la protéine [42].

## **II.5 Rôle en pathologie**

La dérégulation de Mcl-1 est observée principalement dans les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) d'une part, car la Mcl-1 confère une résistance aux inhibiteurs de Bcl-2 (ex : venetoclax) et dans les lymphomes non hodgkiniens, myélomes multiples, carcinomes pulmonaires à petites cellules d'autre part puisqu'elles sont souvent associée à une expression aberrante de Mcl-1 [39].

## II.6 Intérêt pharmacologique de Mcl-1

Le ciblage pharmacologique de Mcl-1 s'inscrit dans la stratégie des thérapies ciblées, visant à exploiter la dépendance de certaines cellules cancéreuses à des protéines de survie spécifiques. Donc pourquoi cibler Mcl-1 ? Cependant la réponse à cette question s'inscrit premièrement selon sa dépendance oncogénique, puisque certaines tumeurs développent une addiction à Mcl-1 pour survivre. Deuxièmement à sa résistance croisée (il est à noter que les cellules résistantes aux inhibiteurs de Bcl-2 ou Bcl-xL deviennent souvent dépendantes de Mcl-1) [33]. Finalement elle représente une fenêtre thérapeutique potentielle du fait que certaines cellules cancéreuses dépendent fortement d'elle.

## II.7 Inhibiteurs de Mcl-1

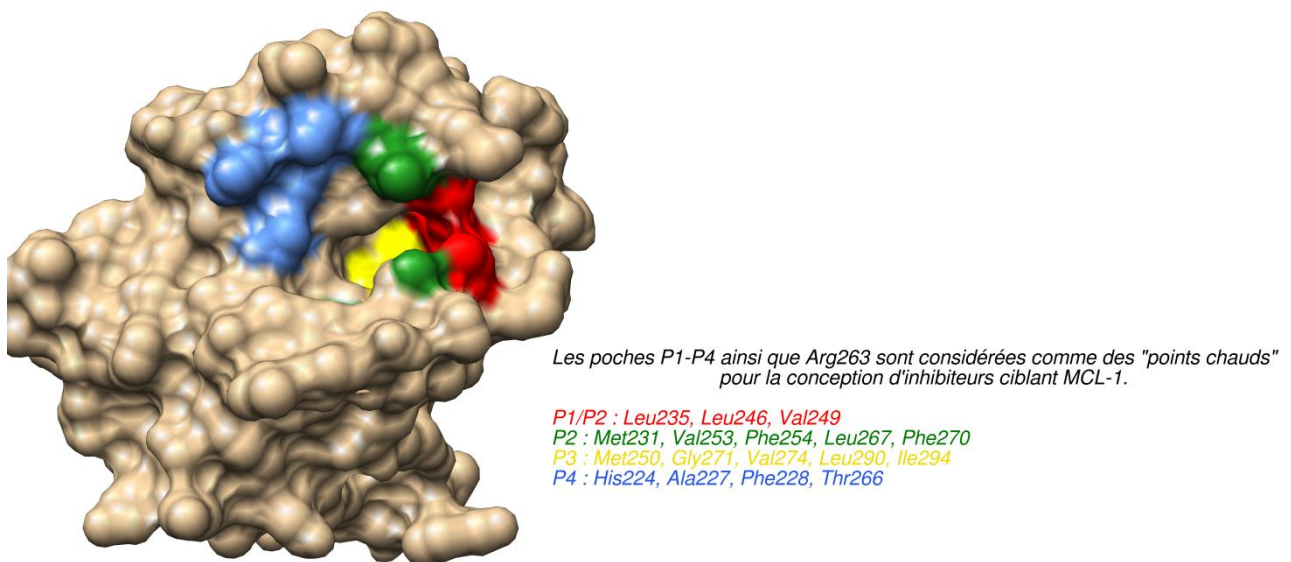
Lee et al. [46] ont été les prisonniers à cibler l'interaction protéine-protéine de Mcl-1 et à démontrer que sa neutralisation représente une stratégie efficace pour cibler cette enzyme. Cette observation a été cruciale pour le développement de petites molécules l'inhibant directement. Depuis lors, les recherches se sont concentrées sur le développement d'inhibiteurs spécifiques et puissants de Mcl-1 (Mcl-1i). Trois défis majeurs à surmonter, retardant le développement d'inhibiteurs directs. Ces défis sont :

- La cavité de liaison (binding site) de la cible est peu profonde et relativement rigide. Ceci a compliqué la conception ou le design d'inhibiteurs à haute affinité. De plus, le problème de sélectivité. Ceci est dû à la structure des sites de liaison BH3 qui est dépourvue de singularités topologiques et se trouve très similaire à d'autres protéines pro-survie de la famille Bcl-2 [47–49].
- Le manque de spécificité : les premiers Mcl-1i (gossypol [49], apogossypolone [50], antimycine A [51], obatoclax [52] et TW-37 [53]) manquaient à la fois de sélectivité et de puissance [54].
- Des profils pharmacocinétiques médiocres et une perméabilité membranaire limitée [55] ont initialement empêché leur utilisation clinique.

Afin de contourner ces obstacles, les chercheurs ont identifié des "hot spots" (sites critiques ou régions clefs) dans la protéine Mcl-1. Ces points sont essentiels à la liaison des mimétiques BH3 (avec stabilité observée !). Grâce aux techniques expérimentales telles que la RMN, la cristallographie RX et des études de mutagenèse, quatre poches hydrophobes (P1-P4) ainsi que le résidu arginine 263 (Arg263) ont été observés et ainsi caractérisés comme étant critiques pour la

liaison à cette cible [56]. Les poches P2 et P3, offrent une affinité accrue pour les peptides [57-59]. La poche P2, plus volumineuse, permet d'accueillir des ligands encombrants, tandis que P3 et P4 améliorent l'affinité. L'Arg263, formant un pont hydrogène et/ou pont salin avec les Mcl-1i, s'est révélé important et indispensable à leur efficacité, l'indole étant un motif privilégié [60-62].

Les inhibiteurs directs des interactions Mcl-1 adoptent une structure similaire aux motifs BH3 et se lient à la cavité hydrophobe BH3 de Mcl-1. Ils se classent en plusieurs types : inhibiteurs peptidiques, dérivés de marinopyrrole, gossypol, quinoléine, et indole [63]. Leur utilisation dans des lignées cellulaires dépendantes de Mcl-1 perturbe l'interaction Mcl-1 : BAK, libérant les protéines BH3 pro-apoptotiques (comme BIM) pour activer la voie mitochondriale de mort cellulaire [33,44]. La figure suivante schématise les différentes poches observées dans la cible en question.

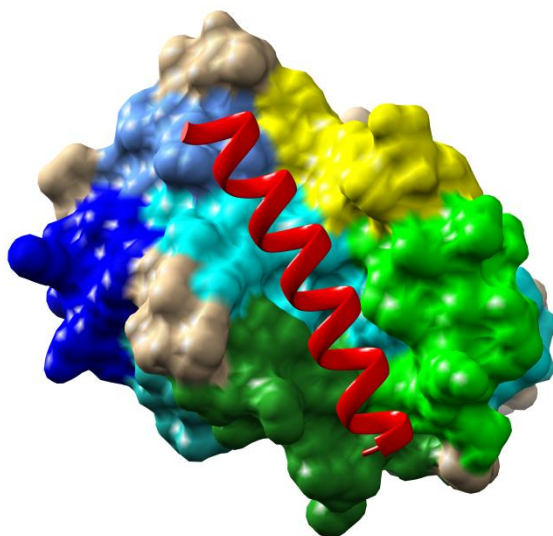


**Figure 5 :** Représentation des différentes poches P1-P4 du domaine BH3 de la cible Mcl-1

AZD5991 est un inhibiteur macrocyclique de la Mcl-1. Il a été développé par la firme AstraZeneca, se distingue par une affinité remarquable pour sa cible ( $K_i = 0,2$  nM). Son mécanisme repose sur la perturbation de l'interaction entre la Mcl-1 et la protéine pro-apoptotique BAK induisant ainsi l'apoptose dans les cellules cancéreuses [33,44]. AZD5991 a démontré une efficacité notable dans les cancers hématologiques notamment les leucémies, les lymphomes et le myélome multiple. Son action est renforcée et potentialisée lorsqu'il est administré avec le bortézomib dans le myélome ou avec le vénétoclax dans leucémie aiguë myéloïde (LAM). Cette synergie en fait une option thérapeutique particulièrement prometteuse pour les tumeurs hématologiques réfractaires [44].

## II.8 Domaine BH3 et BH3-mimétiques ?

Le domaine BH3 (*Bcl-2 Homology 3*) est une courte séquence peptidique. Cette séquence se compose d'environ 9 à 16 acides aminés formant une hélice  $\alpha$ . Il est caractéristique des protéines pro-apoptotiques dites *BH3-only* (telles que Bim, Bid, Bad, Noxa, ou Puma) et joue un rôle clé dans l'induction de l'apoptose. Ce domaine est essentiel pour l'interaction avec les protéines anti-apoptotiques comme Mcl-1 (dont le but de notre étude). Il contient plusieurs résidus hydrophobes critiques, permettant son insertion dans le sillon hydrophobe BH3 des protéines de la famille Bcl-2, facilitant ainsi la formation du complexe Mcl-1-BH3 [40]. La figure suivante illustre schématiquement cette interaction. »



**Figure 6 :** Représentation du complexe Mcl-1- BH3 (L'hélice BH3 est représentée en rouge)

Les BH3-mimétiques sont des molécules synthétiques ayant pour but reproduire l'interface fonctionnelle du domaine BH3 naturel. En se liant au sillon hydrophobe des protéines anti-apoptotiques telles que Bcl-2, Bcl-xL ou Mcl-1, BH3-mimétiques libèrent les protéines pro-apoptotiques et permettent l'activation de Bax et Bak, déclenchant ainsi le processus d'apoptose [41].

### Conclusion

L'étude de la protéine Mcl-1 constitue un enjeu majeur dans la lutte contre les cancers dont la survie cellulaire dépend de l'inhibition de l'apoptose mitochondriale. Grâce aux avancées en biologie structurale, en modélisation moléculaire et aux approches *in silico*, il est désormais possible de concevoir des molécules chimiques inhibitrices spécifiques ciblant ce régulateur clé de l'homéostasie cellulaire. L'exemple du complexe cristallin dont la PDB :6FS0 illustre parfaitement la synergie entre biologie structurale, pharmacologie et modélisation computationnelle, qui contribue à faire progresser la recherche translationnelle et le développement de thérapies ciblées.

## Références

- [1] Schneider, P., Walters, W. P., Plowright, A. T., et al. (2020). Rethinking drug design in the artificial intelligence era. *Nature Reviews Drug Discovery*, 19(5), 353–364. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0050-3>
- [2] DiMasi, J. A., Grabowski, H. G., & Hansen, R. W. (2016). Innovation in the pharmaceutical industry: New estimates of R&D costs. *Journal of Health Economics*, 47, 20–33. <https://doi.org/10.1016/j.jhealeco.2016.01.012>
- [3] Gorgulla, C., Boeszoermenyi, A., Wang, Z. F., et al. (2020). An open-source drug discovery platform enables ultra-large virtual screens. *Nature*, 580, 663–668. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2117-z>
- [4] Paul, S. M., Mytelka, D. S., Dunwiddie, C. T., et al. (2010). How to improve R&D productivity: The pharmaceutical industry's grand challenge. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9, 203–214. <https://doi.org/10.1038/nrd3078>
- [5] Schaduengrat, N., Lampa, S., Simeon, S., et al. (2020). Towards reproducible computational drug discovery. *Journal of Cheminformatics*, 12, 9. <https://doi.org/10.1186/s13321-020-0408-x>
- [6] Nantasenamat, C. (2019). Conceptual map of computational drug discovery [CC-BY]. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.5979400>
- [7] Brown, N., Ertl, P., Lewis, R., et al. (2020). Artificial intelligence in chemistry and drug design. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 34, 709–715. <https://doi.org/10.1007/s10822-020-00317-x>
- [8] Patel, L., Shukla, T., Huang, X., Ussery, D. W., & Wang, S. (2020). Machine learning methods in drug discovery. *Molecules*, 25(22), 5277. <https://doi.org/10.3390/molecules25225277>
- [9] Ouma, R. B. O., Ngari, S. M., & Kibet, J. K. (2024). A review of the current trends in computational approaches in drug design and metabolism. *Discover Public Health*, 21, 108. <https://doi.org/10.1186/s12982-024-00229-3>
- [10] Singh, S., Baker, Q. B., & Singh, D. B. (2022). Molecular docking and molecular dynamics simulation. In *Bioinformatics* (pp. 291–304). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89775-4.00014-6>
- [11] Adelusi, T. I., Oyedele, A.-Q. K., Boyenle, I. D., et al. (2022). Molecular modeling in drug discovery. *Informatics in Medicine Unlocked*, 29, 100880. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2022.100880>
- [12] Sael, L., & Kihara, D. (2012). Detecting local ligand-binding site similarity in nonhomologous proteins by surface patch comparison. *Proteins*, 80(4), 1177–1195. <https://doi.org/10.1002/prot.24018>

- [13] Kumar, R., Kumar, S., Sangwan, S., Yadav, I. S., & Yadav, R. (2011). Protein modeling and active site binding mode interactions of myrosinase–sinigrin in *Brassica juncea*—An in-silico approach. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 29(5), 740–746.
- [14] Ouma, R. B. O., Ngari, S. M., & Kibet, J. K. (2024). A review of the current trends in computational approaches in drug design and metabolism. *Discover Public Health*, 21, 108. <https://doi.org/10.1186/s12982-024-00229-3>
- [15] Grasso, G., Di Gregorio, A., Mavkov, B., et al. (2022). Fragmented blind docking: A novel protein-ligand binding prediction protocol. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(24), 13472–13481. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1988709>
- [16] Jin, Z., Du, X., Xu, Y., et al. (2020). Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature*, 582(7811), 289–293. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y>
- [17] Pierce, B. G., Wiehe, K., Hwang, H., et al. (2014). ZDOCK server: Interactive docking prediction of protein-protein complexes and symmetric multimers. *Bioinformatics*, 30(12), 1771–1773. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu097>
- [18] Wang, Z., Sun, H., Yao, X., et al. (2016). Comprehensive evaluation of ten docking programs on a diverse set of protein–ligand complexes: The prediction accuracy of sampling power and scoring power. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(18), 12964–12975. <https://doi.org/10.1039/c6cp01555g>
- [19] Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (1990). Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 8(3), 195–202. <https://doi.org/10.1002/prot.340080302>
- [20] Stanzione, F., Giangreco, I., & Cole, J. C. (2021). Use of molecular docking computational tools in drug discovery. *Progress in Medicinal Chemistry*, 60, 273–343. <https://doi.org/10.1016/bs.pmch.2021.01.004>
- [21] Singh, D. B., & Pathak, R. K. (2020). Computational approaches in drug designing and their applications. In N. Gupta & V. Gupta (Eds.), *Experimental protocols in biotechnology* (pp. 115–130). Humana. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0607-0\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0607-0_6)
- [22] Agnihotry, S., Pathak, R. K., Srivastav, A., Shukla, P. K., & Gautam, B. (2020). Molecular docking and structure-based drug design. In D. B. Singh (Ed.), *Computer-Aided Drug Design* (pp. 95–116). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-6815-2\\_6](https://doi.org/10.1007/978-981-15-6815-2_6)
- [23] Kumar, S., & Kumar, S. (2019). Molecular docking: A structure-based approach for drug repurposing. In *In Silico Drug Design* (pp. 161–189). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816125-8.00006-7>
- [24] Fan, J., Fu, A., & Zhang, L. (2019). Progress in molecular docking. *Quantitative Biology*, 7, 83–89. <https://doi.org/10.1007/s40484-019-0172-y>



- [25] Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
- [26] Friesner, R. A., Banks, J. L., Murphy, R. B., Halgren, T. A., Klicic, J. J., Mainz, D. T., ... & Shenkin, P. S. (2004). Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(7), 1739–1749. <https://doi.org/10.1021/jm0306430>
- [27] Lengauer, T., & Rarey, M. (1996). Computational methods for biomolecular docking. *Current Opinion in Structural Biology*, 6(3), 402–406. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(96\)80061-3](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(96)80061-3)
- [28] Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2), 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- [29] Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11), 935–949. <https://doi.org/10.1038/nrd1549>
- [30] Wang, R., Fang, X., Lu, Y., & Wang, S. (2004). The PDBbind database: Collection of binding affinities for protein–ligand complexes with known three-dimensional structures. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(12), 2977–2980. <https://doi.org/10.1021/jm0305801>
- [31] Pagadala, N. S., Syed, K., & Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: A review. *Biophysical Reviews*, 9(2), 91–102. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1>
- [32] Mathur, N., Sai Chandragiri, S., Sarita, Shandily, S., Santoki, M. B., Vadhavana, N. N., ... & Chandra, M. (2024). In silico docking: Protocols for computational exploration of molecular interactions. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1005527>
- [33] Kotschy, A., Szlavik, Z., Murray, J., Davidson, J., Maragno, A. L., Le Toumelin-Braizat, G., et al. (2016). The MCL1 inhibitor S63845 is tolerable and effective in diverse cancer models. *Nature*, 538(7626), 477–482. <https://doi.org/10.1038/nature19830>
- [34] Thomas, L. W., Lam, C., & Edwards, S. W. (2010). Mcl-1; the molecular regulation of protein function. *FEBS Letters*, 584(14), 2981–2989. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.05.061>
- [35] Beroukhi, R., Mermel, C. H., Porter, D., et al. (2010). The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. *Nature*, 463, 899–905. <https://doi.org/10.1038/nature08822>
- [36] Youle, R. J., & Strasser, A. (2008). The BCL-2 protein family: Opposing activities that mediate cell death. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(1), 47–59. <https://doi.org/10.1038/nrm2308>
- [37] Riedl, S. J., & Salvesen, G. S. (2007). The apoptosome: Signalling platform of cell death. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(5), 405–413. <https://doi.org/10.1038/nrm2153>



- [38] Craig, R. (2002). MCL1 provides a window on the role of the BCL2 family in cell proliferation, differentiation and tumorigenesis. *Leukemia*, 16, 444–454. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402416>
- [39] Reed, J. C. (2008). Bcl-2-family proteins and hematologic malignancies: History and future prospects. *Blood*, 111(7), 3322–3330. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-09-078162>
- [40] Letai, A., Bassik, M. C., Walensky, L. D., Sorcinelli, M. D., Weiler, S., & Korsmeyer, S. J. (2002). Distinct BH3 domains either sensitize or activate mitochondrial apoptosis, serving as prototype cancer therapeutics. *Cancer Cell*, 2(3), 183–192. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(02\)00127-7](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(02)00127-7)
- [41] Labi, V., Grespi, F., Baumgartner, F., & Villunger, A. (2008). Targeting the Bcl-2-regulated apoptosis pathway by BH3 mimetics: A breakthrough in anticancer therapy? *Cell Death & Differentiation*, 15(6), 977–987. <https://doi.org/10.1038/cdd.2008.37>
- [42] Wei, A. H., Roberts, A. W., Spencer, A., Rosenberg, A. S., Siegel, D., Walter, R. B., ... & Stein, A. (2020). Targeting MCL-1 in hematologic malignancies: Rationale and progress. *Blood Reviews*, 44, 100672. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2020.100672>
- [43] Czabotar, P. E., Lessene, G., Strasser, A., & Adams, J. M. (2014). Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: Implications for physiology and therapy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(1), 49–63. <https://doi.org/10.1038/nrm3722>
- [44] Tron, A. E., Belmonte, M. A., Adam, A., Aquila, B. M., Boise, L. H., Chiarparin, E., ... & Gavine, P. R. (2018). Discovery of Mcl-1-specific inhibitor AZD5991 and preclinical activity in multiple myeloma and acute myeloid leukemia. *Nature Communications*, 9(1), 5341. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07551-w>
- [45] Czabotar, P. E., Lee, E. F., van Delft, M. F., Day, C. L., Smith, B. J., Huang, D. C. S., ... & Colman, P. M. (2007). Structural insights into the degradation of Mcl-1 induced by BH3 domains. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(15), 6217–6222. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701297104>
- [46] Lee, E. F., Czabotar, P. E., van Delft, M. F., Michalak, E. M., Boyle, M. J., Willis, S. N., ... & Fairlie, W. D. (2008). A novel BH3 ligand that selectively targets Mcl-1 reveals that apoptosis can proceed without Mcl-1 degradation. *Journal of Cell Biology*, 180(2), 341–355. <https://doi.org/10.1083/jcb.200708096>
- [47] Harvey, E. P., Seo, H. S., Guerra, R. M., Bird, G. H., Dhe-Paganon, S., & Walensky, L. D. (2018). Crystal structures of anti-apoptotic BFL-1 and its complex with a covalent stapled peptide inhibitor. *Structure*, 26(1), 153–160.e4. <https://doi.org/10.1016/j.str.2017.11.016>
- [48] Winter, A., Higuieruelo, A. P., Marsh, M., Sigurdardottir, A., Pitt, W. R., & Blundell, T. L. (2012). Biophysical and computational fragment-based approaches to targeting protein–protein interactions: Applications in structure-guided drug discovery. *Quarterly Reviews of Biophysics*,

- [49] Rehman, A. U., Khurshid, B., Ali, Y., Rasheed, S., Wadood, A., Ng, H.-L., et al. (2023). Computational approaches for the design of modulators targeting protein–protein interactions. *Expert Opinion on Drug Discovery*. <https://doi.org/10.1080/17460441.2023.2171396>
- [50] Arnold, A. A., Aboukameel, A., Chen, J., Yang, D., Wang, S., Al-Katib, A., et al. (2008). Preclinical studies of apogossypolone: A new nonpeptidic pan small-molecule inhibitor of Bcl-2, Bcl-X L and Mcl-1 proteins in follicular small cleaved cell lymphoma model. *Molecular Cancer*, 7(1), 20. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-7-20>
- [51] Tzung, S.-P., Kim, K. M., Basañez, G., Giedt, C. D., Simon, J., Zimmerberg, J., et al. (2001). Antimycin A mimics a cell-death-inducing Bcl-2 homology domain 3. *Nature Cell Biology*, 3(2), 183–191. <https://doi.org/10.1038/35055095>
- [52] Acoca, S., Cui, Q., Shore, G. C., & Purisima, E. O. (2011). Molecular dynamics study of small molecule inhibitors of the Bcl-2 family. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 79(9), 2624–2636. <https://doi.org/10.1002/prot.23083>
- [53] Mohammad, R. M., Goustin, A. S., Aboukameel, A., Chen, B., Banerjee, S., Wang, G., et al. (2007). Preclinical studies of TW-37, a new nonpeptidic small-molecule inhibitor of Bcl-2, in diffuse large cell lymphoma xenograft model reveal drug action on both Bcl-2 and Mcl-1. *Clinical Cancer Research*, 13(7), 2226–2235. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-1574>
- [54] Villalobos-Ortiz, M., Ryan, J., Mashaka, T. N., Opferman, J. T., & Letai, A. (2020). BH3 profiling discriminates on-target small molecule BH3 mimetics from putative mimetics. *Cell Death & Differentiation*, 27(3), 999–1007. <https://doi.org/10.1038/s41418-019-0391-9>
- [55] Wan, Y., Dai, N., Tang, Z., & Fang, H. (2018). Small-molecule Mcl-1 inhibitors: Emerging anti-tumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 146, 471–482. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.076>
- [56] Belmar, J., & Fesik, S. W. (2015). Small molecule Mcl-1 inhibitors for the treatment of cancer. *Pharmacology & Therapeutics*, 145, 76–84. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.08.003>
- [57] Day, C. L., Chen, L., Richardson, S. J., Harrison, P. J., Huang, D. C. S., & Hinds, M. G. (2005). Solution structure of prosurvival Mcl-1 and characterization of its binding by proapoptotic BH3-only ligands. *Journal of Biological Chemistry*, 280(6), 4738–4744. <https://doi.org/10.1074/jbc.M411434200>
- [58] Arkin, M. R., Tang, Y., & Wells, J. A. (2014). Small-molecule inhibitors of protein–protein interactions: Progressing toward the reality. *Chemistry & Biology*, 21(9), 1102–1114. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2014.09.001>
- [59] Marimuthu, P., Razzokov, J., & Eshonqulov, G. (2020). Disruption of conserved polar

- interactions causes a sequential release of Bim mutants from the canonical binding groove of Mcl1. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158, 364–374. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.243>
- [60] Shaw, S., Bian, Z., Zhao, B., Tarr, J. C., Veerasamy, N., Jeon, K. O., et al. (2018). Optimization of potent and selective tricyclic indole diazepinone myeloid cell leukemia-1 inhibitors using structure-based design. *Journal of Medicinal Chemistry*, 61(6), 2410–2421. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01155>
- [61] Dutta, S., Gullà, S., Chen, T. S., Fire, E., Grant, R. A., & Keating, A. E. (2010). Determinants of BH3 binding specificity for Mcl-1 versus Bcl-xL. *Journal of Molecular Biology*, 398(5), 747–762. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.03.058>
- [62] Stewart, M. L., Fire, E., Keating, A. E., & Walensky, L. D. (2010). The Mcl-1 BH3 helix is an exclusive Mcl-1 inhibitor and apoptosis sensitizer. *Nature Chemical Biology*, 6(8), 595. <https://doi.org/10.1038/nchembio.391>
- [63] Negi, A., & Murphy, P. V. (2021). Development of Mcl-1 inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 210, 113038. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.113038>

# *Chapitre 02*

## *Matériels et Méthodes*

## I. Matériel

### I.1 Equipements informatiques

- ✓ Laptop Mini-workstation HP ZBook core I7 /16 GB de ram.
- ✓ Système d'exploitation Linux Debian 12/Gnome 64bit.

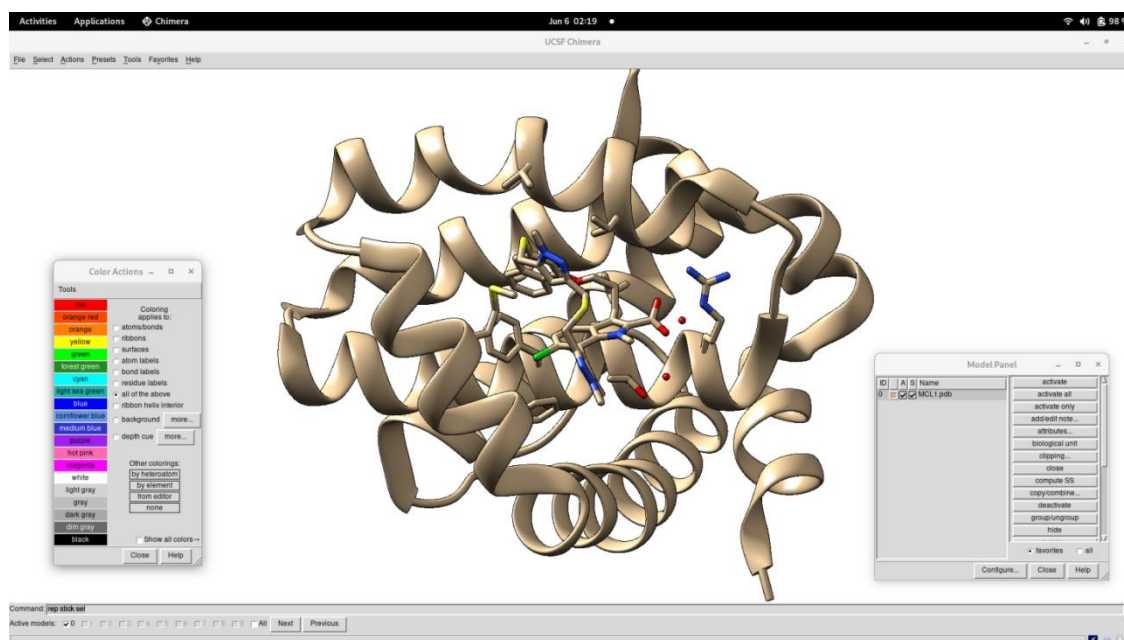
### I.2 Logiciels

#### I.2.1 MarvinSketch

Dans le cadre de cette étude, le logiciel MarvinSketch, développé par ChemAxon, a été utilisé pour la conception et l'édition de structures moléculaires en deux et trois dimensions [1]. Cet outil nous a permis une représentation précise des molécules ainsi que la génération des conformations 3D à partir des structures 2D en vue d'analyse conformationnelle ultérieure. Les ligands ont été modélisés au pH physiologique de 7,4. Grâce à sa Compatibilité avec divers formats de fichiers (SMILES, InChI, MOL), MarvinSketch a facilité l'intégration des structures dans des analyses ultérieures. La version académique gratuite de ce logiciel accessible via le site officiel de ChemAxon a été utilisée pour ce travail [1].

#### I.2.2 Chimera

Il s'agit d'un logiciel hautement polyvalent offrant une visualisation interactive en 3D des structures moléculaires, ainsi que l'analyse de données associées telles que les cartes de densité électronique, les assemblages supramoléculaires, les alignements de séquences, et les résultats de docking. Il permet également de générer des images et animations de haute qualité pour l'illustration scientifique [2].



**Figure 7 :** L'interface du logiciel Chimera 1.18

Au cours de cette étude, nous avons employé la version 1.18 (Linux/Debian12) 64Bit du logiciel UCSF Chimera dans les buts suivants :

Préparation de la cible Mcl-1 à partir d'un complexe ligand-Mcl-1 extrait de la banque de données Protein Data Bank (PDB).

- Visualisation tridimensionnelle des différentes structures moléculaires.
- Comparaison conformationnelle de plusieurs structures 3D de la même cible.
- Détermination des coordonnées de la boîte de grille représentant le site d'interaction récepteur-ligand (site actif ou site de liaison).

### **I.2.3 Autodock vina**

AutoDock Vina est un logiciel (open-source) d'amarrage moléculaire développé par Oleg Trott au sein du *Scripps Research Institute* [3]. Conçu comme une évolution d'AutoDock 4, il intègre une fonction de score plus performante ainsi qu'un algorithme d'optimisation plus rapide, ce qui lui confère une meilleure précision dans la prédiction des modes de liaison ligand-récepteur. AutoDock Vina est largement reconnu pour sa fiabilité, sa vitesse d'exécution et sa capacité à gérer des conformations flexibles, tant pour les ligands que pour les récepteurs partiellement flexibles.

Dans le cadre de cette étude, AutoDock Vina a été utilisé pour effectuer des simulations de docking moléculaire entre une série de 19 composés dérivés rhodanine et la protéine cible Mcl-1. Cette étape a permis d'estimer les énergies d'interaction, de prédire les conformations optimales de liaison (poses), et d'identifier les composés présentant une forte affinité potentielle pour le site actif de la Mcl-1.

### **I.2.4 PyMOL**

PyMOL est un logiciel de visualisation moléculaire multiplateforme développé par *DeLano Scientific*, couramment utilisé dans le domaine des sciences structurales. Il permet la représentation tridimensionnelle (3D) précise de diverses entités biomoléculaires, notamment les protéines, enzymes, acides nucléiques, membranes biologiques, ainsi que de petites molécules [4].

PyMOL a été utilisé pour visualiser les structures 3D des macromolécules cibles, explorer les interactions ligand-récepteur, et générer des images de haute résolution destinées à illustrer les complexes moléculaires. Cette visualisation a facilité l'analyse conformationnelle et interactionnelle, en particulier la localisation des liaisons hydrogène, interactions hydrophobes et géométrie des poses obtenues par docking.

### **I.2.5 PLIP (Protein-Ligand Interaction Profiler)**

PLIP (Protein-Ligand Interaction Profiler) est un outil bio-informatique largement reconnu pour l'analyse approfondie des interactions protéine-ligand. Développé à *l'Université technique de Dresde*, cet outil open-source permet une caractérisation systématique des interactions moléculaires avec une précision remarquable [5] (Adasme et al., 2021). Ses principaux atouts incluent la détection automatique de huit types d'interactions clés : liaisons hydrogène, interactions hydrophobes, ponts salins, interactions de type  $\pi$ - $\pi$ , cation- $\pi$ , coordination métalliques, liaisons halogènes, et même les liaisons et interactions covalentes. Ce qui en fait un instrument indispensable pour la conception rationnelle de médicaments.

Sa popularité au sein de la communauté scientifique s'explique par plusieurs facteurs. D'une part, son interface web intuitive permet une analyse rapide sans nécessiter d'installation [6] (Salentin et al., 2015). D'autre part, son implémentation en Python offre une flexibilité exceptionnelle pour les analyses avancées, permettant une intégration aisée dans les pipelines de calcul existants. Une étude récente a démontré son utilité dans l'analyse de plus de 10 000 complexes protéine-ligand de la PDB, révélant des motifs d'interaction récurrents cruciaux pour la découverte de médicaments.

### **I.2.6 DockRMSD [7]**

DockRMSD est un programme conçu pour calculer l'écart type quadratique moyen (Root Mean Squar Deviation : RMSD) entre deux poses d'une même molécule ligand docké sur une même structure protéique, sans nécessiter d'ordre atomique prédéfini entre les fichiers comparés. Ce paramètre demeure clé pour :

- Valider la reproductibilité des simulations de docking
- Comparer des conformes issus de différents logiciels (ex : AutoDock Vina vs Glide)
- Évaluer la qualité des prédictions par rapport à des structures cristallographiques de référence.

### **I.2.7 Banques de données**

#### **RCSB Protein Data Bank (PDB) : La Référence Mondiale des Structures Biomoléculaires**

La RCSB PDB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank) constitue le nœud américain de la Protein Data Bank (PDB), la plus grande base de données mondiale dédiée aux structures tridimensionnelles de biomolécules obtenues expérimentalement par différentes techniques telles que la cristallographie aux rayons X, la résonance magnétique nucléaire (RMN) ou la cryo-microscopie électronique et même issues de l'intelligence artificielle alphafold. Elle joue un rôle central dans la conservation, la validation et la diffusion des structures

de protéines, d'acides nucléiques (ADN/ARN), de complexes protéine-ligand, ainsi que de structures virales [8] (Berman et al., 2000).

Dans le cadre des approches de modélisation moléculaire *in silico*, notamment le docking moléculaire et l'analyse des interactions non covalentes au sein de systèmes de reconnaissance moléculaire, la RCSB PDB constitue une ressource essentielle. Elle permet l'accès à des structures de haute résolution indispensables à la modélisation des sites de liaison, à la prédiction des modes d'interaction, ainsi qu'à l'évaluation de la complémentarité structurale entre partenaires moléculaires [9] (Burley et al., 2021).

## **II. Méthodes**

### **II.1 Pré-docking**

#### **II.1.1 Préparation des éléments nécessaires au docking**

##### **II.1.1.A Sélection de la cible biologique**

Le choix de la structure du complexe récepteur-ligand a été réalisé à partir de la base de données RCSB PDB, en se basant sur plusieurs critères visant à garantir la qualité et la pertinence de la structure pour les simulations de docking moléculaire. Les principaux critères de sélection sont les suivants :

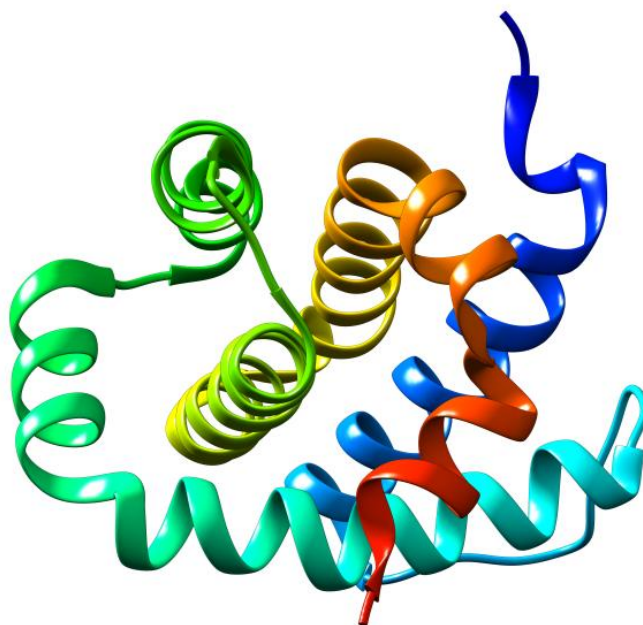
- Une structure déterminée par des méthodes expérimentales fiables (Cryo-microscopie électronique, cristallographie aux rayons X, etc.) ;
- Une origine humaine de la macromolécule (espèce *Homo sapiens*) ;
- L'absence de mutations dans la séquence protéique ;
- L'absence de résidus manquants, en particulier au niveau du site de liaison ;
- Une résolution optimale, idéalement proche de 1 Å, pour une meilleure précision structurale ;
- Des paramètres de validation structurale (issus de wwPDB) présentant des valeurs minimales, témoignant de la qualité cristallographique du modèle
- Un pH expérimental proche du pH physiologique (~7,4), afin de refléter des conditions biologiques réalistes.

Sur la base de ces critères, la structure identifiée par le code PDB : 6FS0 a été retenue [10]. Il s'agit d'un complexe protéique humain, obtenu par diffraction aux rayons X à un pH de 4,6 sans mutations, et complexé à la fois avec un ligand AZD5991 et la cible Mcl-1. Dans ce travail, les simulations de docking ont été effectuées sur la chaîne A de la PDB mentionnée. Uniquement trois acides aminés manquants ont été observés (Glu322, Asp323 et Leu324), ceux-ci se situent uniquement aux extrémités C-terminales, sans affecter le site actif.



La résolution de cette structure est de 2,25 Å, ce qui reste acceptable pour les études de reconnaissance moléculaire. Les paramètres de validation wwPDB associés à cette structure sont les suivants :

- Clashscore : 2
- Ramachandran outliers : 0,5 %
- Sidechain outliers : 4,3 %
- Ces indicateurs confirment la bonne qualité géométrique du modèle choisi. La structure a été téléchargée au format PDB à partir du site officiel de la RCSB PDB.



**Figure 8 :** Structure 3D de la chaîne A de la PDB 6FS0 [10], visualisée par UCSF Chimera.

#### II.1.1.B Préparation de la cible

À l'aide du logiciel UCSF Chimera, la préparation initiale de la structure du récepteur a été réalisée. Cette étape consiste à isoler la protéine cible en supprimant le ligand Co-cristallisé, les résidus non essentiels, ainsi que les molécules d'eau, dans le but d'optimiser la structure pour les simulations moléculaires ultérieures. La structure ainsi épurée est ensuite sauvegardée au format PDB. Conformément aux données de la Protein Data Bank (PDB) et à la publication associée, seule la chaîne A de la protéine a été conservée, celle-ci représentant l'unité fonctionnelle du récepteur étudié. Par la suite, la structure obtenue a été soumise au serveur H++, une plateforme permettant d'attribuer les états de protonation appropriés aux résidus ionisables, en tenant compte du pH physiologique (7,4), afin de garantir une préparation réaliste et conforme aux conditions biologiques.

Il permet de :

- Ajout de protons ( $H^+$ ) aux atomes selon un pH spécifique :

1. Atomes d'hydrogène souvent absents dans les structures PDB (issues de cristallographie)
2. Le serveur ajoute les hydrogènes de manière physico-chimiquement cohérente.
  - Calcul des états de protonation des résidus ionisables :
    1. Résidus concernés : Asp, Glu, His, Lys, Arg, Tyr, Cys, etc.
    2. Le calcul est basé sur des méthodes de calcul de pKa (via résolution des équations de Poisson-Boltzmann).
  - Préparation des fichiers pour simulation
  - Optimisation de la géométrie locale :
    1. Réorientation des groupes hydroxyles ou amines,
    2. Minimisation locale pour éviter les clashes après ajout d'hydrogènes

Ensuite, la préparation de la structure de la cible a été finalisée par l'ajout des charges partielles nécessaires, à l'aide du logiciel UCSF Chimera, afin de garantir une paramétrisation correcte pour les étapes de simulation ultérieures.

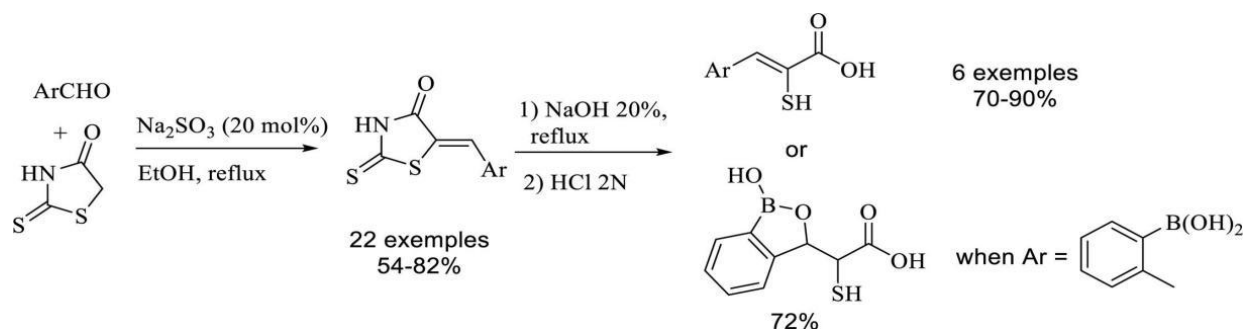
### **II.1.1.C Préparation des ligands**

#### **II.1.1.C.a Pour le selfdocking**

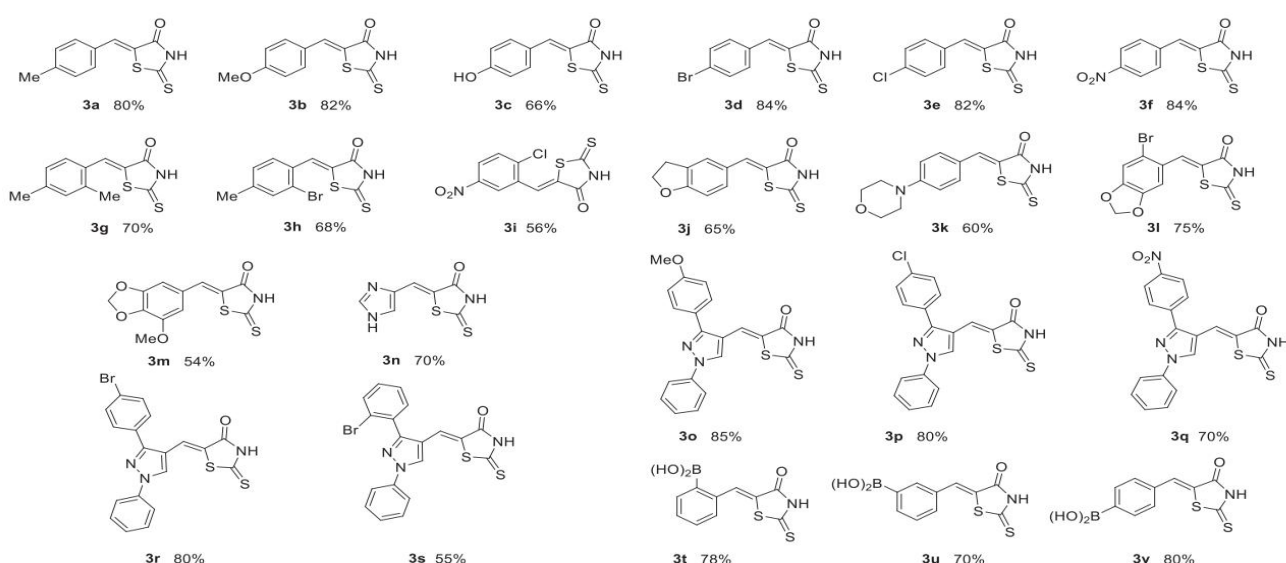
Cette étape consiste à isoler le ligand Co-cristallisé, AZD5991, identifié sous le nom de code E4W dans la structure cristalline PDB : 6FS0, au niveau du site de liaison BH3, comme mentionné dans le chapitre précédent. Ce ligand est ensuite préparé en ajoutant les atomes d'hydrogène manquants ainsi que les charges partielles appropriées sur chaque atome, avant d'être sauvegardé au format PDB. Ce composé servira de ligand de référence pour la validation du protocole de docking à l'aide du logiciel AutoDock Vina.

#### **II.1.1.C.b Pour le docking**

Il convient de souligner que les molécules étudiées dans ce travail sont des dérivés 5-arylidène rhodanines, issues des travaux de recherche du Dr Chaïma Bouregghda, menés au sein du Laboratoire de Synthèse de Molécules d'Intérêt Biologique de l'Université Frères Mentouri Constantine (UMC). Ces composés ont fait l'objet d'une publication scientifique intitulée : *"Facile synthesis of 5-arylidene rhodanine derivatives using Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> as an eco-friendly catalyst. Access to 2-mercapto-3-aryl-acrylic acids and a benzoxaborole derivative"* [11].



**Figure 9 :** Schéma représentatif du protocole de synthèse des molécules rhodanines objets de cette étude [11]



**Figure 10 :** Représente 2D des molécules synthétisée (3a-3v) [11]

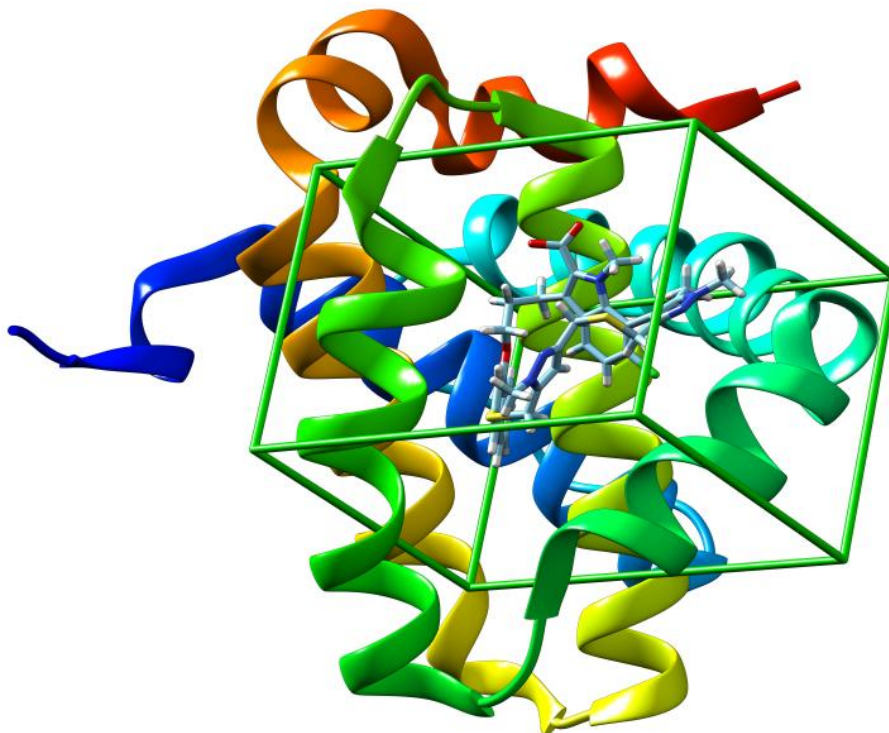
Durant cette étude, nous nous sommes intéressés aux simulations de docking des molécules rhodanines 3a-3s. Elles ont été dessinées ainsi que modélisées en 2D et 3D avec le logiciel Mrvinsketch au pH physiologique (les formes tautomères les plus prédominantes au pH = 7,4). Une fois les molécules enregistrées sous le format PDB, des optimisations de géométries en mécanique moléculaire, ont été effectuées avec le logiciel Chimera. Ces optimisations de géométrie consistent à trouver le minimum global de chaque molécule ayant la géométrie la plus stable.

#### II.1.1.D Génération de la boîte de grille (GRID BOX)

Les deux structures au format PDB, correspondant respectivement à la cible protéique Mcl-1 et au ligand natif E4W préalablement préparés, sont importées dans le logiciel UCSF Chimera. Cette étape permet de définir les coordonnées tridimensionnelles (X, Y, Z) de la boîte de grille (Grid

Box), qui délimite l'espace dans lequel se déroulera le docking moléculaire, en ciblant spécifiquement le site actif de la protéine (site constituant des acides aminés entourant le ligand natif).

L'ajustement de cette grille est effectué manuellement, de manière à englober entièrement le ligand ainsi que les résidus impliqués dans le site de liaison BH3. Cette procédure permet de définir avec précision le centre de la boîte (coordonnées X, Y, Z) ainsi que ses dimensions (exprimées en angströms, Å), garantissant ainsi un ciblage spatial optimal pour le processus de docking.



**Figure 11 :** Boîte de grille (Grid Box) du site actif BH3 de la Mcl-1 (E4W en représentation ball and stick)

## II.2 Validation du protocole de docking moléculaire

Afin de valider la fiabilité du protocole de docking, une étape dite re-docking ou (self-docking) est réalisée [12]. Cette procédure vise à vérifier si la méthode (ou méthodologie) utilisée est capable de reproduire la conformation native (rayon X) du ligand dans le site actif de la cible en question.

À cette fin, les deux structures préparées — la protéine cible et le ligand Co-cristallisé (expérimental) — sont importées dans le logiciel UCSF Chimera au format PDB. L'amarrage moléculaire est ensuite réalisé à l'aide du programme AutoDock Vina, en utilisant la boîte de grille (grid box) définie autour du site actif identifié au préalable. Cette étape permet de simuler l'interaction ligand-récepteur dans des conditions optimisées pour une prédiction fiable de l'affinité

de liaison.

Parmi les résultats générés, la première pose (correspondant à l'énergie de liaison la plus basse) est sélectionnée. La conformation correspondante du ligand est alors exportée au format PDB.

La comparaison entre la conformation native et celle prédite est réalisée à l'aide du Web Server DockRMSD, qui calcule la valeur quadratique moyenne « RMSD » (Root Mean Square Deviation) entre les deux poses du ligand. Pour considérer le protocole comme valide, cette valeur métrique doit être inférieure à 2 Å, seuil généralement admis dans la littérature pour indiquer une bonne superposition entre les deux conformations [13].

### II.3 Docking moléculaire des ligands rhodanines

L'interaction entre la structure du récepteur Mcl-1 (PDB ID : 6FS0), préalablement préparée, et les structures optimisées des molécules rhodanines est initiée via l'interface AutoDock Vina intégrée dans UCSF Chimera. Pour chaque ligand, les dimensions de la boîte de grille (Grid Box) ne sont pas ajustées.

Parmi les résultats générés, la conformation présentant l'énergie de liaison la plus faible (valeur la plus négative) est retenue pour chaque ligand, car elle correspond à l'état le plus stable du complexe. Le complexe protéine–ligand associé à cette conformation optimale est ensuite reconstruit et sauvegardé au format PDB en vue d'analyses structurales et interactionnelles ultérieures.

### II.4 Analyse et visualisation des interactions

Les complexes Mcl-1–ligand issus des simulations de docking moléculaire ont été soumis à une analyse via le serveur en ligne *PLIP* (Protein–Ligand Interaction Profiler), dans le but d'identifier, de classer et de caractériser les interactions moléculaires établies entre les ligands et les résidus du site de liaison BH3 de la protéine. Cette étape permet de détecter automatiquement les principales interactions non covalentes telles que les liaisons hydrogène, les interactions hydrophobes, les ponts salins et les contacts  $\pi$ - $\pi$  ou cation- $\pi$ , fournissant ainsi un aperçu détaillé du mode de liaison.

Les résultats générés par le serveur PLIP incluent des représentations tridimensionnelles des complexes, enregistrées au format .pse, ainsi que des tableaux récapitulatifs des interactions moléculaires sous forme de fichiers .txt.

Les fichiers .pse, compatibles avec le logiciel *PyMOL*, sont ensuite exploités pour la visualisation et l'édition des complexes. *PyMOL* permet de produire des images de haute qualité, mettant en évidence de manière claire et précise les interactions critiques entre le ligand et les résidus du site de liaison de la protéine cible.

## Références

- [1] ChemAxon. (2025, juin 6). *MarvinSketch*. <https://chemaxon.com/products/marvin>
- [2] Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera—A visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605–1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
- [3] Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- [4] DeLano, W. L. (2002). *The PyMOL Molecular Graphics System* (Version 1.0). DeLano Scientific. <http://www.pymol.org>
- [5] Adasme, M. F., Linnemann, K. L., Bolz, S. N., Kaiser, F., Salentin, S., Haupt, V. J., & Schroeder, M. (2021). PLIP 2021: Expanding the scope of the protein–ligand interaction profiler to DNA and RNA. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W530–W534. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab294>
- [6] Salentin, S., Schreiber, S., Haupt, V. J., Adasme, M. F., & Schroeder, M. (2015). PLIP: Fully automated protein–ligand interaction profiler. *Nucleic Acids Research*, 43(W1), W443–W447. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv315>
- [7] 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, 40. <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0362-7>
- [8] Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., & Bourne, P. E. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235–242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
- [9] Burley, S. K., Bhikadiya, C., Bi, C., Bittrich, S., Chen, L., Crichlow, G. V., Christie, C. H., Dalenberg, K., Di Costanzo, L., Duarte, J. M., Dutta, S., Feng, Z., Ganesan, S., Goodsell, D. S., Ghosh, S., Green, R. K., Guranović, V., Guzenko, D., Hudson, B. P., ... Zardecki, C. (2021). RCSB Protein Data Bank: Powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education. *Nucleic Acids Research*, 49(D1), D437–D451. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1038>
- [10] Tron, A. E., Belmonte, M. A., Adam, A., Aquila, B. M., Boise, L. H., Chiarparin, E., Cidado, J., Embrey, K. J., Hardwicke, P., Jones, M. D., Mendy, D., Nooka, A. K., Raynaud, F. I., Ross, C., Schaefer, A., & Wylie, A. A. (2018). Discovery of Mcl-1-specific inhibitor AZD5991 and preclinical activity in multiple myeloma and acute myeloid leukemia. *Nature Communications*, 9, 5341. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07551-w>
- [11] Bouregghda, C., Boulcina, R., Dorcet, V., Berrée, F., Carboni, B., & Debache, A. (2021). Facile synthesis of 5-arylidene rhodanine derivatives using Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> as an eco-friendly catalyst: Access to

- 2-mercapto-3-aryl-acrylic acids and a benzoxaborole derivative. *Tetrahedron Letters*, 62, 152690.  
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2020.152690>
- [12] Mateev, E., Valkova, I., Angelov, B., Georgieva, M., & Zlatkov, A. (2022). Validation through re-docking, cross docking and ligand enrichment in various well-resoluted MAO-B receptors. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 13(3), 1099–1107.  
[https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.13\(3\).1099-07](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.13(3).1099-07)
- [13] Castro-Alvarez, A., Costa, A. M., & Vilarrasa, J. (2017). The performance of several docking programs at reproducing protein–macrolide-like crystal structures. *Molecules*, 22(1), 136.  
<https://doi.org/10.3390/molecules2201013>

# *Chapitre 03*

## *Résultats et discussion*



## I. Docking moléculaire

Le docking moléculaire est une technique de modélisation permettant de prédire la structure tridimensionnelle des complexes protéine-ligand. Elle est utilisée pour comprendre comment des composés peuvent s'adapter à une cible protéique, facilitant ainsi la conception rationnelle de médicaments et de molécules biologiquement actives [1].

Dans cette étude, toutes les simulations de docking ont été réalisées à l'aide des logiciels AutoDock Vina et Chimera [2,3].

La structure cristalline de la Mcl-1 (choisie dans ce travail) et la PDB : 6FS0. Cette structure se présente avec une résolution de 2,25 Å, a été téléchargée depuis la Protein Data Bank [4]. Le programme Chimera a été utilisé pour préparer cette cible. Tous les résidus non standards, à l'exception de l'inhibiteur Co-cristallisé, ont été supprimés. Les atomes d'hydrogène ont été ajoutés, et des charges ont été assignées aux structures (protéique et ligand co-cristallisé). L'inhibiteur a été séparé de la structure native de la protéine pour un protocole dit de validation. Tous les ligands ont été construits avec le logiciel MarvinSketch [5] et préparés avec Chimera en ajoutant les charges nécessaires aux simulations de docking.

## II. Validation du docking

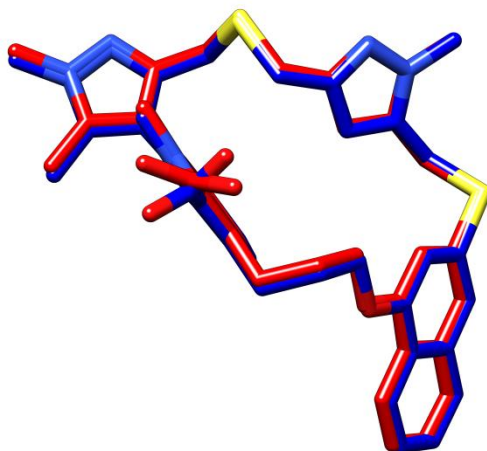
Afin de valider la simulation de docking avec AutoDock Vina, un self-docking a été effectué, consistant à re-docker le ligand co-cristallisé (code : E4W) dans la Mcl-1. La déviation quadratique moyenne (RMSD : Root Mean Squar Deviation) entre les coordonnées atomiques du ligand co-cristallisé et la meilleure pose générée par AutoDock Vina a été calculée. Une valeur de cette mesure métrique (RMSD) inférieure à 2 Å est généralement considérée comme acceptable dans la validation du protocole de docking, indiquant une bonne reproduction de la pose expérimentale du ligand [6].

La pose ayant obtenu le meilleur score Vina a été sélectionné comme le modèle de liaison le plus approprié entre le ligand et la cible Mcl-1. Tous les ligands ont été dockés individuellement dans le fichier PDB de la protéine. Le site actif a été défini avec le logiciel Chimera comme une boîte centrée sur les coordonnées suivantes : Center\_x = 112,88 ; Center\_y = -4,22 ; Center\_z = 69,66. Les dimensions de la boîte ont été fixées à Size\_x = 20,01 Å ; Size\_y = 17,27 Å ; Size\_z = 15,56 Å.

## III. Protocole de validation

Le re-docking du ligand natif E4W dans la Mcl-1 a été effectué pour valider le protocole de docking. L'énergie de liaison du ligand à la protéine en question a été estimée à -16,4 kcal/mol. La valeur du RMSD obtenue est de 0,272 Å (voire la figure suivante), ce qui est bien en dessous du

seuil de 2 Å, confirmant la fiabilité du protocole de docking utilisé. Cette RMSD a été calculée avec le programme DockRMSD [7].



**Figure 12 :** superposition des Ligands Co-cristallisés (rouge) et la meilleure pose générée par Autodock vina (Bleu)

#### IV. Résultats et Discussion

Les tableaux suivants regroupent les différentes énergies d'interactions des 19 molécules rhodanines et le ligand Co-cristallisé E4W avec la cible Mcl-1 ainsi que les différentes interactions observées et issues des simulations de docking visualisées par le web-serveur PLIP.

**Tableau 2 :** Énergies de liaisons des molécules rhodanine avec la MCL-1 (PDB :6FS0)

Ligand	3A	3B	3C	3D	3E	3F	3G	3H	3I
$\Delta G$ (Kcal/mol)	-7,2	-6,7	-6,7	-6,8	-7,0	-7,2	-7,5	-6,7	-7,5
Ligand	3J	3K	3L	3M	3N	3O	3P	3Q	3R
$\Delta G$ (Kcal/mol)	-7,8	-7,8	-7,5	-7,5	-5,4	-8,9	-8,5	-8,7	-8,1
Ligand	3S	redock							
$\Delta G$ (Kcal/mol)	-8,7	-16,4							

**Tableau 3 :** Interactions observées des cinq meilleures ligands (3O-3S)

Ligand	Hydrophobe	Liaison Hydrogène	$\pi$ -Stacking	Pont Salin
(3Q)	LEU246, MET250, VAL253, PHE254, THR266, PHE270, LEU290, ILE294	-	PHE270	-
E4W (6FS0)	VAL253, PHE254, THR266, PHE270, LEU290, ILE294	-	PHE270 ( $\times 3$ interactions)	ARG263
	LEU246, MET250, VAL253, PHE254,			

(3S)	THR266, PHE270, LEU290, ILE294	-	-	-
(3R)	PHE228, LEU246, VAL249, MET250, THR266, PHE270	ARG263 ( $\times 2$ interactions)	-	-
(3P)	LEU246, MET250, VAL253, PHE254, THR266, PHE270, LEU290, ILE294	-	PHE270	-
(3O)	LEU246, MET250, VAL253, PHE254, THR266, PHE270, LEU290, ILE294	ARG263	PHE270	-

NB : les figures illustrant les interactions établies entre la cible Mcl-1 et ces cinq ligands sont présentées en annexe.

#### IV.1 Analyse Structurale et Énergétique des Inhibiteurs de MCL-1 Ciblant les Poches P1-P4 et Arg263

Dans le cadre de la conception rationnelle d'inhibiteurs de MCL-1, cette étude combine des analyses *in silico* des énergies de liaison ( $\Delta G$ ) et des interactions non covalentes pour identifier des composés prometteurs. Les données présentées incluent :

- Énergies de docking pour 19 molécules de type rhodanine (3A–3S + ligand Co-cristallisé (E4W)).
- Interactions clés (hydrophobes, ponts hydrogène,  $\pi$ -stacking, ponts salins) déterminées via le web-serveur PLIP.

L'objectif dans cette partie est de corréler les performances et la capacité de ces ligands avec leur occupation des poches P1-P4 et Arg263 de la cible Mcl-1, afin de guider l'optimisation future.

#### IV.2 Résultats Clés issus de cette étude *in silico*

##### IV.2.1 Profil Énergétique (simulations de docking) des Ligands

L'analyse des énergies de liaison ( $\Delta G$ ) révèle une gamme étendue allant de -5.4 à -16.4 kcal/mol, permettant de classer les composés en trois catégories distinctes :

- Faible affinité ( $\Delta G > -7.0$  kcal/mol) : 3B, 3C, 3D, 3H, 3N.
- Affinité modérée ( $-8.0 \leq \Delta G \leq -7.0$ ) : 3A, 3E–3G, 3I–3M.
- Haute affinité ( $\Delta G \leq -8.1$ ) : 3O (-8.9), 3P (-8.5), 3Q (-8.7), 3R (-8.1), 3S (-8.7), et le ligand Co-cristallisé (-16.4).

Les composés 3O (-8.9), 3P (-8.5), 3Q (-8.7), 3R (-8.1) et 3S (-8.7) démontrent une affinité remarquable, mais loin de celle du ligand Co-cristallisé (-16.4 kcal/mol). Cet écart significatif de 7.7 kcal/mol entre 3S et le ligand natif souligne l'importance des interactions supplémentaires présentes dans le complexe cristallographique natif.

Les ligands 3O, 3Q, et 3S présentent des  $\Delta G$  comparables, suggérant des mécanismes de liaison similaires.

#### IV.2.2 Corrélation Structure-Activité (SAR)

L'analyse structurale fine met en évidence des relations claires entre les motifs d'interaction et l'affinité calculée (prédite). Les ligands les plus performants partagent systématiquement une occupation complète de la poche P2, avec des interactions  $\pi$ - $\pi$  optimales avec Phe270. La présence d'interactions liaison hydrogène (de nature électrostatiques) avec Arg263, comme observé pour 3R et 3O, confère un avantage énergétique notable. Ces cinq ligands présentent une affinité relativement bonne malgré l'absence de pont salin qui est uniquement observé avec le ligand Co-cristallisé. Ceci suggère un mécanisme de compensation par des interactions hydrophobes étendues dans les poches P2 et P3.

Tous les ligands à haute affinité partagent des interactions hydrophobes avec les résidus Leu246, Val253, Phe254 (P2) et Leu290, Ile294 (P3) (voir annexe). Ces interactions, semblent critiques pour l'ancrage initial, expliquent leur  $\Delta G \leq -8.5$  kcal/mol.

D'une manière générale, les meilleurs ligands observés partagent principalement l'ensemble des interactions du réseau hydrophobiques expliquant leurs  $\Delta G$  favorables.

Uniquement les ligands 3O, 3P, 3Q présentent des interactions de type  $\pi$ -Stacking avec le résidu Phe270. Ceci pourrait aussi expliquer l'impact sur l'affinité observée de ces ligands.

La supériorité énergétique du ligand Co-cristallisé E4W (-16.4 Kcal/mol) pourrait être expliquée par son occupation synergique de l'ensemble des poches P1-P4 et d'Arg263 d'une part et l'interaction halogène de l'atome de chlore avec le résidu Ala227 d'autre part.

La présence d'une liaison halogène avec Ala227, combinée à un réseau dense d'interactions hydrophobes et de ponts salins, crée un profil d'interaction optimal. Cette observation fournit un modèle précieux pour une conception de nouveaux inhibiteurs, soulignant l'importance de cibler simultanément les différentes sous-régions du site actif. La poche P4 apparaît comme une cible et zone clé pour améliorer l'affinité.

**Tableau 4 :** Tableau Synthétique des Interactions Clés

Interaction	3O	3P	3Q	3R	3S	E4W
Hydrophobe (P2/P3)	✓	✓	✓	✓	✓	✓
$\pi$ -Stacking (Phe270)	✓	✓	✓	✗	✗	✓
Pont Salin (Arg263)	✗	✗	✗	✗	✗	✓
Liaison H (Arg263)	✓	✗	✗	✓	✗	✓
Occupation P4	✗	✗	✗	✗	✗	✓

#### IV.2.3 Implications pour la Conception d'Inhibiteurs

4. Cibler Phe270 : Indispensable pour une affinité élevée (via  $\pi$ -stacking).
5. Exploiter Arg263 : Les ponts salins/électrostatiques améliorent  $\Delta G$ .
6. Optimiser P4 : Les liaisons halogènes (Ala227) pourraient combler l'écart entre les ligands contenant les atomes halogènes et le ligand natif.

#### IV.2.4 Limitations et perspectives

Bien qu'informatifs, ces résultats computationnels présentent certaines limites. L'approche statique du docking ne capture pas la dynamique conformationnelle de la protéine MCL-1, potentiellement cruciale pour l'affinité. Les prochaines étapes devraient inclure des simulations de dynamique moléculaire pour évaluer la stabilité des complexes, ainsi que des validations expérimentales par calorimétrie ou tests de liaison compétitive. La modélisation QSAR pourrait également aider à prédire l'impact de modifications structurales ciblées.

#### IV.2.5 Conclusion synthétique

Cette étude fournit une cartographie détaillée des déterminants structuraux de l'affinité pour MCL-1. Elle identifie 3Q, 3O et 3S comme composés prometteurs pour optimisation, tout en établissant le ligand Co-cristallisé comme référence absolue. Les stratégies d'optimisation devront intégrer une occupation multi-poches complète et des interactions spécifiques avec les résidus clés identifiés, en particulier Phe270 et Arg263, pour atteindre des affinités compétitives avec les inhibiteurs de référence.

### V. Profil ADME des dérivés de rhodanines

Les propriétés pharmacocinétiques (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion) et toxicologiques (ADME(T)) jouent un rôle crucial dans le développement de candidats-médicaments. Ce profil pharmacocinétique représente le devenir d'un médicament dans l'organisme vivant. Une molécule bioactive doit non seulement présenter une affinité pour sa cible thérapeutique (chose qui est primordiale et souhaitée), mais aussi posséder un profil ADME favorable pour assurer une biodisponibilité optimale, une demi-vie appropriée et un profil de sécurité acceptable [8]. L'absorption intestinale (GI), la perméabilité à la barrière hémato-encéphalique (BBB = Blood Brain Barrier), l'interaction avec les transporteurs et protéines membranaires (P-glycoprotéine) et les enzymes du cytochrome P450 (CYP) influencent directement l'efficacité et la toxicité potentielle d'un composé [9]. Par ailleurs, des propriétés telles que la mutagénicité (test AMES), le risque cardio-toxique (hERG) et l'hépatotoxique doivent être évaluées d'une manière précoce pour éviter les échecs en phases cliniques [10].

Dans cette analyse, nous interprétons les données ADME des 19 molécules (3A-3S) afin d'identifier les candidats les plus prometteurs pour envisager des applications thérapeutiques.

Les tableaux suivants résument le profile ADME de ces molécules.

**Tableau 5 :** Propriétés physico-chimiques et descripteurs moléculaires des composés 3A–3S

Ligand	MW (gmol <sup>-1</sup> )	HA	HD	Molar Refractivity	TPSA (Å <sup>2</sup> )	WlogP
3A	235.33	1	1	71.30	86.49	1.99
3B	251.32	2	1	72.82	95.72	1.69
3C	237.30	2	2	68.35	106.72	1.39
3D	300.19	1	1	74.03	86.49	2.45
3E	255.74	1	1	71.34	86.49	2.34
3F	266.30	3	1	75.15	132.31	1.59
3G	249.35	1	1	76.26	86.49	2.30
3H	314.22	1	1	79.00	86.49	2.76
3I	300.74	3	1	80.16	132.31	2.25
3J	263.34	2	1	75.68	95.72	1.26
3K	306.40	2	1	92.06	98.96	1.14
3L	344.20	3	1	80.09	104.95	2.18
3M	295.33	4	1	78.89	114.18	1.42
3N	211.26	2	2	58.48	115.48	0.41
3O	393.48	3	1	115.38	113.54	3.55
3P	397.90	2	1	113.90	104.31	4.19
3Q	408.45	4	1	117.71	150.13	3.45
3R	442.35	2	1	116.59	104.31	4.30
3S	442.35	2	1	116.59	104.31	4.30

**Tableau 6 :** Évaluation des propriétés ADME des composés 3A–3S : GI, BBB, P-gp et isoformes CYP450

Ligand	GI	BBB	P-GP	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
3A	High	N	N	Y	Y	Y	N	N
3B	High	N	N	Y	Y	Y	N	N
3C	High	N	N	Y	Y	N	N	Y
3D	High	N	N	Y	Y	Y	N	Y
3 <sup>E</sup>	High	N	N	Y	Y	Y	N	Y
3F	High	N	N	Y	N	N	N	N
3G	High	N	N	Y	Y	Y	N	Y
3H	High	N	N	Y	Y	Y	N	Y
3I	High	N	N	Y	Y	Y	N	Y
3J	High	N	N	Y	Y	Y	N	Y
3K	High	N	N	Y	Y	Y	N	Y
3L	High	N	N	Y	Y	Y	N	Y
3M	High	N	N	Y	Y	Y	N	Y
3N	High	N	N	Y	N	N	N	N
3O	High	N	N	Y	Y	Y	N	Y
3P	High	N	N	Y	Y	Y	N	Y
3Q	Low	N	N	Y	Y	Y	N	Y

3R	High	N	N	Y	Y	Y	N	Y
3S	High	N	N	Y	Y	Y	N	Y

Note : Y = Oui, N = Non. GI : Perméabilité intestinale ; BBB : Barrière hémato-encéphalique ; P-gp : P-glycoprotéine ; CYP : Cytochromes P450

**Tableau 7 : Profil de toxicité et propriétés pharmacocinétiques des molécules 3A–3S : Mutagénicité (AMES), risque cardio-toxique (hERG), hépato-toxicité et conformité à la règle de Lipinski**

Ligand	AMES	HERGI / HERG II	Hepatotoxicity	Lipinski violation
3A	Y	N / N	N	0
3B	N	N / N	N	0
3C	Y	N / N	N	0
3D	N	N / N	N	0
3 <sup>E</sup>	N	N / N	N	0
3F	Y	N / N	N	0
3G	N	N / N	N	0
3H	N	N / N	N	0
3I	Y	N / N	N	0
3J	N	N / N	N	0
3K	Y	N / N	N	0
3L	N	N / N	N	0
3M	Y	N / N	N	0
3N	Y	N / N	N	0
3O	N	N / Y	Y	0
3P	N	N / Y	Y	0
3Q	Y	N / Y	Y	0
3R	N	N / Y	Y	0
3S	N	N / Y	Y	0

Note : Y = Oui (positif/à risque), N = Non (négatif/sans risque).

## V.1 Absorption gastro-intestinale (GI)

La majorité des composés (18 sur 19) présentent une absorption gastro-intestinale élevée, ce qui est un critère favorable pour une administration orale. Seule la molécule 3Q présente une faible absorption prédite. Ce profil suggère que la série est globalement bien conçue pour une biodisponibilité systémique optimale. Cette bonne absorption est souvent corrélée à des paramètres physico-chimiques tels que la surface polaire (TPSA < 140 Å<sup>2</sup>) et la lipophilie modérée (logP < 5), qui sont respectés par presque toutes les molécules, comme le confirment les valeurs observées dans le premier tableau [8,9].

Toutes les molécules sauf 3Q présentent une absorption intestinale élevée, ce qui est favorable pour une administration orale. La molécule 3Q pourrait nécessiter une formulation particulière (encapsulation par des vecteurs galéniques) ou une administration parentérale évitant le système digestif.

## **V.2 Barrière hémato-encéphalique (BBB)**

Aucune des molécules n'est prédite comme capable de franchir la BBB. Cela indique que ces composés sont peu susceptibles d'avoir des effets indésirables au niveau du système nerveux central, ce qui peut être considéré comme un avantage dans le cas de thérapies visant des cibles périphériques (anticancéreux, antibactériens, etc.). Cependant, cela les rend inadaptés pour des indications thérapeutiques neurologiques ou psychiatriques, où la perméabilité BBB est requise.

## **V.3 Substrat de la glycoprotéine P (P-gp)**

Aucune des molécules n'est identifiée comme substrat de la P-gp, une pompe d'efflux membranaire impliquée dans la résistance pharmacologique (en particulier dans les cellules cancéreuses). Ce résultat est très favorable, car il suggère que ces composés pourraient maintenir des concentrations intracellulaires efficaces, sans être activement expulsés des cellules [10].

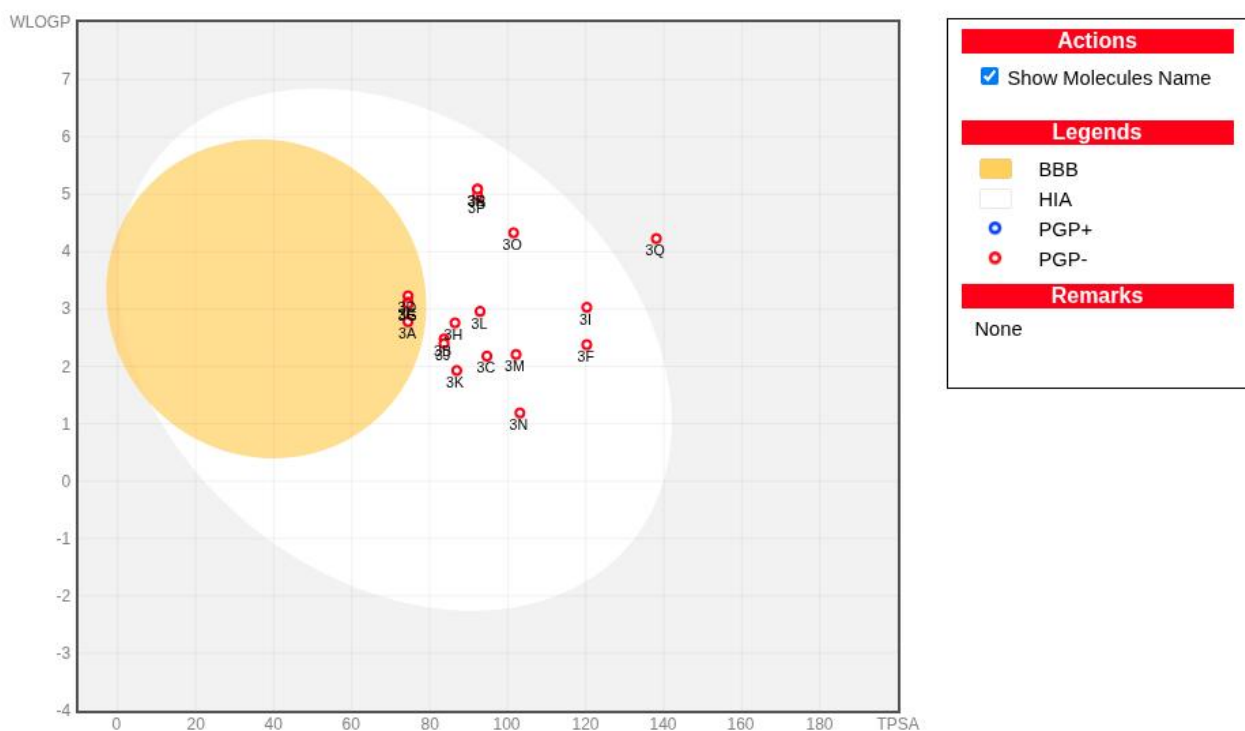
## **V.4 Inhibition des enzymes du cytochrome P450**

Un aspect plus délicat du profil ADME réside dans l'inhibition prédite de plusieurs isoformes du cytochrome P450, notamment :

- CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9 : fréquemment inhibés dans la série étudiée.
- CYP3A4 : inhibé par de nombreux composés (3C, 3D, 3E, 3G à 3S), ce qui pourrait limiter leur utilisation combinée avec d'autres médicaments (pour éviter les interactions médicamenteuses).
- CYP2D6 : non inhibé par les dérivés étudiés.

L'inhibition des CYP450 peut entraîner des interactions médicamenteuses indésirables, affectant la clairance hépatique de co-médicaments (Co-administration), ce qui soulève la nécessité de tests métaboliques supplémentaires pour confirmer ces prédictions. Toutefois, certains composés (ex. 3A, 3F et 3N) se démarquent par un profil métabolique plus neutre, ce qui les rend potentiellement plus sûrs à ce niveau.





**Figure 13 :** Diagramme de dispersion des dérivés de rhodanines sur le plan WLOGP (lipophilie) versus TPSA (surface polaire topologique), généré par SwissADME

La zone blanche représente l'espace physicochimique compatible avec une absorption gastro-intestinale élevée (HIA+), et la zone orange correspond à celui de la perméabilité prédite à la barrière hémato-encéphalique (BBB+). Chaque point rouge correspond à une molécule non-substrat de la glycoprotéine P (PGP-). Les composés situés au centre de la zone blanche (notamment 3A, 3B, 3D, 3G, 3H, 3K) présentent un profil optimal pour l'absorption orale, tandis que ceux s'en écartant (ex. 3Q, 3O, 3P, 3R, 3S) pourraient présenter des limitations pharmacocinétiques nécessitant des optimisations structurales.

La figure présentée ci-dessus illustre la distribution des 19 dérivés rhodanines dans l'espace WLOGP versus TPSA, tel que généré par le serveur SwissADME. Ce graphique permet de visualiser l'adéquation des composés aux exigences de perméabilité membranaire et de biodisponibilité orale, en se basant sur deux paramètres clés : la lipophilie (WLOGP) et la surface polaire topologique (TPSA).

La zone blanche elliptique représente l'espace chimique compatible avec une absorption gastro-intestinale élevée (HIA+), tandis que la zone orange correspond à la région prédictive des composés capables de franchir la barrière hémato-encéphalique (BBB+). Aucun des composés ne se trouve dans cette dernière, ce qui est cohérent avec les prédictions SwissADME indiquant l'absence de perméabilité BBB pour l'ensemble des dérivés, suggérant une distribution restreinte au compartiment périphérique donc avantageuse pour des indications non neurologiques.

La majorité des composés se situent à l'intérieur ou à la périphérie immédiate de la zone HIA, ce qui suggère une biodisponibilité orale favorable pour la majorité des dérivés. Les composés 3A, 3B, 3D, 3G, 3H, 3K, positionnés au centre de cette zone, présentent un profil optimal

combinant une lipophilie modérée (WLOGP entre 2 et 3) et une TPSA inférieure à 90 Å<sup>2</sup>, conditions propices à une absorption passive efficace selon les critères de Veber et de Lipinski [11,12].

À l'inverse, les composés 3Q, 3O, 3P, 3R et 3S s'écartent partiellement de la zone HIA. En particulier, 3Q présente une TPSA > 140 Å<sup>2</sup>, ce qui est au-delà du seuil reconnu pour une bonne perméabilité intestinale passive, tandis que 3O à 3S affichent des valeurs de WLOGP > 4, traduisant une lipophilie élevée qui peut compromettre leur solubilité aqueuse. Ces propriétés physico-chimiques peuvent justifier la faible absorption prédite pour 3Q, et soulèvent un doute sur la biodisponibilité réelle des autres composés concernés malgré leurs bonnes affinités de docking.

Enfin, la figure confirme que l'ensemble des composés sont non-sustrats de la glycoprotéine P (P-gp), comme l'indiquent les cercles rouges. Ce paramètre est favorable en termes de pharmacorésistance, car il suggère une rétention intracellulaire potentiellement accrue, notamment dans les tissus exprimant fortement la P-gp (barrière intestinale, foie, tumeurs).

## V.5 Conclusion

D'une manière globale, ces dérivés présentent un bon profil ADME théorique (prédit) :

- Une bonne absorption gastro-intestinale
- Une spécificité périphérique sans pénétration du SNC
- Une résistance potentielle réduite via P-gp
- Un profil métabolique acceptable, bien que la prudence soit de mise vis-à-vis de l'inhibition du CYP3A4 pour certains composés.

## Références

- [1] Agu, P. C., Afiukwa, C. A., Orji, O. U., & al. (2023). Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Scientific Reports*, 13, 13398. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>
- [2] Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- [3] Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605–1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
- [4] Tron, A. E., Belmonte, M. A., Adam, A., Aquila, B. M., Boise, L. H., Chiarparin, E., Cidado, J., Embrey, K. J., Hardwicke, P., Jones, M. D., Mendy, D., Nooka, A. K., Raynaud, F. I., Ross, C., Schaefer, A., & Wylie, A. A. (2018). Discovery of Mcl-1-specific inhibitor AZD5991 and preclinical activity in multiple myeloma and acute myeloid leukemia. *Nature Communications*, 9(1), Article 5341. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07551-w>
- [5] ChemAxon. (2025, June 6). *MarvinSketch*. <https://chemaxon.com/products/marvin>
- [6] Hevener, K. E., Zhao, W., Ball, D. M., Babaoglu, K., Qi, J., White, S. W., & Lee, R. E. (2009). Validation of molecular docking programs for virtual screening against dihydropteroate synthase. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49(2), 444–460. <https://doi.org/10.1021/ci800293n>
- [7] 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, 40. <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0362-7>
- [8] 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. *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)
- [9] 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>
- [10] Wang, E. J., Casciano, C. N., Clement, R. P., Johnson, W. W. (2001). P-glycoprotein and cytochrome P450 3A inhibition: a rationale for drug–drug interactions in cancer chemotherapy. *Drug Metabolism and Disposition*, 29(4), 507–512. <https://doi.org/10.1124/dmd.29.4.507>
- [11] 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>

[12] Lipinski, C. A., et al. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *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)

## ***Conclusion et perspectives***

## Conclusion générale

Cette étude s'est inscrite dans une démarche de conception assistée par ordinateur visant à identifier de nouveaux inhibiteurs potentiels de la protéine anti-apoptotique Mcl-1, une cible majeure dans plusieurs formes de cancer résistantes aux traitements conventionnels. Grâce à l'exploitation d'outils bio-informatiques intégrés, une série de 19 dérivés rhodanine a été modélisée, optimisée et ainsi évaluée *in silico* pour prédire leur capacité à se lier à la cavité BH3 de la protéine Mcl-1 tout en envisageant son imbibition.

Le protocole de docking moléculaire, validé par un self-docking du ligand natif Co-cristallisée E4W ( $\Delta G = -16,4$  kcal/mol avec un RMSD de 0,272 Å), a démontré une excellente capacité à reproduire la conformation cristallographique du complexe Mcl-1-E4W. Cette validation confère une grande fiabilité aux simulations réalisées pour les autres ligands.

Les résultats de docking ont révélé que les cinq composés 3O, 3P, 3Q, 3R et 3S se distinguent avec des énergies de liaison (d'interaction) comprises entre  $-8,1$  et  $-8,9$  kcal/mol, indiquant une affinité significative vis-à-vis de la cible en question. Ces ligands interagissent préférentiellement avec les poches hydrophobes P2 et P3 ainsi que des résidus clés tels que Leu246, Val253, Phe254, Leu290, Ile294 formant un réseau hydrophobique, et certains établissent des interactions de type  $\pi$ -stacking avec Phe270 ou des liaisons hydrogène avec Arg263 (interactions déterminantes pour la stabilité du complexe).

L'analyse structure-activité (SAR) a confirmé que l'occupation des poches P2/P3 et l'interaction avec les résidus aromatiques du domaine BH3 favorisent une affinité accrue. Toutefois, aucun des ligands n'a reproduit les interactions multiples du ligand natif, notamment le pont salin avec Arg263 et l'interaction halogène avec Ala227, ce qui explique l'écart énergétique observé.

L'analyse du profil pharmacocinétique (ADME), réalisée à l'aide de SwissADME, a permis de dresser un profil prédictif :

- Bonne absorption gastro-intestinale (HIA+) pour la majorité des composés, à l'exception notable de 3Q ;
- Absence de perméabilité à la barrière hémato-encéphalique (BBB-), avantageuse pour des thérapies périphériques ;
- Non-substrat de la glycoprotéine P (P-gp-) pour tous les dérivés, ce qui suggère une rétention intracellulaire favorable en contexte tumoral ;
- Inhibition fréquente du CYP3A4 pour de nombreux composés, notamment 3O à 3S, pouvant représenter une limite en co-administration médicamenteuse.

Ces données confirment que certains dérivés, bien que prometteurs sur le plan de l'affinité, nécessitent des optimisations structurales pour améliorer leur biodisponibilité et profil métabolique.

## Perspectives

Afin de compléter cette approche statique, il est recommandé d'introduire des simulations de dynamique moléculaire, une évaluation de la stabilité des complexes au fil du temps. La synthèse et les essais biologiques *in vitro*/*in vivo* des ligands les plus prometteurs (notamment 3O, 3Q, 3S) sont indispensables pour valider leur potentiel thérapeutique.

Ce travail met en lumière le potentiel pharmacologique de ces dérivés de rhodanine en tant qu'inhibiteurs de Mcl-1, tout en démontrant la puissance des méthodes bio-informatiques pour accélérer la découverte de médicaments anticancéreux. Il constitue une base solide pour le développement de nouvelles molécules anticancéreuses ciblées et ouvre la voie à des stratégies thérapeutiques plus spécifiques et efficaces.

## Résumé :

Le docking moléculaire est une approche de modélisation in silico des complexes (ligands-protéine). Notre travail a démontré le potentiel des approches computationnelles pour accélérer la découverte des nouveaux médicaments anticancéreux (des nouveaux inhibiteurs de la protéine MCL-1). Les résultats de l'amarrage moléculaire sur les 19 composés rhodanines donnent que les cinq molécules 3O, 3P, 3Q, 3R, 3S sont des nouveaux inhibiteurs de la MCL-1 grâce à l'affinité présente de ses molécules avec le site actif du protéine (P2 et P3 de MCL-1) avec des énergies de liaison comprises entre -8,1 et -8,9 kcal/mol, et on identifie que les molécules 3O et 3Q comme composés prometteurs pour optimisation le développement de thérapies anticancéreuses ciblées. Ces résultats ouvrent la voie à des études précliniques visant à valider leur efficacité, tout en illustrant l'importance de la modélisation moléculaire dans la réduction des coûts et des délais de la recherche pharmaceutique.

**Les mots clés :** Docking moléculaire; Rhodanines ; BH3; In silico; MCL-1; ADMET.

## الملخص:

لدراسة تفاعلات المركبات (الليغندات) مع in silico نهجاً في النمذجة الحاسوبية (Molecular Docking) يُعد الالتحام الجزيئي البروتينات.

لقد أثبت عملنا الإمكانيات الكبيرة التي توفرها المقاربات الحاسوبية لتسريع اكتشاف أدوية جديدة مضادة للسرطان، خاصة مثبطات MCL-1 جديدة لبروتين.

تُعد مثبطات (3O، 3P، 3Q، 3R، 3S) أظهرت نتائج الالتحام الجزيئي على 19 مركباً من نوع الرودانين أن خمس جزيئات (3 البروتين، مع طاقات ارتباط تتراوح ما بين (P2 و P3)، وذلك بفضل قدرتها على الارتباط بمواقع النشاط MCL-1 واعدة لبروتين 8.1- و 8.9- kcal/mol.

كمركبين واعدتين بشكل خاص للتطوير بهدف تصميم علاجات موجهة ضد السرطان Q و 3O ومن بين هذه المركبات، تم تحديد 3 ثمّ هذه النتائج الطريق أمام دراسات ما قبل سريرية للتحقق من فعاليتها، كما تُبرز في الوقت ذاته أهمية النمذجة الجزيئية في خفض التكاليف وتسريع وتيرة البحث الدوائي.

## الكلمات المفتاحية

MCL-1; ADMET; BH3; في السيليكون; الرودانين; الالتحام الجزيئي



**Abstract :**

Molecular docking is an in silico modeling approach used to study ligand–protein complexes.

Our work demonstrated the potential of computational methods to accelerate the discovery of new anticancer drugs, specifically new inhibitors of the MCL-1 protein.

The molecular docking results for 19 rhodanine-based compounds showed that five molecules — 3O, 3P, 3Q, 3R, and 3S — act as new MCL-1 inhibitors due to their strong binding affinities with the active sites (P2 and P3) of the MCL-1 protein.

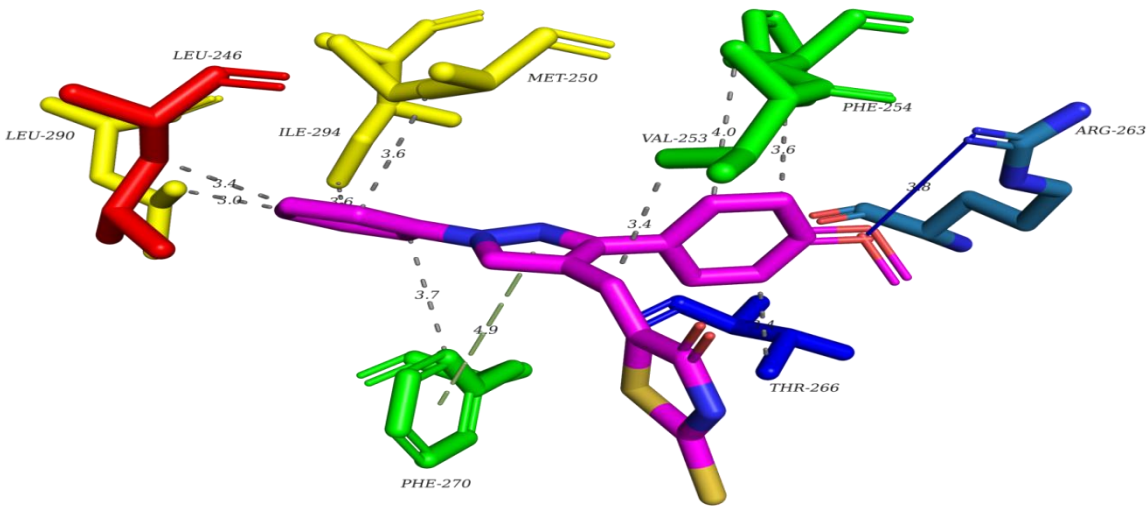
Their binding energies ranged between -8.1 and -8.9 kcal/mol, indicating stable interactions.

Among them, molecules 3O and 3Q were identified as particularly promising compounds for further optimization and the development of targeted anticancer therapies.

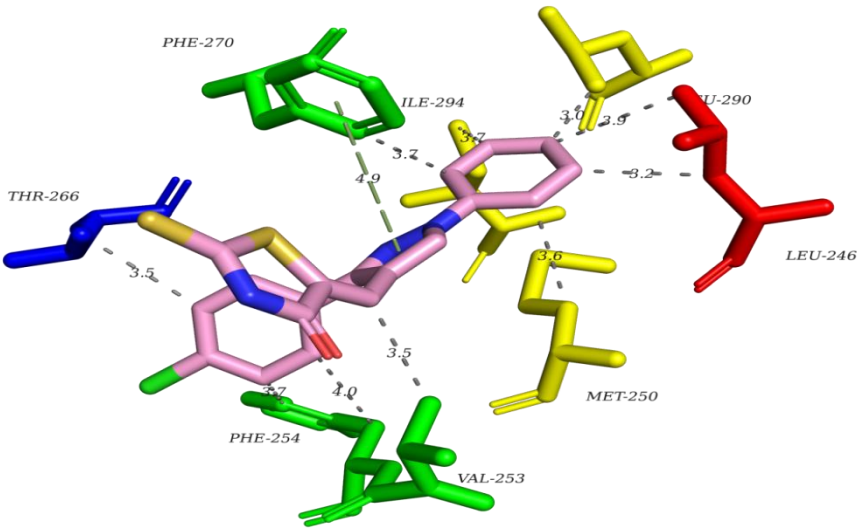
These results pave the way for preclinical studies to validate their efficacy, while also highlighting the importance of molecular modeling in reducing the time and cost of pharmaceutical research

**Keywords :** Molecular docking; Rhodanines ; BH3; In silico; MCL-1; ADMET.

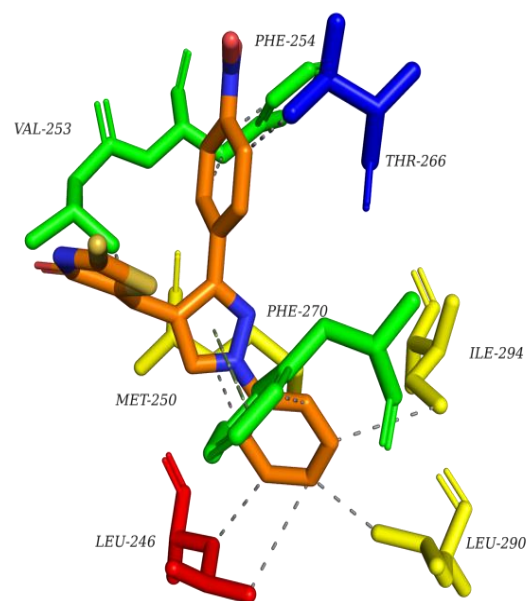
**Annexe:**



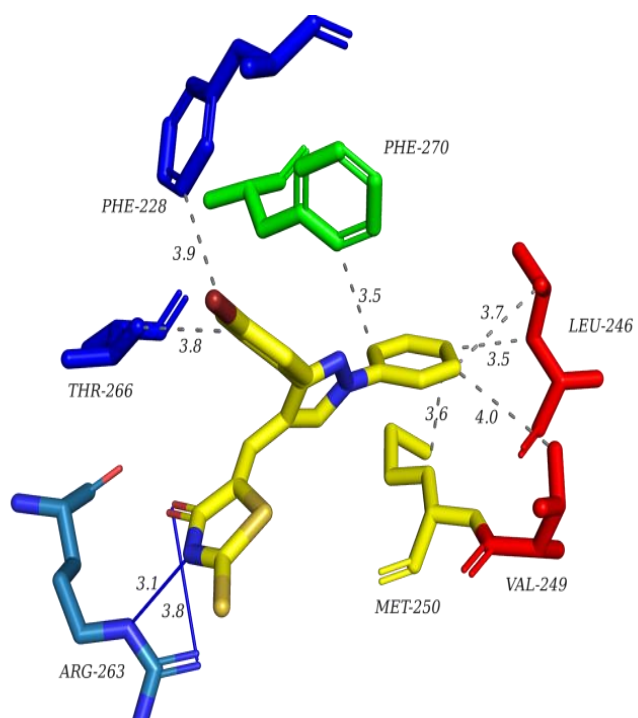
: 3O-INTERACTIONS14Figure



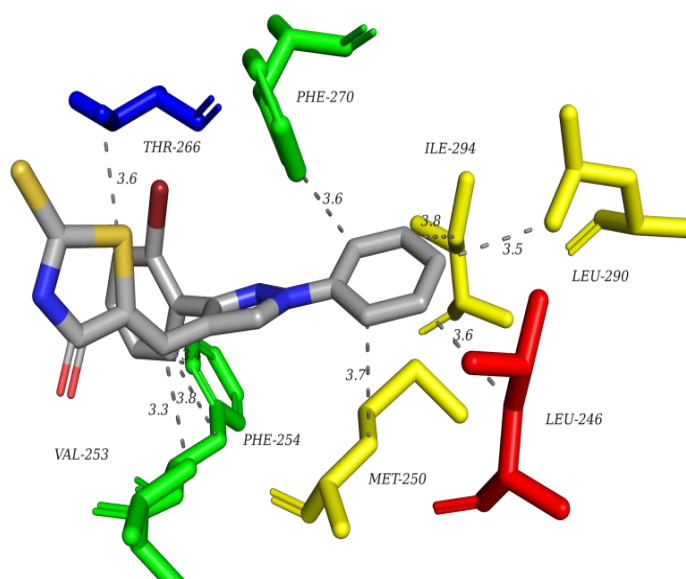
: 3P-INTERACTIONS15Figure



: 3Q-INTERACTIONS16Figure



: 3R-INTERACTIONS17Figure



: 3S-INTERACTIONS18Figure

Année universitaire : 2024-2025	Présenté par : BECHARA HADJER ZERGAINOH AMIRA
<p style="text-align: center;"><b>Intitulé:</b></p> <p style="text-align: center;">Conception de nouveaux composés de rhodanine comme puissants inhibiteurs de Mcl-1 pour le traitement du cancer, guidés par l'amarrage moléculaire.</p>	
<p style="text-align: center;"><b>Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Bio-informatique</b></p>	
<p><b>Résumé:</b></p> <p>Le docking moléculaire est une approche de modélisation in silico des complexes (ligands-protéine). Notre travail a démontré le potentiel des approches computationnelles pour accélérer la découverte des nouveaux médicaments anticancéreuses (des nouveaux inhibiteurs de la protéine MCL-1). Les résultats de l'amarrage moléculaire sur les 19 composés rhodanines donnent que les cinq molécules 3O, 3P, 3Q, 3R, 3S sont des nouveaux inhibiteurs de la MCL-1 grâce à l'affinité présente de ses molécules avec le site actif du protéine (P2 et P3 de MCL-1) avec des énergies de liaison comprises entre -8,1 et -8,9 kcal/mol, et on identifie que les molécules 3O et 3Q comme composés prometteurs pour optimisation le développement de thérapies anticancéreuses ciblées. Ces résultats ouvrent la voie à des études précliniques visant à valider leur efficacité, tout en illustrant l'importance de la modélisation moléculaire dans la réduction des coûts et des délais de la recherche pharmaceutique.</p>	
<p><b>Mots-clefs :</b> Docking moléculaire; Rhodanines ; BH3; In silico; MCL-1; ADMET.</p>	
<p><b>Présidente du jury :</b> Pr BOUHALOUF Habiba (PROF - UConstantine1 Frères Mentouri).  <b>Encadrant :</b> Dr KRID Adel MCB- UFM Constantine 1).  <b>Examinatrice :</b> Dr BOUREGHDA Chaima (MCA - UFM Constantine 1).</p>	