



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine-1

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة-1

Faculté de science de nature et de vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie / Biochimie Moléculaire et Santé

Intitulé

---

# Etude *in silico* de l'inhibition de l'arginase-1 en tant que cible enzymatique impliquée dans l'asthme.

---

Présenté et soutenu par :

Le : 02/07/2017

BOULHEOUCHAT Rayane

BOUSMID Radia

Jury d'évaluation :

Président du jury : CHIKHI A. (Pr-UFM Constantine-1)

Rapporteur : BENSEGUENI A. (Pr-UFM Constantine-1)

Examineur : MOKRANI E.H. (MAA-UFM Constantine-1)

*Année universitaire*

*2016 - 2017*



# *Remerciements*

*Nous remercierions ALLAH le tout-puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme ce présent travail.*

*Ce mémoire n'aurait pas été possible sans l'intervention d'un grand nombre de personnes. Nous souhaitons ici les en remercier.*

*Nous remercierions Monsieur BENSEGUENI A., l'encadreur de ce mémoire, pour sa patience et ses conseils, sans son aide ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.*

*Nos vifs remerciements vont également à Monsieur CHIKHI A. professeur à l'Université Frères Mentouri Constantine-1, pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail en acceptant de présider le jury.*

*Nous tenons également à remercier Monsieur MOKRANI E.H. Maître Assistant à l'Université Frères Mentouri Constantine-1, pour son aide, ses conseils et pour avoir accepté d'évaluer notre travail et l'enrichir par ses propositions. Un grand merci.*

*Nous remercions enfin tous ceux ou celles qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la réussite de ce travail et qui n'ont pas pu être cités ici.*

*Je dédie ce mémoire à,*

*mes chers parents,*

*ma « naughty sister » Lyna,*

*mes très chères grands mères,*

*tous ceux et celles qui m'ont accompagné et soutenu durant mon parcours d'études.*

*Rayane*

*Je dédie ce mémoire à,*

**la mémoire de mes parents,**

**mon cher frère,**

*mon amie intime et condisciple Rayane qui m'a accompagné et soutenu,*

*tous ceux et celles qui m'étaient d'une aide précieuse tout au long de mon parcours.*

Radia

# Table des matières

---

## Liste des tableaux

## Liste des figures

## Liste des abréviations

## Introduction.....1

### Revue bibliographique

#### Chapitre 01 :Asthme

1. Historique.....	3
2. Définition.....	3
3. Epidémiologie.....	4
4. Physiopathologie.....	5
5. Classification de l'asthme bronchique.....	7
5.1. Asthme aigu grave.....	7
5.2. Asthme chronique.....	7
6. Facteurs de risque .....	7
7. Traitement .....	8
7.1. Le traitement primaire.....	8
7.2. Le bromure d'ipratropium .....	8
7.3. Le sulfate de magnésium .....	8
7.4. L'hospitalisation .....	8
7.5. Traitement par inhibition enzymatiques .....	9

#### Chapitre 02 : Arginase-1 et inhibiteurs

1. La cible thérapeutique .....	10
2. Le site actif .....	11
3. Les inhibiteurs de l'arginase 1 .....	13
3.1. Les inhibiteurs naturels .....	13
3.2. Les inhibiteurs synthétiques .....	15
3.2.1. Classe1 : acides N <sup>o</sup> -Hhydroxyamino-alpha-amino .....	15
3.2.2. Classe2 : (ABH) 2(S) –amino-6-boronohexanoïque acides.....	16
3.2. Les inhibiteurs de différentes classes impliquées dans notre étude .....	17

#### Chapitre 03 : Le docking moléculaire

## Table des matières

---

1. Docking moléculaire .....	18
2. Les interactions protéine-ligand .....	18
2.1. Les liaisons hydrogènes .....	18
2.2. Les interactions hydrophobiques.....	19
3. Le programme de docking Surflex .....	19

### Partie pratique

#### Chapitre 04 : Matériels et méthodes

1. Matériels .....	21
1.1. Micro-ordinateur. ....	21
1.2. Le réseau internet .....	21
1.2.1. La banque de données protéiques .....	21
1.2.2. Le serveur Molinspiration .....	21
1.3. Programme .....	21
1.3.1. Titan (Version 1.0.1).....	20
1.3.2. Surflex (Version 1.3, aout 2010) .....	21
1.3.3. Marvin Sketch (15.9.7) .....	22
1.3.4. VMD (version 1.9.1, février 2012).....	22
1.3.5. MS Viewer 4.2.....	22
1.3.6. Excel Microsoft Office (Version 7).....	22
2. Méthodes.....	22
2.1. Choix et Préparation du récepteur .....	22
2.2. Préparation des ligands .....	24
2.3. Le docking moléculaire.....	24
2.3.1. La génération du protomol .....	24
2.3.2. Le docking .....	25

#### Chapitre 05 : Résultats et discussion

1. Tests de fiabilité du programme du docking.....	26
1.1. Le test RMSD .....	26
1.2. L'analyse visuelle .....	27
1.3. Coefficient de corrélation linéaire « r » .....	30

## **Table des matières**

---

1.4. Conclusion.....	32
2. Etude des interactions.....	32
2.1. Interaction (M1)-ARG 1.....	33
2.2. Interaction (M2)-ARG 1.....	35
3. Propositions des nouveaux inhibiteurs de l'ARG 1.....	37
3.1. Interaction A-ARG 1.....	41
3.2. Interactions B-ARG 1.....	43
4. La règle de cinq « règle de Lipinski ».....	45
<b>Conclusion.....</b>	<b>46</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	
<b>Résumés</b>	

## Liste des tableaux

---

### Liste des tableaux :

<b>Tableau 01 :</b> Les positions des acides aminés du site actif de l'arginase 1 .....	12
<b>Tableau 02 :</b> Les codes PDB des complexes "arginase 1-inhibiteur" avec leurs résolutions .....	23
<b>Tableau 03:</b> Les complexes utilisés pour l'analyse visuelle.....	28
<b>Tableau 4:</b> Valeurs de l'activité biologique, les logarithmes décimales de l'activité biologique et les scores du docking des inhibiteurs issues de la littérature.....	31
<b>Tableau 5 :</b> Les deux inhibiteurs avec leurs scores et leurs $CI_{50}$ .....	33
<b>Tableau 6 :</b> liaisons hydrogène identifiées.....	34
<b>Tableau 7 :</b> Liaisons hydrogène formées entre les résidus du site actif et les groupements chimiques de l'inhibiteur.....	36
<b>Tableau 8 :</b> Les deux inhibiteurs avec les positionnements des substitutions mentionnés avec des lettres minuscules) .....	38
<b>Tableau 9 :</b> Résultats des mono-substitutions et scores obtenues après docking par <b>Surflex</b> .....	39
<b>Tableau 10 :</b> Structure des deux molécules améliorées par substitutions .....	40
<b>Tableau 11 :</b> Bi-substitution de la molécule-1.....	41
<b>Tableau 12 :</b> Liaisons hydrogène entre le site actif de l'ARG-1 et la molécule (A).....	41
<b>Tableau 13 :</b> Liaisons hydrogène formées entre l'ARG 1 et la molécule (B).....	44
<b>Tableau 14 :</b> Calcul des propriétés physico-chimiques des quatre molécules M1, M2, A et B.....	46

## Liste des figures

---

### Liste des figures :

<b>Figure 01</b> : La prévalence de l'asthme en Algérie (2009).....	4
<b>Figure 02</b> : Schéma représentatif des voies respiratoires d'un asthmatique.....	6
<b>Figure 03</b> : La réaction catalysée par l'arginase-1 .....	10
<b>Figure 04</b> : Représentation schématique de la chaîne A de l'arginase-1.....	11
<b>Figure 05</b> : Le site actif de l'arginase 1 (sous représentation Surf) avec l'inhibiteur X7A.....	12
<b>Figure 06</b> : Structure chimique de l'acide chlorogénique.....	13
<b>Figure 07</b> : Structure chimique du piceatannol.....	13
<b>Figure 08</b> : Réaction d'oxydation de l'arginine par oxyde nitrique synthase (NOS).....	14
<b>Figure 09</b> : Structure chimique de l'inhibiteur N-hydroxy-L-arginine (NOHA) .....	15
<b>Figure 10</b> : Structure chimique de l'inhibiteur N-hydroxy-L-lysine .....	15
<b>Figure 11</b> : Représentation schématique de la liaison ABH à l'arginase-1. ....	16
<b>Figure 12</b> : Les liaisons hydrogène. ....	18
<b>Figure 13</b> : Les interactions hydrophobes.....	18
<b>Figure 14</b> : Représentation du site actif de la chaîne A de l'ARG-1 lié à son inhibiteur (4HWW).....	22
<b>Figure 15</b> : Le protomol généré à 6 Å .....	24
<b>Figure 16</b> : Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles.....	27
<b>Figure 17</b> : Superposition du ligand 72H issu de la cristallographie (coloré par type d'atome) avec celui simulé par Surfex (coloré en vert) du complexe 5SZ7.....	28

## Liste des figures

---

- Figure 18:** Superposition du ligand NOH issu de la cristallographie (coloré par type d'atome) avec celui simulé par Surfex (coloré en violet) du complexe 4EIN.....29
- Figure 19:** Superposition du ligand LAN issu de la cristallographie (coloré par type d'atome) avec celui simulé par Surfex (coloré en rouge) du complexe 4LXJ .....29
- Figure 20 :** Valeurs du coefficient de corrélation linéaire.....30
- Figure 21 :** Corrélation entre le score d'interaction et le logarithme décimale de l'activité biologique (log CI50) des 30 inhibiteurs avec le site actif de l'arginase-1...32
- Figure 22:** Structure chimique de l'inhibiteur 14 (M1).....33
- Figure 23 :** Mode d'interaction de la molécule M-1 dans le site actif de l'ARG-1....35
- Figure 24 :** Structure chimique de l'inhibiteur 18 (M2).....35
- Figure 25 :** Mode d'interaction de la molécule M-2 dans le site actif de l'ARG-1....37
- Figure 26 :** Emplacement de la molécule « A » dans le site actif de l'ARG-1.....42
- Figure 27 :** Mode d'interaction de la molécule « A » dans le site actif de l'ARG-1..43
- Figure 28 :** Emplacement de la molécule « B » dans le site actif de l'ARG-1.....44
- Figure 29 :** Mode d'interaction de la molécule « B » dans le site actif de l'ARG-1..45

## Liste des abréviations

---

### Liste des abréviations :

**μM** : Micromole

**2D**: Deux dimensions

**3D**: Trois dimensions

**Å** : Angström

**ABH** : Acides –amino-6-boronohexanoïque

**ADME** : absorption, distribution, métabolisme et excrétion.

**AH** : Accepteur d'hydrogène

**AINS** : Anti-inflammatoire non stéroïdien

**ARG-1** : Arginase-1

**CI<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice 50

**DH** : Donneurs d'hydrogène

**EC** : Enzyme Commission numbers

**GINA** : Global Initiative for Asthma

**HRB** : Hyperréactivité bronchique

**HTA** : Hypertension artérielle

**ISSAC** : The International Study of Asthma and Allergies in Childhood

**LF** : Liaisons flexibles

**LH** : Liaison hydrogène

**L-NOHA** : N<sup>0</sup> -hydroxy-L-arginine

**log P** : Coefficient de partage octanol / eau

**mRNA** : Ribonucleic acid messenger

## Liste des abréviations

---

**NO** : Oxyde nitrique

**NOS** : Oxyde nitrique synthase

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PDB** : Protein Data Bank

**PM** : Poids Moléculaire

**r** : Coefficient de corrélation linéaire

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

**RMSD** : Root Mean Square Deviation

**TAHINA** : Transition épidémiologique et impact sur la santé en Afrique du Nord

**VMD** : Visual Molecular Dynamics

# Introduction

## Introduction

---

Au cours de ces dernières années, les recherches visant à découvrir de nouveaux traitements ont été améliorées en partant de la procédure « essai-erreur » et en arrivant à une procédure plus sophistiquée basée sur des approches de calculs théoriques de la chimie quantique.

Ces approches théoriques permettent de prédire le mode d'interaction d'un ligand avec son récepteur. Elles fournissent un moyen d'étudier les interactions au niveau moléculaire et sont, de ce fait, une indication à l'activité biologique de nouvelles molécules ne tenant compte que des critères structuraux [1]. Ces approches incluent en premier lieu le docking moléculaire.

Le docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe constitué d'un ligand et d'une protéine, afin de prévoir les modes d'interactions possibles pouvant mener à une valeur d'enthalpie libre de formation qui traduit l'inhibition de la cible étudiée en tenant compte de la flexibilité des ligands.

L'asthme est parmi les maladies chroniques les plus fréquentes dans le monde. C'est un désordre inflammatoire qui s'accompagne de remaniements durables de la structure des voies aériennes. Cette inflammation est secondaire à un infiltrat de cellules inflammatoires, en particulier les mastocytes et les éosinophiles. La réaction inflammatoire, associée à une hyperréactivité bronchique en réponse à différents stimuli comme le tabac, les allergènes et les polluants atmosphériques, va entraîner des symptômes comme la toux [2].

Le traitement des asthmatiques repose sur des médicaments anti-inflammatoires à cause de son efficacité à long terme. Il inclut essentiellement des bronchodilatateurs comme les  $\beta_2$ -adrénergiques et les xanthines. Ces dernières sont couplées à des effets indésirables (comme la vasodilatation ou la convulsion).

L'hyperactivité de l'arginase-1 peut provoquer des perturbations au niveau des voies aériennes. Ce qui se traduit par une hyperréactivité bronchique. Cette dernière est en relation directe avec l'asthme.

Dans le but de trouver un éventuel traitement de l'asthme et en vue de l'invention de nouvelles molécules capables d'inhiber théoriquement notre cible

## Introduction

---

thérapeutique, on s'intéresse dans notre travail à l'étude des interactions de l'arginase-1 avec des ligands issues de la littérature.

On s'adresse à présenter notre travail dans cinq chapitres comme suit :

- Le premier chapitre concerne la maladie d'asthme.
- Le second porte sur une description de l'arginase-1 et ses inhibiteurs.
- Le troisième chapitre expose le docking moléculaire.
- Le quatrième chapitre présente les matériels et méthodes utilisés au cours de ce travail.
- On présente dans le dernier chapitre nos principaux résultats dont on cite:
  - Les tests de fiabilité du programme de docking (RMSD, analyse visuelle, coefficient de corrélation).
  - La sélection des inhibiteurs les plus puissants (obtenues par mono-substitution des inhibiteurs issues de la littérature) à partir de leurs scores de docking.
  - La visualisation des différentes interactions entre les inhibiteurs et la macromolécule.
  - L'application de la règle de Lipinski pour choisir les molécules qui sont capables d'être administré par voie orale.

# **Chapitre 01**

## **Asthme**

**1. Historique :**

L'histoire de l'asthme bronchique remonte à la Grèce antique et au temps des Romains. Les premiers cas cliniques ont été rapportés par Aretus de Cappadocia et Aulus Celsus Cornelius. Au XII<sup>ème</sup> siècle Moïse Maimonides a publié une monographie sur l'asthme, décrivant sa nature paroxystique et a été le premier à mentionner que l'asthme disparaissait à la puberté. La période de la renaissance, témoin d'une nouvelle ferveur scientifique, va connaître des théories d'explication de la pathogénie de l'asthme bronchique par Van Helmont, Willis et Floyer.

Aux XVII<sup>ème</sup> et XVIII<sup>ème</sup> siècles, les progrès techniques dans le domaine diagnostique, dus notamment aux travaux d'Auerbrugge et Laennec, permettront la découverte de la base anatomique de l'asthme bronchique. Sa nature allergique bronchique a été étudiée pour la première fois par Salter. En introduisant le concept de l'atopie et de l'hypersensibilité qui, au début du XX<sup>ème</sup> siècle, a été élargie pour comprendre l'eczéma et l'urticaire, Meltzer suggère que l'asthme est une maladie allergique. En 1918, Walker a proposé la classification bien connue et encore utilisée aujourd'hui: asthme extrinsèque (où un agent étiologique environnemental peut être identifié) et asthme intrinsèque (où une cause environnemental ne peut être identifiée).

La notion d'asthme professionnel est récente et date des vingt-cinq dernières années. Elle est apparue en raison du développement des moyens d'investigation médicale et de la nette augmentation de la prévalence de l'asthme observée à la fois chez les adultes ainsi que chez les enfants dans tous les pays du monde, notamment dans les pays développés. En effet, cette augmentation de la prévalence globale de l'asthme est contemporaine de l'augmentation des symptômes d'asthme en rapport avec l'activité professionnelle chez des sujets initialement non asthmatiques [3].

**2. Définition :**

L'asthme est une maladie inflammatoire chronique des voies aériennes. Elle se caractérise par une hyper- réactivité bronchique [4]. Plusieurs cellules et médiateurs cellulaires jouent un rôle important caractérisé par un remodelage de la muqueuse bronchique [5] et par des manifestations cliniques dont les plus fréquentes sont : l'essoufflement, l'oppression thoracique, la toux, la diminution des fonctions

pulmonaires [6], les sécrétions bronchiques et les sifflements, particulièrement le soir ou au petit matin.

C'est une maladie chronique qui nécessite un suivi médical régulier, et une éducation thérapeutique associé à un traitement de fond [5].

### 3. Epidémiologie :

La prévalence de l'asthme est en augmentation depuis les années 1970 dans les pays industriels, mais sa mortalité reste stable. Elle varie considérablement selon les pays et il est difficile de déterminer avec précision le nombre d'asthmatiques dans le monde entier. Le GINA (Global Initiative for Asthma) et l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) estiment que l'asthme atteint environ 300 millions de personnes dans le monde [7] et que le nombre de décès reste inquiétant (avec plus de 180.000 morts par an dans le monde) [8]. Un communiqué de presse de l'union Magrèbine a estimé en 2008 environ 1,5 à 2 millions d'asthmatiques en Algérie avec une prévalence de 3 % pour les adultes et 15.1 % pour les enfants [9].

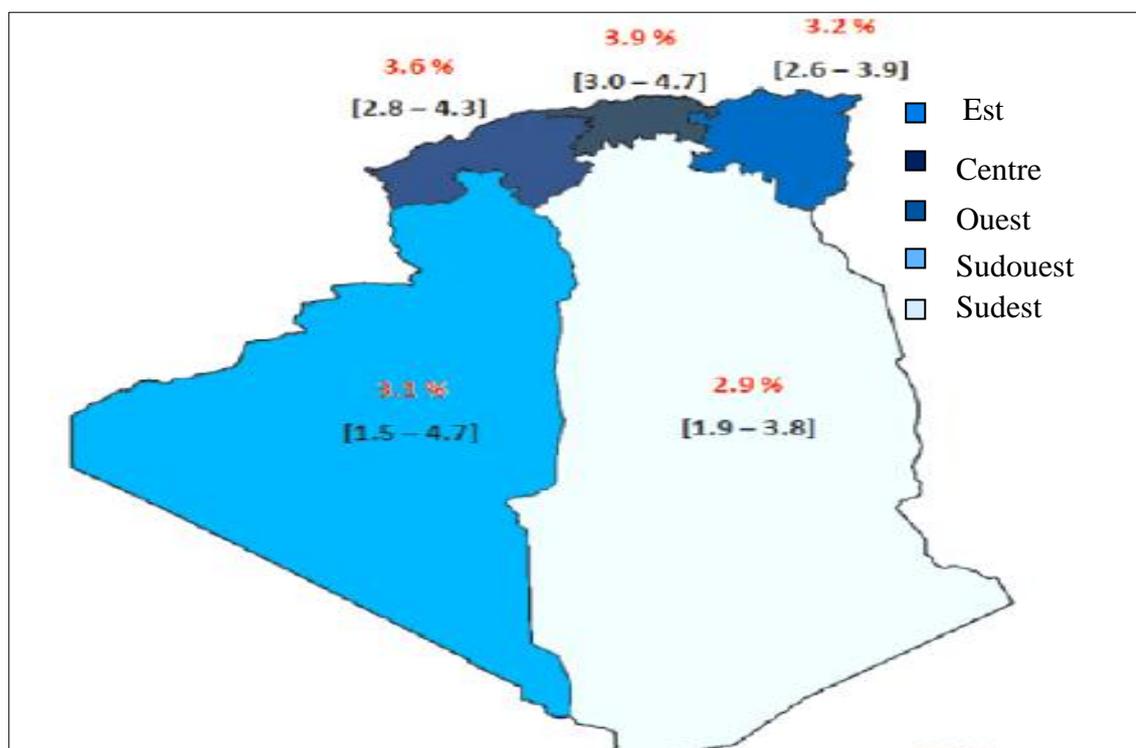


Figure 01 : La prévalence de l'asthme en Algérie (2009) [7].

La prévalence d'asthme dans les pays du Maghreb est difficile à évaluer de manière précise. Cependant plusieurs enquêtes locales ont été menées au cours des quinze dernières années.

Une enquête menée par ISSAC (the International Study of Asthma and Allergies in Childhood) en 2008, a montré que les prévalences dans les pays de Maghreb sont estimées à: 4.15% (Maroc) ; 8.7 % (Algérie) ; 15.4% (Tunisie).

Une étude faite en 2007 en Algérie a révélé que les maladies respiratoires occupent le premier motif de consultations et la deuxième place des causes de morbidité et que l'asthme occupe le troisième rang des maladies chroniques après HTA et le diabète.

La prévalence sous-estimée est de 2 à 7 cas par 100.000 habitants [8].

#### **4. Physiopathologie :**

- Obstruction bronchique :

L'obstruction bronchique est causée principalement par l'hyperréactivité des muscles lisses bronchiques (HRB) et l'hypersécrétion des mucus qui conduit à un épaissement de la paroi bronchique. Ces causes participent à la diminution du diamètre de la bronche ; ce qui se manifeste par des crises dyspnéiques (gêne respiratoire très grave) [3].

- Inflammation des voies aériennes :

La réaction immunitaire produite par le corps pour lutter contre les éléments allergènes est la conséquence d'une inflammation des alvéoles pulmonaires. Cette réaction est due à une infiltration cellulaire qui est caractérisée par la présence des polynucléaires éosinophiles (l'asthme est considéré comme bronchite chronique à éosinophiles) [3].

- système nerveux autonome :

- ✓ Système cholinergique :

L'existence d'une modulation du tonus cholinergique par des composants des voies aériennes rendent le système cholinergique le principal contrôleur du tonus et

des sécrétions. Elle joue un rôle dans l'obstruction bronchique qui peut être une des raisons de l'hyperréactivité bronchique (HRB).

Par ailleurs, les reflux gastro-œsophagiens provoquent une toux, une hypersécrétion bronchique et un bronchospasme [3].

✓ Système adrénergique :

La stimulation adrénergique exerce un effet bronchodilatateur qui dépend du tonus vagal de base. Les récepteurs  $\beta_2$ -adrénergique sont présents sur beaucoup de cellules pulmonaires et surtout celles des muscles lisses bronchiques. Les antagonistes de ces récepteurs sont responsables d'une bronchoconstriction.

Ainsi, une diminution d'activité de ce système va entraîner des anomalies dans les voies aériennes qui ont une incidence négative sur l'asthme [3].

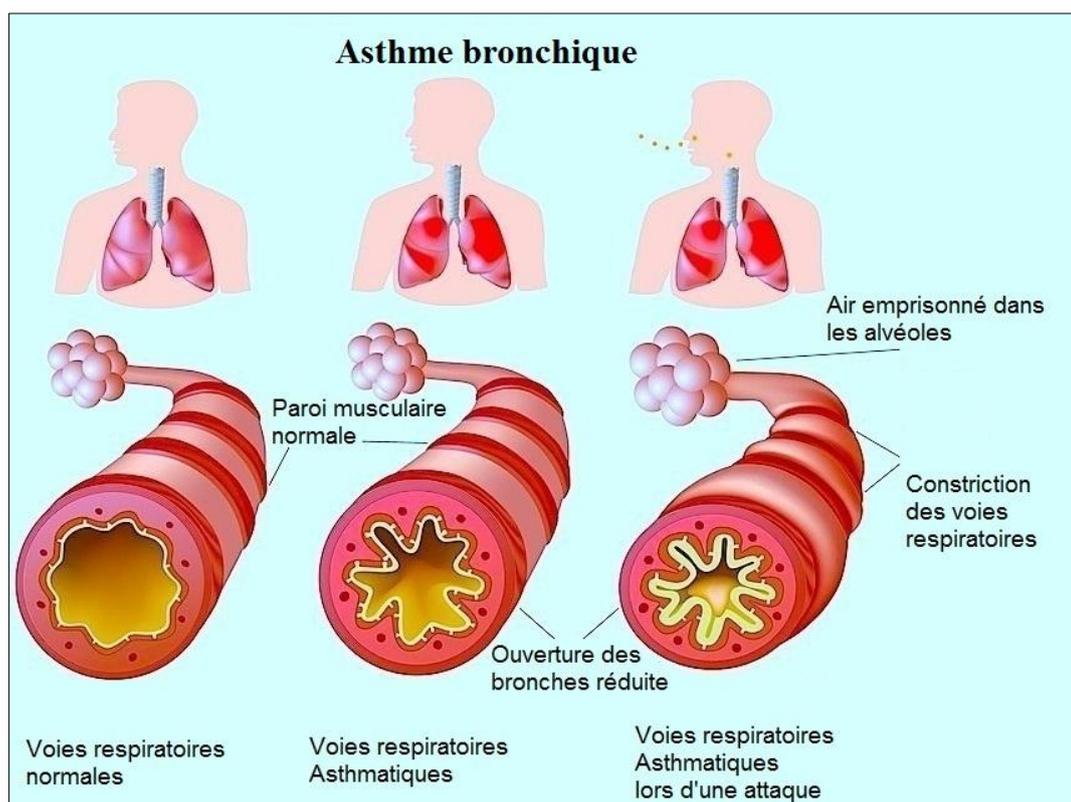


Figure 02 : Schéma représentatif des voies respiratoires d'un asthmatique [10].

## **5. Classification de l'asthme bronchique :**

### **5.1. Asthme aigu grave :**

Autrefois appelé « état de mal asthmatique », c'est la principale complication de l'asthme.

Il s'agit d'une crise d'asthme brutale et d'emblée sévère qui ne cède pas au traitement habituel et qui s'aggrave progressivement jusqu'à devenir une urgence médicale [8].

#### **✚ Principaux signes cliniques :**

- C'est une crise qui se prolonge, soit au-delà de 1 heure malgré un traitement bronchodilatateur correctement suivi ou suite à un traitement mal négocié (plus d'une vingtaine de bouffées dans la journée), soit au-delà de 3 heures après une prise de corticoïdes.
- Le pouls bat très vite (plus de 150 pulsations à la minute).
- Le patient est en hypersudation.
- Le visage est pâle et les lèvres bleutées.
- Sensation de malaise, ou de somnolence [8].

### **5.2. Asthme chronique :**

Classé en 4 paliers en fonctions des symptômes :

- asthme intermittent.
- asthme persistant léger.
- asthme persistant modéré.
- asthme persistant sévère [8].

## **6. Facteurs de risque :**

- Age : L'asthme peut survenir à tout âge, mais 70% des diagnostics font qu'il survient avant l'âge de 7 ans.
- Rhinite allergique ou non allergique, exposition à la fumée (active ou passive) notamment durant l'enfance, expositions professionnelles, certains médicaments (béta-bloquants non sélectifs, Aspirine, AINS).

- L'obésité : association épidémiologique entre obésité et asthme. L'obésité est également associée à un asthme plus sévère et plus difficile à traiter. Une perte pondérale permet souvent une amélioration du contrôle de l'asthme [11].

## **7. Traitement :**

Le traitement de la maladie asthmatique a connu de nombreux progrès au fil des années.

### **7.1. Le traitement primaire :**

- Les anticholinergiques; Inhalé par nébulisation.
- Les corticostéroïdes; par voies : Parentérale, orale ou inhalée.
- L'oxygène[12].

Certains patients ne répondent pas au traitement primaire et présentent des signes d'aggravation de leur pathologie . D'autres traitements sont parfois utilisés chez ces patients et peuvent inclure: le bromure d'ipratropium, le sulfate de magnésium, l'hospitalisation et le traitement par inhibition enzymatiques.

### **7.2. Le bromure d'ipratropium :**

Le bromure d'ipratropium est un dérivé quaternaire de sulfate d'atropine disponible en solution nébuliseur. Il offre une inhibition compétitive de l'acétylcholine au cholinergique muscarinique, favorisant le soulagement du muscle lisse au niveau des grandes voies aériennes centrales [12].

### **7.3.Le sulfate de magnésium :**

Le sulfate de magnésium est un bronchodilatateur immédiat et un anti-inflammatoire léger. C'est un traitement efficace contre l'exacerbation sévère de l'asthme [12].

### **7.4.L'hospitalisation :**

Le fait de ne pas répondre au traitement nécessite une hospitalisation. L'état fluide du patient devrait être évalué et la thérapie d'hydratation orale ou intraveineuse est administrée comme indiqué précédemment . L'hydratation chez

les jeunes enfants et les enfants peut être essentielle car ces patients sont à risque accru de déshydratation en raison d'une mauvaise consommation orale et d'un taux respiratoire accru.

Selon le cas, l'oxygène peut être administré via une canule nasale ou un masque [12].

### **7.5. Traitement par inhibition enzymatiques :**

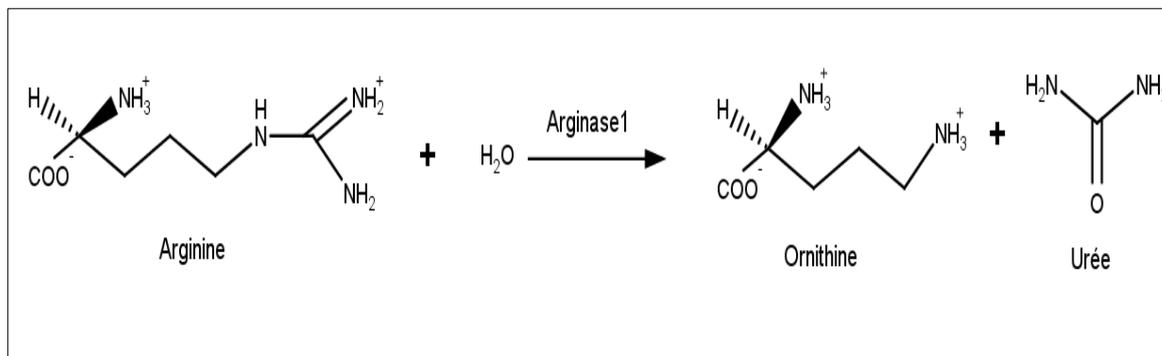
Ce traitement est basé essentiellement par l'inhibition de l'arginase-1, elle nécessite l'un des deux types d'inhibiteurs : synthétique ou naturelle (la description de ses inhibiteurs est présentée dans le chapitre 02).

# **Chapitre 02**

## **Arginase-1 et inhibiteurs**

### 1. La cible thérapeutique :

L'arginase (L-arginine amidinohydrolase, EC (3.5.3.1)) [13] appartient à la famille des enzymes de l'uréhydrolase qui catalyse l'hydrolyse de l'arginine à l'ornithine et l'urée [6 ; 11].

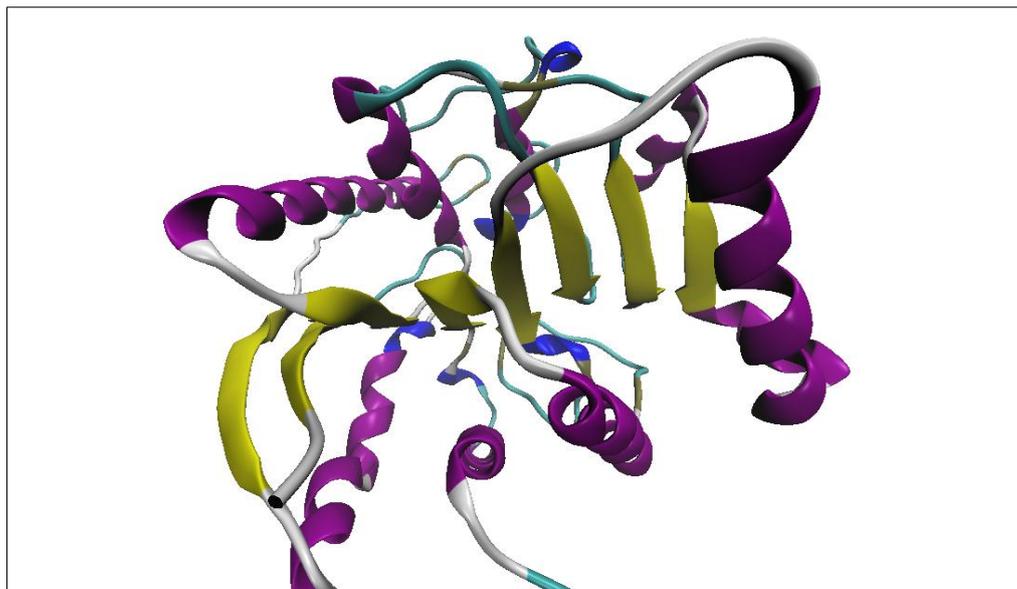


**Figure 03 : La réaction catalysée par l'arginase 1 [14].**

L'arginase existe sous deux iso-formes codées par des gènes distincts désignés comme arginase-1 et arginase-2. L'arginase-1 est principalement exprimée dans les hépatocytes alors que l'arginase-2 se trouve principalement dans les reins, l'intestin grêle, la prostate et d'autres tissus (extra hépatique) [11].

A cause de l'importance du métabolisme de l'arginase-1, elle est considérée comme une cible pour le développement des médicaments concernant le traitement de plusieurs maladies notamment l'asthme. Elle catalyse l'hydrolyse de l'ornithine en proline et polyamine. A cet effet, ces deux derniers produits sont à l'origine des symptômes d'asthme (prolifération cellulaire, production de collagène, contraction du muscle lisse, production du mucus) [11]. C'est pour cette raison que dans le présent travail nous nous intéressons à l'étude de l'isoforme-1 de cette enzyme. Son importance est désignée par une hyper expression du mRNA dans les cellules épithéliales et dans les muscles lisses bronchiques qui se manifeste par une hyper-expression protéique [15].

L'arginase-1 est constituée de 322 acides aminés. La cristallographie à haute résolution a montré que l'arginase 1 est composé de trois sous-unités identiques [16].

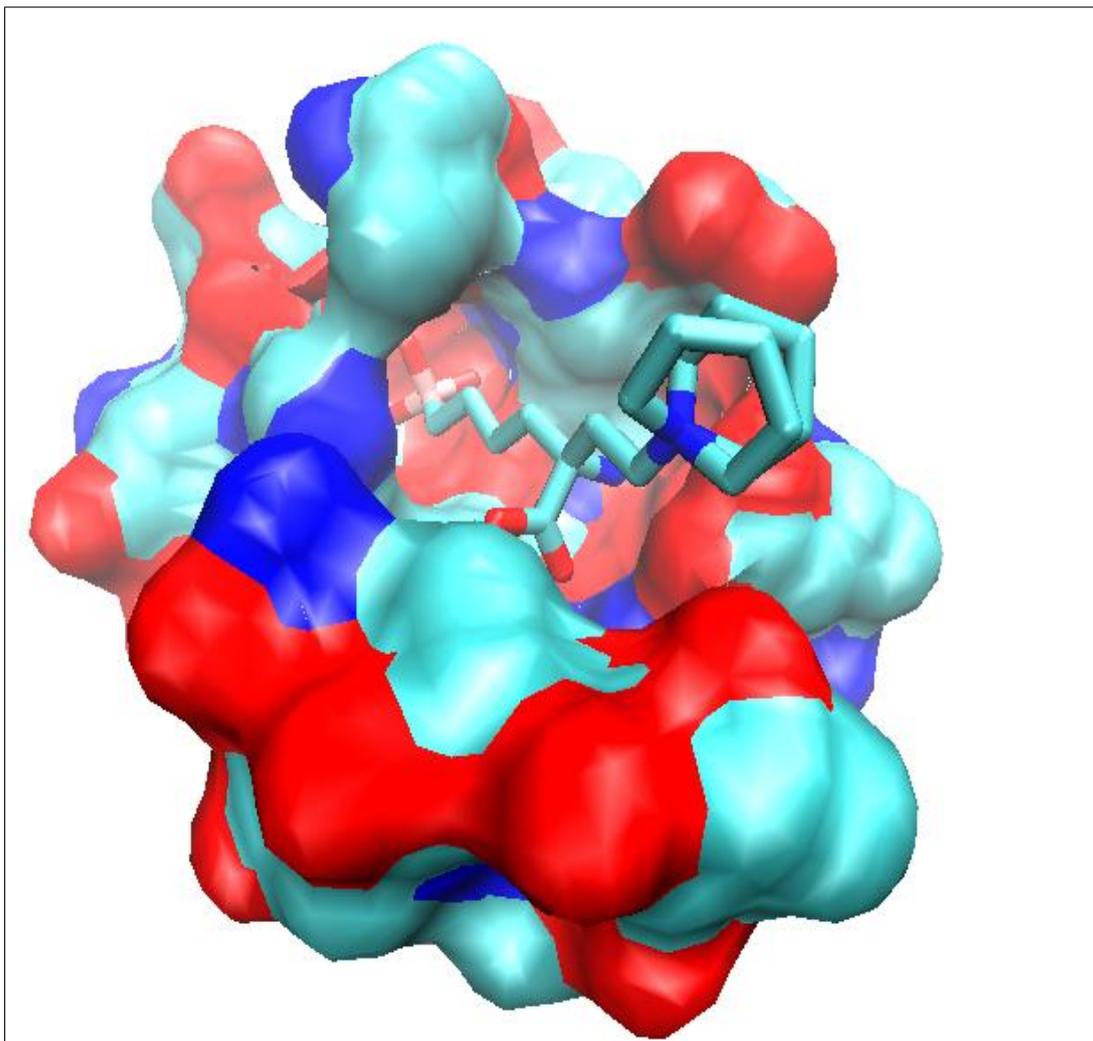


**Figure 04 : Représentation schématique de la chaîne A de l'arginase-1**

## **2. Le site actif :**

Le site actif contient l'ion manganèse, se situe en bas d'une fente à une distance de 15 Å [16]. Il est composé des acides aminés suivants :

Acide aspartique, histidine, sérine, tryptophane, acide aspartique, alanine, histidine, thréonine, acide aspartique, asparagine, thréonine, sérine, glycine, asparagine, histidine, glycine, glutamine, acide aspartique, acide glutamique, acide aspartique, thréonine, acide glutamique, acide aspartique, thréonine, acide glutamique.



**Figure 05 : Le site actif de l'arginase 1 (sous représentation Surf) avec l'inhibiteur X7A.**

### **3. Les inhibiteurs de l'arginase-1 :**

Les inhibiteurs de l'arginase-1 sont de petites molécules naturelles ou synthétiques. Ils inhibent le catabolisme de la L-arginine en L-ornithine et urée.

#### **3.1. Les inhibiteurs naturels :**

Les inhibiteurs naturels de l'ARG-1 regroupent principalement la classe des polyphénols. Ces derniers sont des métabolites secondaires présentes dans les plantes médicinales, les végétaux et les fruits. On cite à titre d'exemple les inhibiteurs compétitifs qui ont une forte activité inhibitrice (l'acide chlorogénique, le piceatannol) [17].

Ces inhibiteurs sont capables d'inhiber l'arginase-1 par la fixation de la fraction hydroxytyrosylique avec la région contenant des ions métalliques. L'interaction se réalise entre les trois groupes hydroxyle avec le cycle du polyphénol.

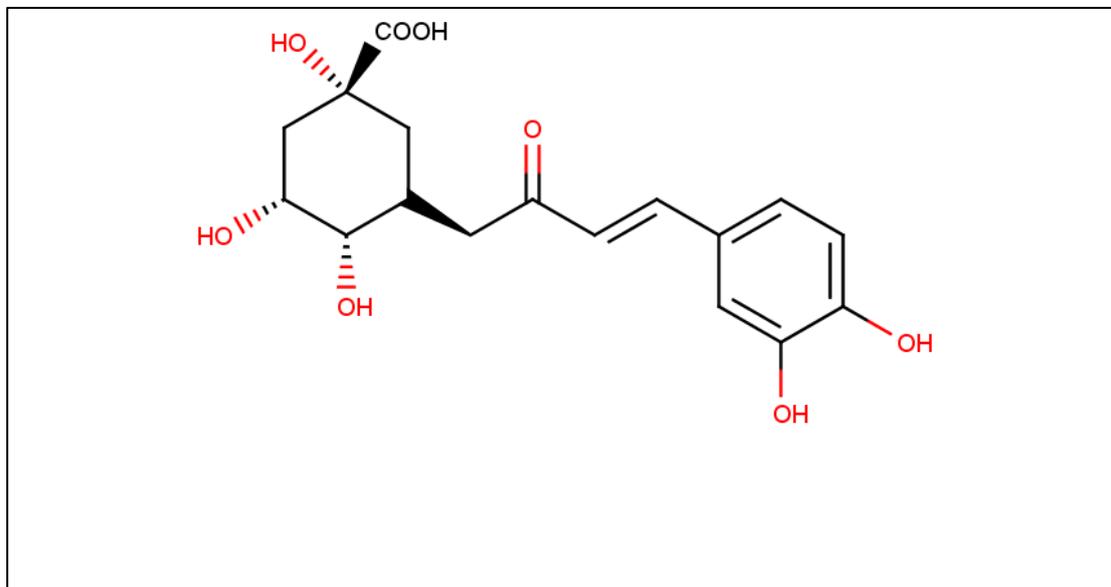


Figure 06 : Structure chimique de l'acide chlorogénique.

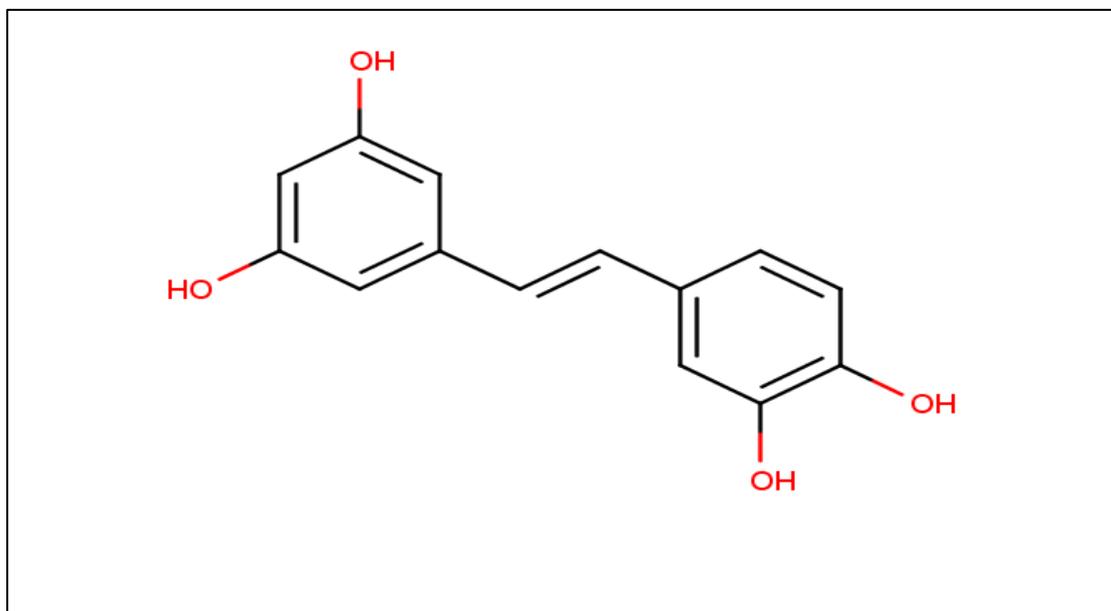
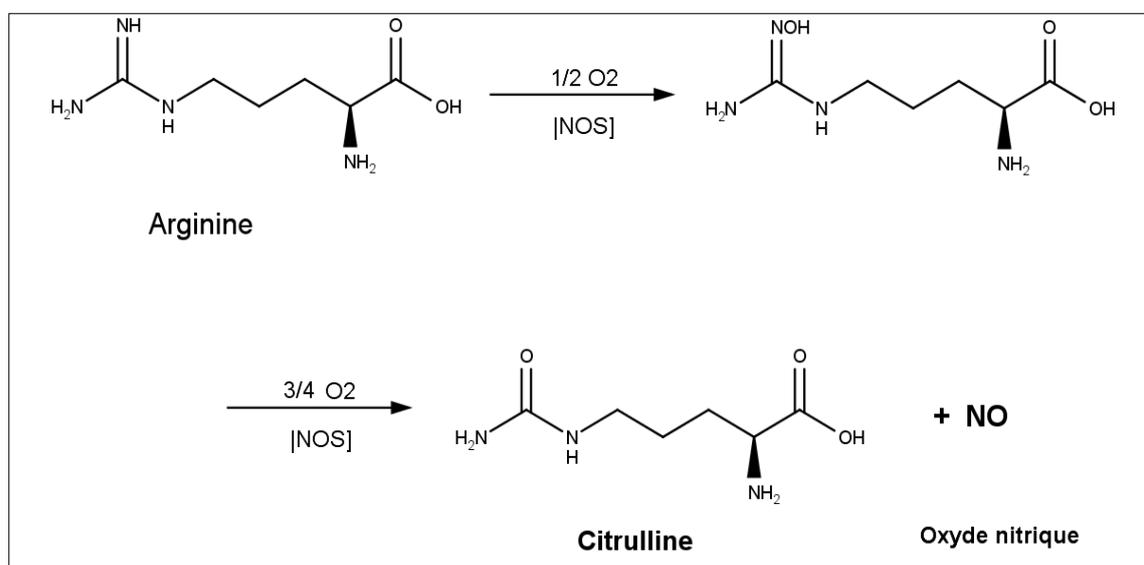


Figure 07 : Structure chimique du piceatannol.

## 3.2. Les inhibiteurs synthétiques :

3.2.1. Classe 1 : acides N<sup>o</sup>-Hhydroxyamino-alpha-amino :

Parmi les premiers inhibiteurs classiques synthétiques, on cite L-NOHA (N<sup>o</sup>-hydroxy-L-arginine) et ses dérivés obtenus par substitution. Il s'agit d'un intermédiaire formé lors de l'oxydation de la L-arginine par l'oxyde nitrique synthase (NOS) en L-citrulline et l'oxyde nitrique (NO).

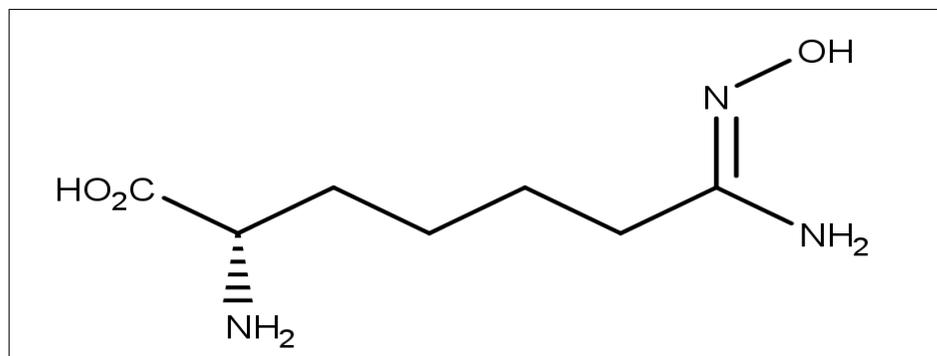


**Figure 08 : Réaction d'oxydation de l'arginine par oxyde nitrique synthase (NOS).**

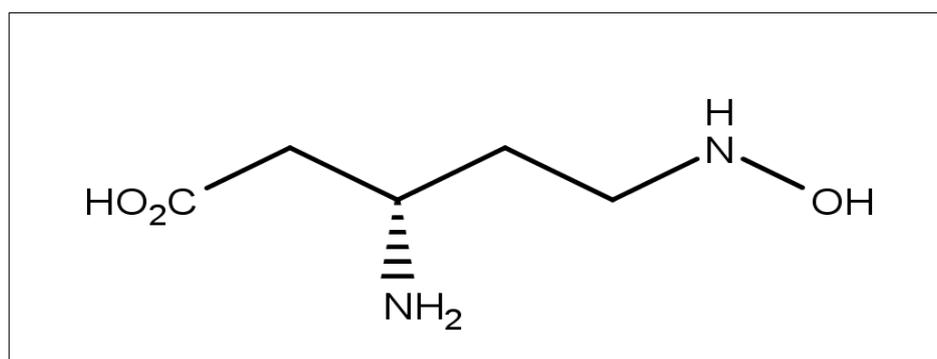
Le L-NOHA exerce son effet inhibiteur par l'interaction de son groupement N-OH avec l'ion manganèse de site actif de l'ARG1 [18].

L'inhibition N-hydroxy-L-Lysine (dérivés de L-NOHA) apparait dans le rôle du groupement -OH supprimé. Après l'interaction du -OH avec l'ion manganèse, l'emplacement de L-Lysine dans le site actif rassemble à celui de L-arginine. Les deux structures A et B sont superposables, à l'exception du groupement NH-C<sup>+</sup>(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> de L-arginine avec CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub><sup>+</sup> de L-Lysine. En plus de la structure, la même charge positive des deux composées à proximité de Mn<sup>2+</sup> rend leur reconnaissance par l'arginase plus facile.

Ces caractéristiques rendent la L-lysine un analogue de la L-arginine, permettant leur classement parmi les inhibiteurs (hydroxylés) les plus puissants de L'arginase [18].



**Figure 09 : Structure chimique de l'inhibiteur N-hydroxy-L-arginine (NOHA) .**



**Figure 10 : Structure chimique de l'inhibiteur N-hydroxy-L-lysine .**

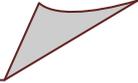
### 3.2.2. Classe2 : (ABH) 2(S) acides –amino-6-borono-hexanoïque:

Les inhibiteurs de cette classe se lient de manière réversible suivie d'un changement conformationnel de l'enzyme ciblée. Le déplacement de l'ion hydroxyde d'arginase par l'inhibiteur et le changement de transformation pour adapter le borate en tant qu'intermédiaire d'état de transition, c'est le mode d'action habituel. Les groupes  $\alpha$ -amino-acide des arginases-1 présentent trois liaisons H directes et quatre liaisons H avec l'eau coordonnée de l'arginase. Les parties boroniques se lient aux grappes de manganèse. Un groupe hydroxylé de bore portant le groupe bimanganèse



# **Chapitre 03**

## **Le docking moléculaire**



## 1. Docking moléculaire :

Le docking moléculaire *in silico* a pour but de prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales. Il donne une idée comment de petites molécules (ligands) intègrent et interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique (récepteur). Ce qui permet de tester le processus d'essayage d'emplacement des ligands dans un récepteur [21,22].

Dans l'industrie pharmaceutique, le docking a un intérêt capital car grâce à ses outils que nous pouvons comprendre comment un principe actif s'attache et interagisse avec une cible protéique afin de l'inhiber ou l'activer [21].

La modélisation de la structure d'un complexe protéine-ligand est importante pour la compréhension des interactions entre un ligand et sa protéine, et donc la conception de nouveaux médicaments.

Dans le cas du présent travail, Les ligands sont de petites molécules destinées à inhiber l'activité d'une protéine (enzyme).

Le docking est un procédé très utile qui étudie l'interaction potentiel de la structure d'un complexe moléculaire en tenant compte des interactions potentielles qui établissent la petite molécule dans le site de liaison de la protéine [23].

Le docking permet de déterminer les modes de liaison ou les conformations possibles d'un ligand à un récepteur [24] et de calculer l'énergie de liaison ou l'énergie du complexe permettant de donner une estimation sur l'affinité de liaison entre deux molécules. Ceci a pour but de déterminer quel ligand candidat interagira le mieux avec une protéine cible donnée [22].

## 2. Les interactions protéine-ligand :

La stabilisation des molécules nécessite plusieurs interactions dont les plus intéressantes dans notre étude sont :

### 2.1. Les liaisons hydrogènes :

Elle résulte de manière électrostatique entre un atome d'hydrogène (H), lié par covalence à un atome électronégatif (O, N, S) (donneur) et un deuxième atome électronégatif possédant une paire d'électrons non partagée (accepteur). Leurs

énergies sont estimées entre 3 et 9 kcal/mol. Les acides aminés polaires peuvent ainsi former des liaisons hydrogène entre eux ou avec des molécules d'eau.

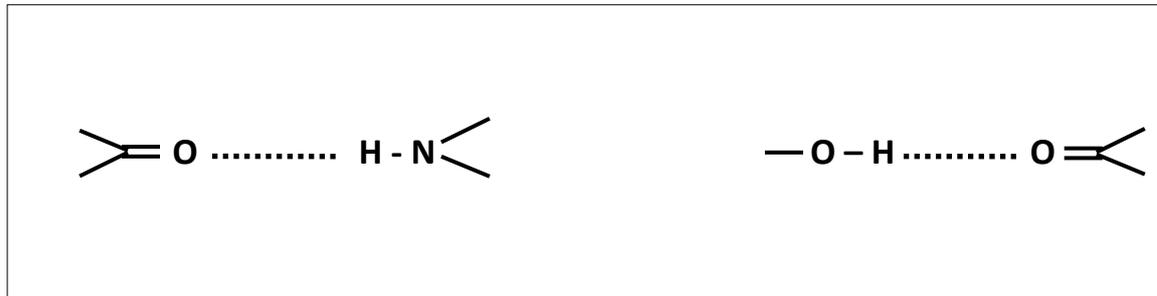


Figure 12 : Les liaisons hydrogène.

### 2.2. Les interactions hydrophobes :

Elles se forment lorsque les molécules non polaires tendent à se rapprocher afin de limiter les contacts avec l'eau, et à créer entre elles des liaisons dites interactions non covalentes. Les acides aminés hydrophobes ont des chaînes latérales non chargées et non polaires ; il s'agit de l'alanine, la valine, la leucine, l'isoleucine, la proline, la phénylalanine, le tryptophane et la méthionine.

Les effets hydrophobes sont responsables de la densité à l'interface dans les assemblages macromoléculaires.

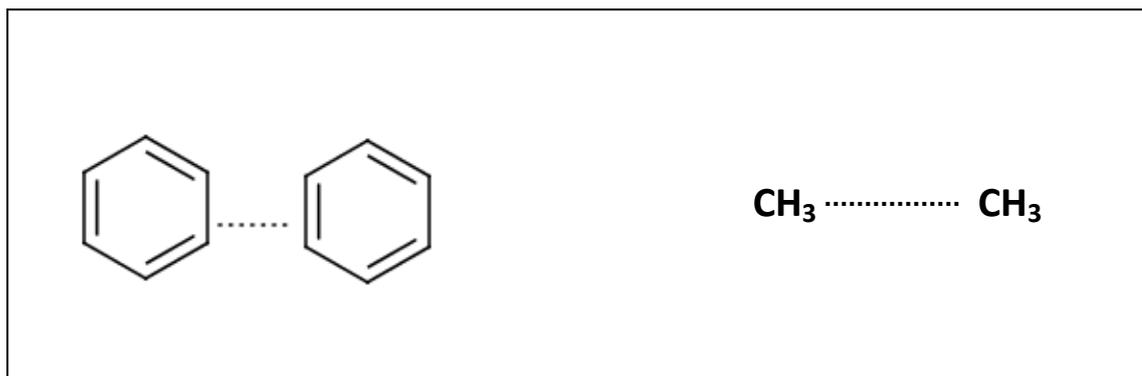


Figure 13 : Les interactions hydrophobes.

### 3. Le programme de docking « Surfex » :

Surflex est un algorithme rapide de docking, capable de docker avec précision des ligands dans un environnement riche en acides aminés [25]. Il comprend deux parties ;

L'une pour des études de similarité tridimensionnelle des molécules (surflex-sim), l'autre pour des études de docking (surflex-dock) [26].

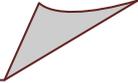
Seule la partie docking est abordée ici. Elle se base sur la construction d'une pseudo-molécule (protomol) comme cible sur laquelle aligner le ligand. Il s'agit de fragments de molécules placés dans le site actif de manière à occuper idéalement et de manière redondante celui-ci à partir de critères morphologiques. Il est important de préciser que cette pseudo molécule est construite à partir du ligand dans le site actif, à condition de bénéficier d'une structure, ou bien à partir du récepteur sans aucun ligand: il utilise dans ce cas 3 types de fragments CH<sub>4</sub>, C=O et N-H mais il est nécessaire de connaître l'emplacement du site actif.

Le docking est réalisé en trois étapes :

1. Choisir comment identifier le site actif (à partir d'un ligand ou d'un récepteur).
2. Construire une pseudo-molécule qui sera ciblée par différents ligands.
3. Réaliser le docking de un ou plusieurs ligands [25].

# **Chapitre 04**

## **Matériels et méthodes**



**1. Matériels :**

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

**1.1. Micro-ordinateur :**

Dans notre étude nous avons utilisé un micro-ordinateur HP ayant un processus de 1,70 Intel Core i3 et une mémoire vive de 4,00 Go. Sous le système d'exploitation Windows 7. 32 bits version 2009.

**1.2. Le réseau internet**

Nous avons utilisé l'internet comme outil principale pour le téléchargement des complexes protéiques (banque de données) et le tirage des ligands à partir de la littérature.

**1.2.1. La banque de données protéiques :**

La banque de données protéiques (Protein Data Bank ou PDB) est un dépôt référentiel des structures 3D des molécules biologiques comme les protéines et les acides nucléiques. Ces structures protéiques obtenues soit à partir de cristallographie aux rayons X, soit à partir de RMN (résonance magnétique nucléaire) sont fournies par des biologistes et des biochimistes à travers le monde. Elle sert au téléchargement des complexes protéiques nécessaire dans notre étude [27].

**1.2.2. Le serveur Molinspiration :**

Il utilisé pour appliquer la règle de 5 (de Christopher Lipinski) [28].

**1.3. Programme :**

Pour les applications de docking moléculaire, nous avons utilisé les programmes suivants :

**1.3.1. Titan (Version 1.0.1):**

**Titan** est un outil de dessin qui permet de construire des molécules tridimensionnelles « 3D » dans différents formats (sdf, mol2, pdb, mol...) et de minimiser leurs énergies pour l'obtention des molécules plus stables [29].

**1.3.2. Surfex (Version 1.3, aout 2010) :**

**Surfex** est un algorithme de docking rapide, capable d'arrimer les ligands dans un environnement constitué d'acides aminés avec une bonne précision [30]. L'étape de docking débute par une fragmentation préalable du ligand. L'assemblage des fragments obtenus permet de rechercher les meilleures conformations du ligand dans le site actif de l'enzyme. Cette étape permet d'effectuer les calculs de scores de docking.

### 1.3.3. Marvin Sketch (15.9.7) :

On a utilisée ce programme pour schématiser les structures chimiques 2D des molécules utilisées dans ce travail, elle permet aussi la conversion des formats 2D en 3D, et vice versa [31].

### 1.3.4. VMD (version 1.9.1, février 2012):

Permettant de visualiser la structure de l'enzyme et des ligands. Ainsi, elle permet la préparation de la protéine par l'enlèvement des molécules d'eaux, des ions métalliques et de tous qui n'est pas de nature protéiques [31].

### 1.3.5. MS Viewer 4.2:

Est un logiciel qui permet la visualisation des interactions qui existe entre le ligand et le site actif de la cible (interactions hydrophobes et liaisons hydrogène). Il permet également de calculer la distance des interactions entre le ligand et les acides aminés de l'enzyme [32].

### 1.3.6. Excel Microsoft Office (Version 7):

On a utilisé Microsoft Excel pour tracer la courbe de Corrélation entre l'activité biologique des différents complexes ( $\log CI_{50}$ ) et leurs affinités (scores) ainsi que pour calculer le coefficient de corrélation linéaire.

## 2. Méthodes :

### 2.1. Choix et Préparation du récepteur :

La structure tridimensionnelle de l'arginase 1, faisant l'objet de notre étude, est disponible sous format *pdb* via la banque de donnée *Protein Data Bank*. Cette dernière nous offre le choix de 15 structures cristallographiques de complexes "arginase 1-inhibiteur" avec une résolution inférieure à 2,0 Å (voir tableau 02).

Tableau 02 : Les codes PDB des complexes "arginase 1-inhibiteur" avec leurs résolutions.

Code	Inhibiteur	Résolution (Å)
2AEB	ABH	1,29
4HWW	X7A	1,3
4HXQ	X8A	1,45
4GSV	ABH	1,48
4GWD	ABH	1,53
3KV2	NNH	1,55
3SJT	5AB	1,6
3GN0	DMO	1,7
4FCI	GPA	1,82
4FCK	GPA	1,9
3MFV	Z70	1,9
1WVA	S2C	1,94
2PH0	TSZ	1,95
3THE	BCN	1,97
4IE1	1EC	2,0

Dans notre étude nous avons choisi le complexe de l'arginase 1 « 4HWW » avec l'inhibiteur **X7A** car il s'agit d'une structure correctement définie par cristallographie avec une résolution égale à 1,3 Å. Cette structure est sous forme d'un complexe homodimérique (deux chaînes A et B). A l'aide du programme VMD, la chaîne B a été supprimée pour ne garder que la chaîne A afin de faciliter la manipulation. L'inhibiteur, les molécules d'eau et les métaux de manganèse de la chaîne A sont ainsi éliminés afin d'obtenir un récepteur avec un site actif libre. Enfin, ce dernier est enregistré sous format *mol2* que reconnaît **Surflex**.

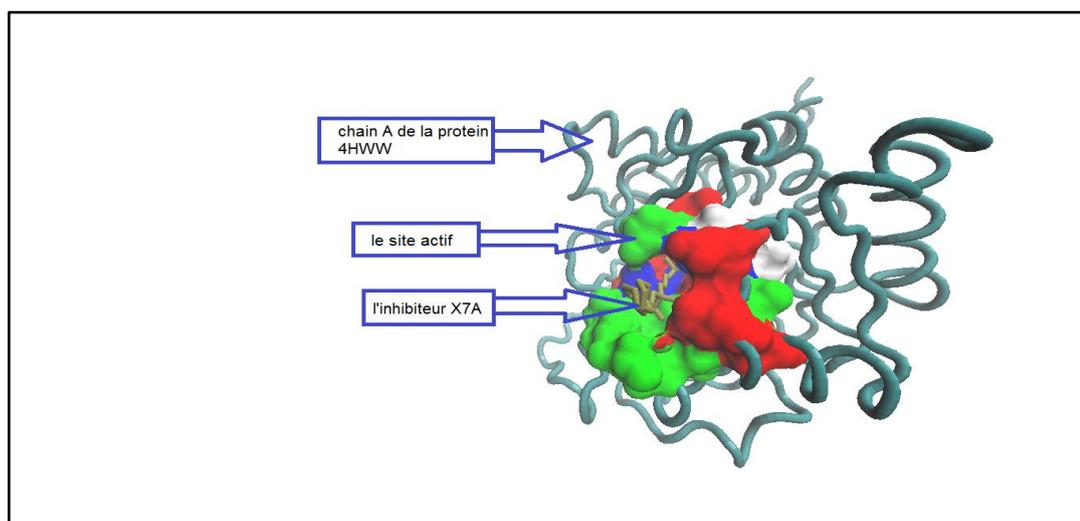


Figure 14 : Représentation du site actif de la chaîne A de l'ARG-1 lié à son inhibiteur (4HWW).

Tableau 01 : Les positions des acides aminés du site actif de l'arginase 1.

Acides aminés	Position
Asp	100
His	101
Ser	102
Trp	122
Asp	124
ala	125
his	126
Thr	127
Asp	128
Asn	130
Thr	135
Thr	136
Ser	137
Gly	138
Asn	139
His	141
Gly	142
Gln	143
Asp	181
Asp	183
Glu	186
Asp	232
Asp	234
Thr	246
Glu	277

## 2.2. Préparation des ligands :

Les structures des molécules inhibitrices obtenus à partir de la littérature et retenues pour le docking sont construites avec le programme de construction moléculaire **Titan**. Ce dernier dispose d'une banque d'atomes sous différents états d'hybridation permettant de construire tous les groupements chimiques éventuels. Après minimisation de l'énergie des molécules construites, ils sont enregistrés sous l'extension *pdb*.

## 2.3. Le docking moléculaire :

Le docking moléculaire est réalisé par le programme **Surflex** en suivant plusieurs étapes :

- Génération du protomol.
- Le docking.

### 2.3.1. La génération du protomol :

C'est une étape qui résulte de la création d'une pseudo-molécule (protomol) comme cible, à laquelle se lie le ligand dans le site actif, en utilisant la commande suivante :

```
surflex-dock proto ligand.pdb protein.mol2 pl
```

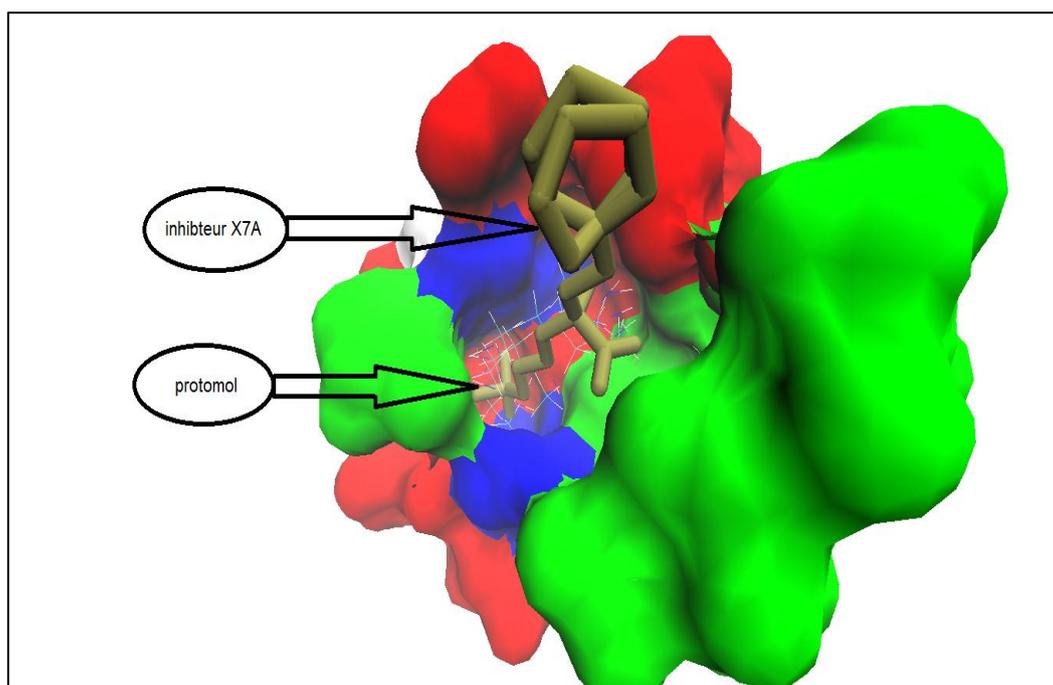


Figure 15 : le protomol généré à 6 Å

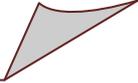
### 2.3.2. Le docking :

Cette étape est réalisée d'une part par l'utilisation des ligands au format *pdb*, d'autre part de la protéine et du protomol au format *mol2*. Elle nous a permis d'avoir les meilleures conformations des ligands au niveau du site actif de l'enzyme selon leurs affinités. Nous avons utilisé la commande suivante :

```
surflex-dock dock ligand.pdb pl-protomol.mol2 protein.mol2
```

# **Chapitre 05**

## **Résultat et discussion**



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

Notre démarche a consisté d'abord à évaluer la fiabilité du programme de docking moléculaire **Surflex** par la réalisation de trois tests :

- Le test RMSD.
- L'analyse visuelle.
- Le coefficient de corrélation linéaire ( $r$ ).

### 1.1. Le test RMSD :

La prédiction du mode d'interaction d'un ligand au sein de son récepteur constitue le but principal de docking moléculaire. La performance d'un programme de docking moléculaire réside dans sa capacité à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux. Cette capacité est jugée en réalisant le test de déviation quadratique moyenne (RMSD). Le test en question est relatif à l'estimation de la déviation quadratique moyenne (RMSD). Celui-ci permet le calcul de la moyenne des différences entre les positions du ligand avant et après leurs docking. Les résultats obtenus par le programme informatique de docking sont comparés à ceux existants au niveau de la PDB. Selon les travaux entrepris par A. CHIKHI & A.BENSEGUENI (2008), la prédiction est acceptable lorsque la RMSD est inférieure ou égale à la valeur de 2 Å [33].

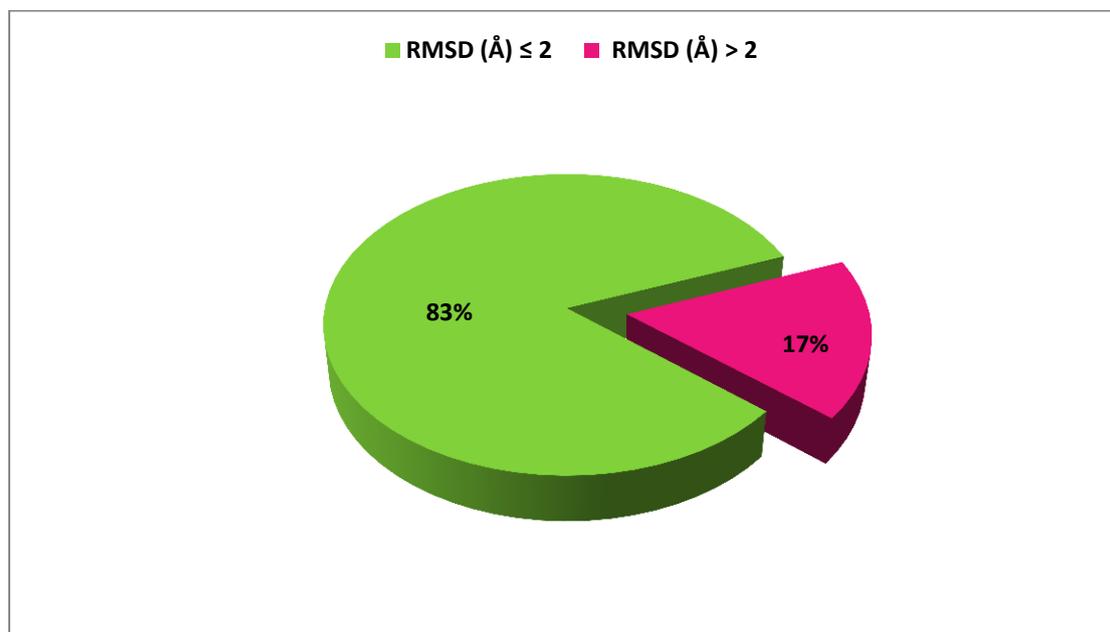
Notre simulation par Surflex est réalisée sur 100 complexes tirés arbitrairement de la PDB (la liste des complexes est mentionnée dans l'annexe n°01). Ces complexes sont traités par l'utilisation du programme VMD. Chaque complexe est analysé par la séparation de sa protéine et son ligand dans des fichiers différents. Après la reconstruction moléculaire du complexe, la commande suivante a été utilisée pour réaliser ce test:

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

Dans certains cas, la prédiction de la conformation idéale est obtenue après une étape d'optimisation réalisée par l'entrée de la commande :

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

Les résultats de ce test sont représentés dans la figure 16.



**Figure 16 : Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles.**

Les résultats obtenus montrent que **Surflex** parvient à simuler convenablement la réalité exprimée par les données expérimentales. En effet, seulement 17 % des résultats représentent des valeurs de RMSD supérieures à 2 Å, contre 83 % des valeurs qui sont inférieures à notre référence (2 Å).

Pour vérifier la performance de ce test, une analyse visuelle des conformations des ligands simulées par Surflex a été réalisée.

### 1.2. L'analyse visuelle :

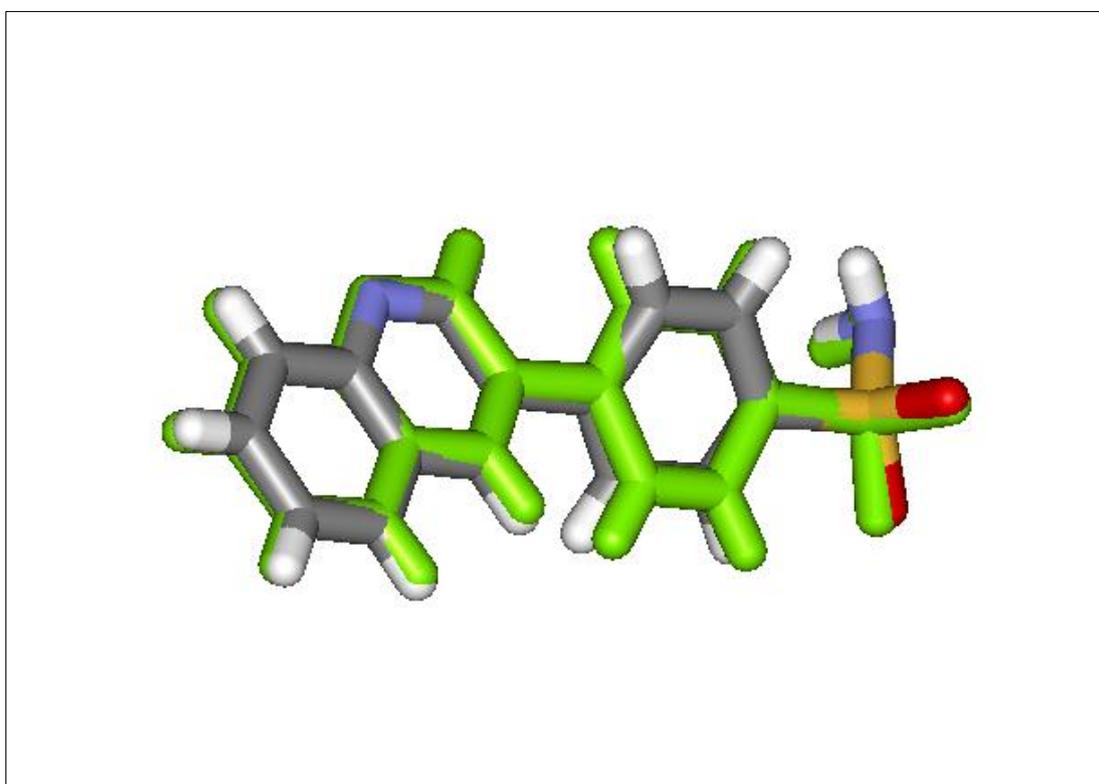
Après le test RMSD, l'analyse visuelle représente une étape essentielle pour confirmer les résultats obtenus. Elle consiste à analyser visuellement la superposition du ligand simulé par rapport au même ligand de référence tiré de la *PDB*. A ce titre, trois complexes protéiques sont utilisés :

Le premier a la meilleure valeur du RMSD (0,209 Å), le deuxième est relatif à une valeur intermédiaire (1,069 Å) et le troisième présente une mauvaise valeur du RMSD (2,731Å) (voir tableau 03).

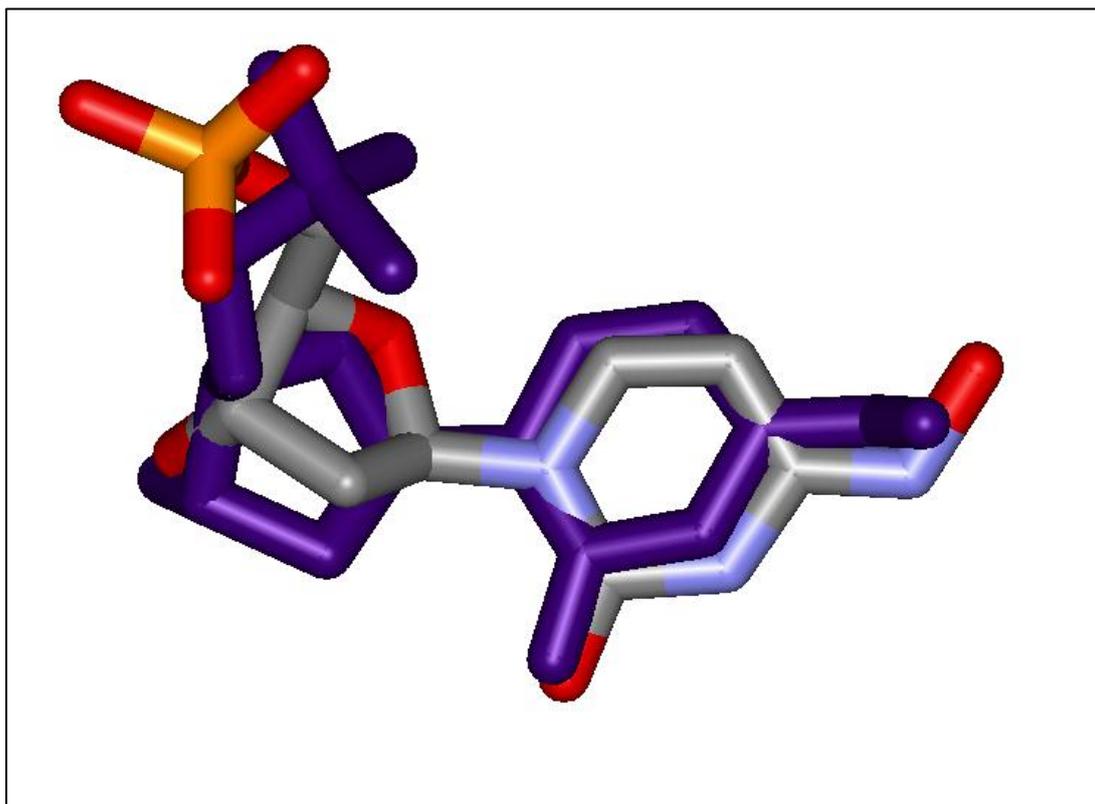
**Tableau 03: Les complexes utilisés pour l'analyse visuelle.**

Code du complexe	Inhibiteur	RMSD (Å)
5SZ7	72H	0,209
4EIN	NOH	1,069
4LXJ	LAN	2,731

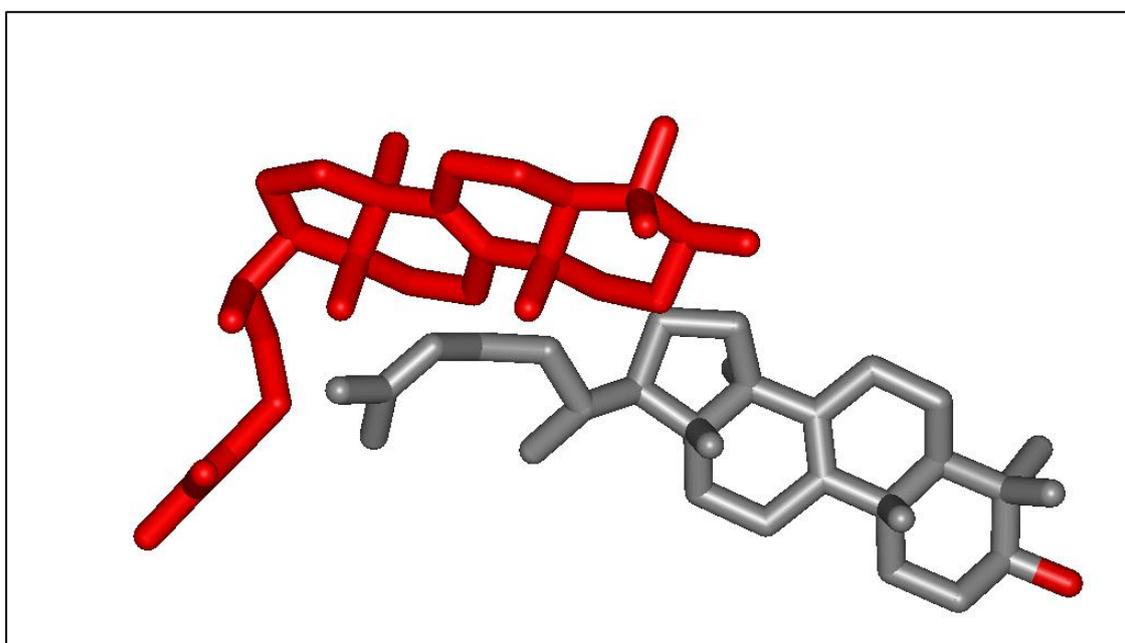
Les figures suivantes (17, 18 et 19) obtenues à l'aide du programme MS Viewer représentent les superpositions des ligands de référence obtenus par cristallographie dans la PDB avec les mêmes ligands simulés par **Surflex**.



**Figure 17 : Superposition du ligand 72H issu de la cristallographie (coloré par type d'atome) avec celui simulé par Surflex (coloré en vert) du complexe 5SZ7.**



**Figure 18:** Superposition du ligand NOH issu de la cristallographie (coloré par type d'atome) avec celui simulé par Surfex (coloré en violet) du complexe 4EIN.



**Figure 19:** Superposition du ligand LAN issu de la cristallographie (coloré par type d'atome) avec celui simulé par Surfex (coloré en rouge) du complexe 4LXJ.

On constate que la superposition est presque parfaite pour le cas du ligand 72H avec un RMSD de 0,209 Å. Dans le deuxième cas, le ligand NOH avec un RMSD de 1,069 Å présente une superposition acceptable. Enfin, dans le cas du ligand LAN qui a un RMSD de 2,731 Å. On observe que les deux ligands (référence et arrimé) sont fortement éloignés.

### 1.3. Coefficient de corrélation linéaire « r » :

Le coefficient de corrélation est une donnée numérique (r), obtenu à partir de la courbe de corrélation. La figure 20 représente les valeurs que peut prendre le coefficient de corrélation.

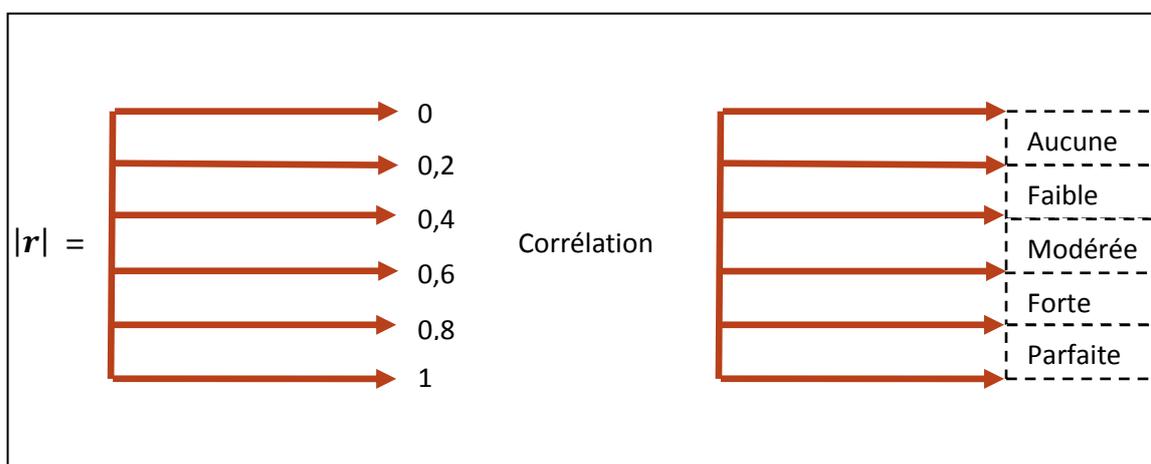


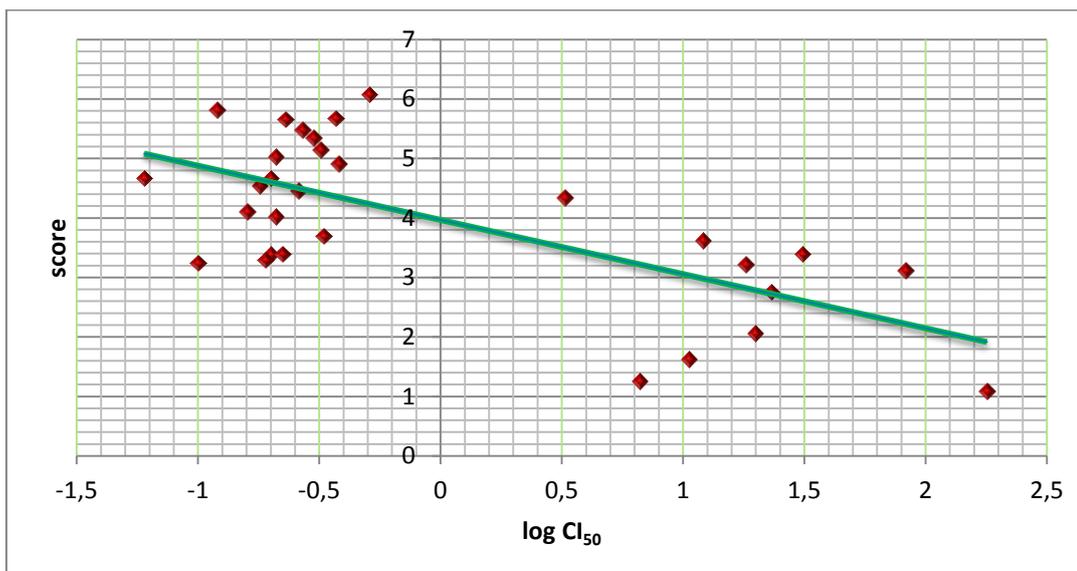
Figure 20: valeurs du coefficient de corrélation linéaire.

La relation de ce dernier avec la fiabilité du programme de docking est que la valeur absolue de « r » doit être supérieure ou égale à 0,5.

Dans notre cas la courbe dite de régression linéaire représente la corrélation des valeurs des scores des inhibiteurs obtenues par docking moléculaire avec **Surflex** et les valeurs de l'activité biologique expérimentale ( $CI_{50}$ ) issues de la littérature et converties sous forme logarithmique ( $\log CI_{50}$ ).

**Tableau 4: Valeurs de l'activité biologique, les logarithmes décimaux de l'activité biologique et les scores de docking des inhibiteurs issus de la littérature.**

N° de composé	Code d'inhibiteur	CI <sub>50</sub> (µM)	Log CI <sub>50</sub>	Scores
1	2a	0,38	-0,420	4,92
2	2b	0,18	-0,744	4,55
3	2c	0,2	-0,698	3,39
4	2d	0,19	-0,721	3,3
5	2e	0,2	-0,698	4,67
6	2f	0,21	-0,677	4,03
7	2g	0,1	-1,000	3,25
8	2h	0,12	-0,920	5,82
9	2i	6,65	0,822	1,26
10	2k	0,33	-0,481	3,7
11	1l	3,26	0,513	4,35
12	1o	0,37	-0,431	5,68
13	1p	0,32	-0,494	5,15
14	9	0,223	-0,420	3,4
15	14	0,06	-1,221	4,67
16	15	0,30	-0,522	5,35
17	17	0,23	-0,638	5,66
18	18	0,51	-0,292	6,08
19	19	0,16	-0,795	4,11
20	20	0,26	-0,585	4,46
21	21	0,21	-0,677	5,03
22	23	0,27	-0,568	5,48
23	Acide chlorogénique	10,6	1,025	1,63
24	Epicatechine	19,9	1,298	2,07
25	Resvératrol	18,2	1,260	3,22
26	Taxifoline	23,2	1,365	2,76
27	Fistine	82,9	1,918	3,12
28	Kaempferol	179,1	2,253	1,1
29	Piceatannol	12,1	1,082	3,62
30	Quercitine	31,2	1,494	3,4



**Figure 21: Corrélation entre le score d'interaction et le logarithme décimale de l'activité biologique ( $\log CI_{50}$ ) des 30 inhibiteurs avec le site actif de l'arginase-1.**

Le coefficient de corrélation obtenu est égal à  $-0,67$  ( $r = 0,67$ ). Cette valeur est supérieure à la valeur de référence  $0,5$ ; ce qui est en accord avec les résultats de Chikhi A. et Bensegueni A. [34].

#### 1.4. Conclusion :

D'après les tests réalisés, on conclue que **Surflex** est suffisamment fiable pour la réalisation de notre travail.

## 2. Etude des interactions :

Pour l'étude d'interaction enzyme-inhibiteur, nous avons choisi le complexe 4HWW. L'analyse visuelle de ce complexe montre que l'ARG-1 est liée à son inhibiteur portant le code **X7A** avec une résolution de  $1,3 \text{ \AA}$ . Après la préparation de la protéine (l'enlèvement d'une chaîne protéique et la suppression des molécules d'eau et de manganèse), il résulte un récepteur avec un site actif libre qui permet par la suite la réalisation des différentes interactions avec plusieurs ligands.

Parmi les 30 inhibiteurs utilisés dans le test de fiabilité, on en a choisi deux : l'un représentant la meilleure  $CI_{50}$  (l'inhibiteur portant le code 14) et l'autre représentant le meilleur score (l'inhibiteur portant le code 18) (voir tableau 05).

**Tableau 05 : Les deux inhibiteurs avec leurs scores et leurs  $CI_{50}$ .**

Inhibiteur	$CI_{50}$ ( $\mu M$ )	Score
14 (molécule 1 : M1)	0,06	4,67
18 (molécule 2 : M2)	0,51	6,08

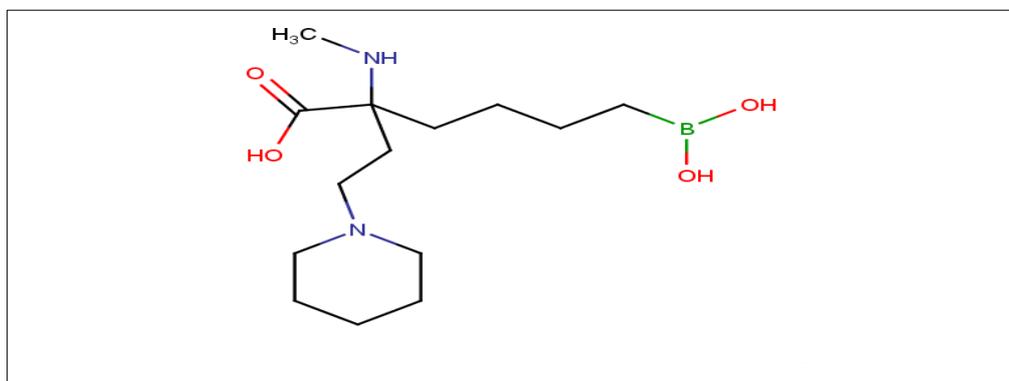
L'étude des interactions est réalisée par le logiciel MS Viewer. Cette étude a pour but de visualiser et identifier les résidus et les groupements impliqués dans la formation des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobiques entre l'inhibiteur et le site actif de l'enzyme (ARG-1).

Dans les interactions que nous avons étudiées, les acides aminés qui sont répétés dans toutes les interactions représentent les résidus responsables à la reconnaissance moléculaire entre le ligand et le site actif de l'ARG 1 (Thr 246, Asp 234, His 141, Gly 142).

**NB:** Les numéros des carbones mentionnés dans les interactions sont donnés par le logiciel MS Viewer.

### 2.1. Interactions (M1)-ARG-1 :

La structure de l'inhibiteur **M1** qui a la meilleure activité biologique ( $CI_{50}=0,06 \mu M$ ) est représentée dans la figure 22.



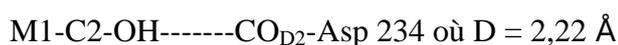
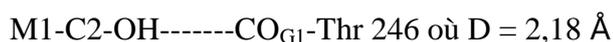
**Figure 22 : Structure chimique de l'inhibiteur 14 (M1).**

La simulation de cette molécule par le programme de docking **surflex** a donné un score de 4,67. Ce dernier est utilisé comme score de référence avec les autres ligands substitués. Dans la figure 23 nous avons montré que le ligand **M1** pénètre bien dans le site actif de la protéine en formant cinq liaisons hydrogène représentées en couleur verte. Le tableau suivant résume ces liaisons hydrogène.

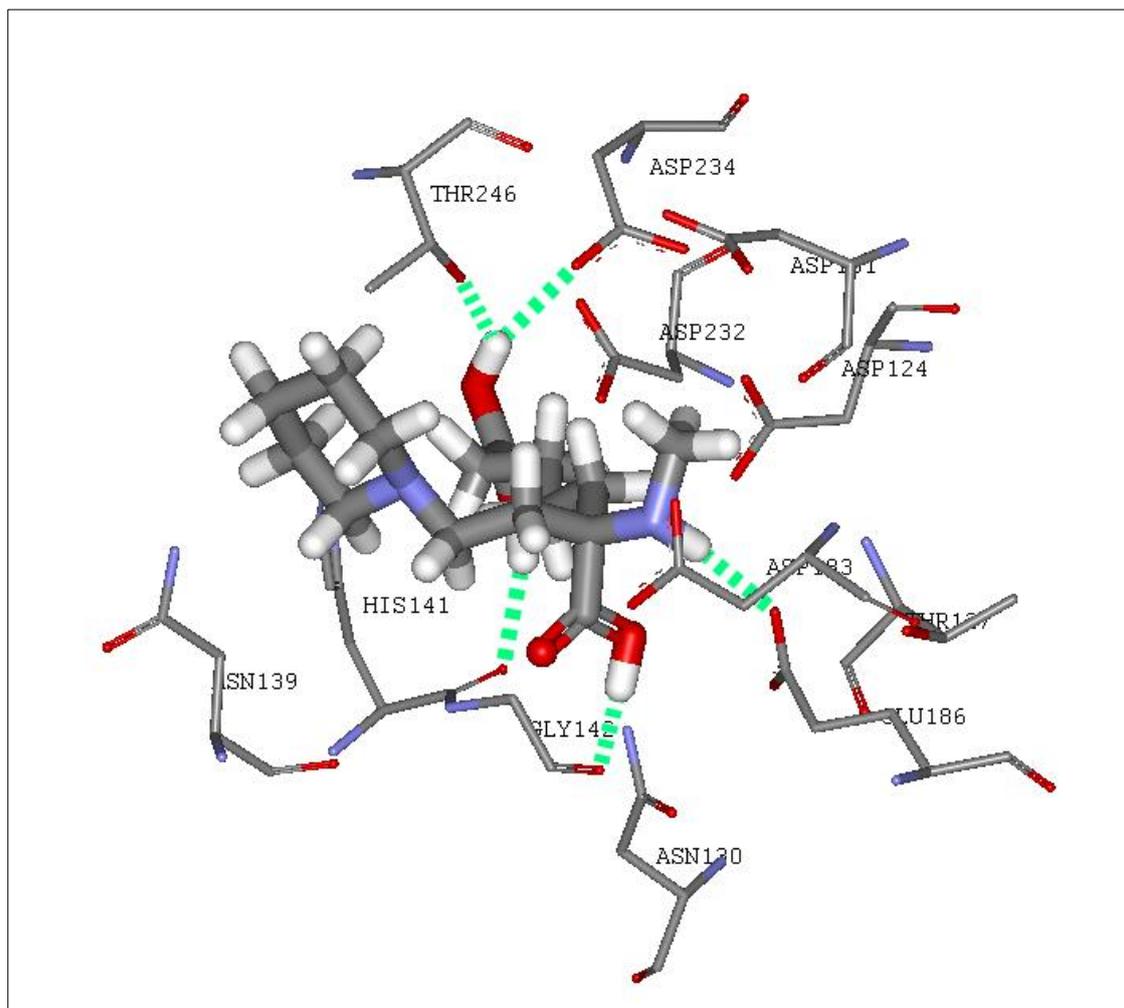
**Tableau 6: liaisons hydrogène identifiées.**

LH formées	Résidus et groupements du site actif	Groupement de ligand	Distance (Å)
1	O <sub>G1</sub> : Thr 246	OH	2,18
1	O <sub>D2</sub> : Asp 234	OH	2,22
1	O : His 141	OH	2,19
1	O : Gly 142	OH	1,87
1	O <sub>E1</sub> : Glu 186	NH	2,01

Comme le montre le tableau 06 et la figure 23, les liaisons hydrogène se forment entre les groupements hydroxyles (OH) de ligand portés par les carbones C2, C16 et le groupement amine (NH) porté par le C19 avec les carbonyles (CO) des résidus des acides aminés :



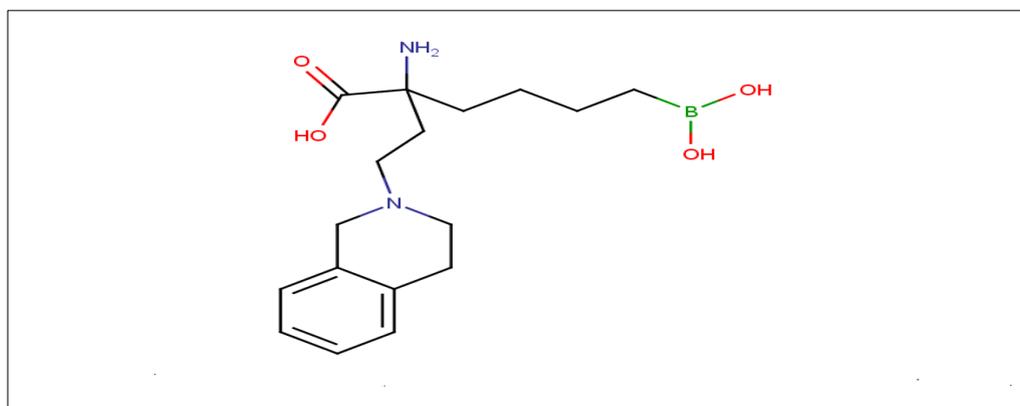
De nombreuses interactions de type hydrophobe assurent également la stabilité du complexe ARG 1-**M<sub>1</sub>**. Ces interactions sont formées entre l'inhibiteur et les résidus : Thr 246, Asp 234, His 141, Gly 142, Glu 186, Asp 124, Asp 181, Asp 232, Asp 183, Asn 130, Asn 139, Thr 127.



**Figure 23 : Mode d'interaction de la molécule M-1 dans le site actif de l'ARG-1.**

## 2.2. Interactions M2-ARG 1 :

Le deuxième ligand étudié est l'inhibiteur portant le code 18 (**M2**) dont la structure est présentée dans la figure 24.



**Figure 24: Structure chimique de l'inhibiteur 18 (M2).**

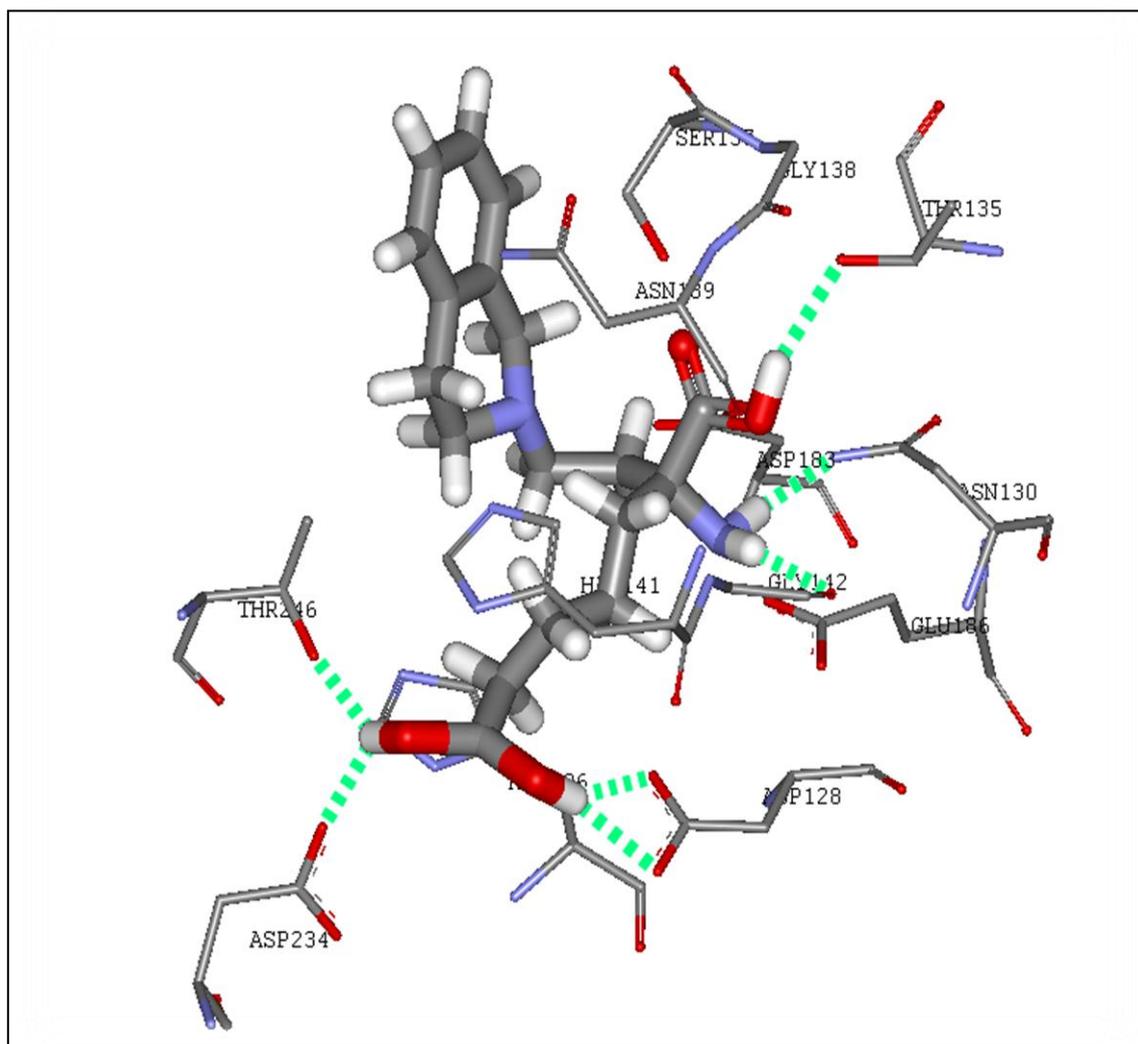
En réalisant une simulation de docking par **Surflex**, ce dernier nous a permis de disposer un complexe formé par les deux entités : l'inhibiteur 18 et ARG-1. Le placement de l'inhibiteur dans le site actif de l'enzyme est parfaitement visualisé par le logiciel MS Viewer. Ce logiciel nous a permis d'identifier les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobiques qui stabilisent ce complexe (voir figure n°25).

Les différentes liaisons d'hydrogène au nombre de sept sont représentées dans le tableau 07.

**Tableau 07 : Liaisons hydrogène formées entre les résidus du site actif et les groupements chimiques de l'inhibiteur.**

LH	Résidus et groupements du site actif	Groupements de l'inhibiteur	Distance (Å)
1	O <sub>G1</sub> : Thr 135	OH	2,31
1	N <sub>D2</sub> : Asn 130	NH	1,86
1	O <sub>D2</sub> : Asp 234	OH	2,25
1	O <sub>G1</sub> : Thr 246	OH	2,08
2	O <sub>D1</sub> : Asp 128	OH	2,10
	O <sub>D2</sub> : Asp 128	OH	2,27
1	O : Gly 142	NH	2,03

Il est à noter que le complexe ARG 1- **M<sub>2</sub>** est stabilisé par différentes interactions hydrophobiques avec les résidus Thr 135, Asn 130, Asp 234, Thr 246, Asp 128, Gly 142, Ser 137, Gly 138, Asn 139, His 141, Glu 186, Asp 183, His 126.



**Figure 25 : Mode d'interaction de la molécule M-2 dans le site actif de l'ARG-1.**

### **3. Proposition des nouveaux inhibiteurs de l'ARG-1 :**

Dans le but de proposer de nouveaux inhibiteurs plus puissants de l'ARG-1, on applique la méthode de substitution par rajout de groupements chimiques sur différentes positions de la molécule de base.

La substitution a été appliquée aux deux inhibiteurs 14 et 18 (**M1** et **M2**) utilisés dans cette étude.

Les substitutions ont été réalisées sur différentes positions des cycles portés par les composés 14 et 18 (voir tableau 08).

**Tableau 8 : Les deux inhibiteurs avec les positionnements des substitutions (mentionnés avec des lettres minuscules).**

Molécule	Structure	Score
01		4,67
02		6,08

La substitution est réalisée avec différents groupements dont les plus importants ayant donné des scores plus élevés que le score de référence, sont : CH<sub>2</sub>OH (alcool primaire), OH (hydroxyle), COOH (carboxyle), NH<sub>2</sub> (amine), CON (amide), CO (carbonyle), NHO<sub>2</sub> (Nitro), NHO (Nitroso), PH<sub>3</sub>O (Phosphine oxyde), SH<sub>2</sub>O (sulfoxide).

**Tableau 9 : Résultats des mono-substitutions et scores obtenus après docking par Surflex.**

	P	Score des molécules substituées									
		CH <sub>2</sub> OH	OH	COOH	NH <sub>2</sub>	CON	CO	NHO <sub>2</sub>	NHO	PH <sub>3</sub> O	SH <sub>2</sub> O
M (1)	a		4,85			5,19		4,84		5,06	4,84
	b			4,96	6,35					4,87	
	c		5,06	6,04	4,95					6,09	
	d		5,00		5,51	4,98			4,67	4,93	
	e		5,46	5,89		6,90					5,41
M (2)	a		6,17	6,91			6,29				
	b	8,32		6,29	6,22						
	c	7,15	6,15	6,09			6,09				
	d					6,87					
	e					6,93					
	f					6,11					
	g			7,08	6,53	7,50					

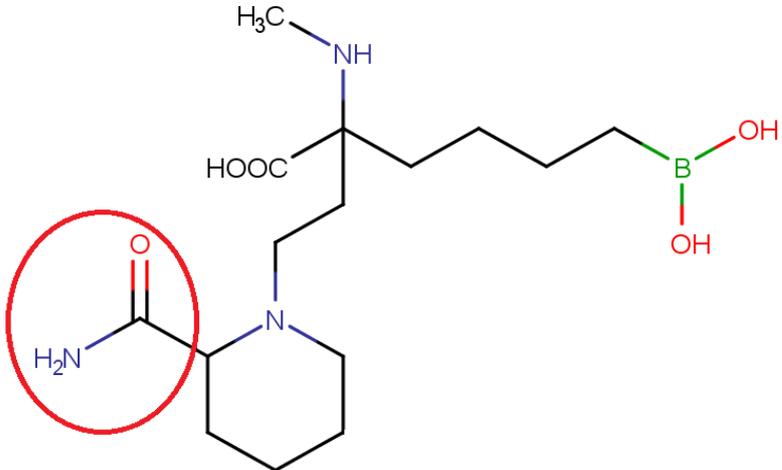
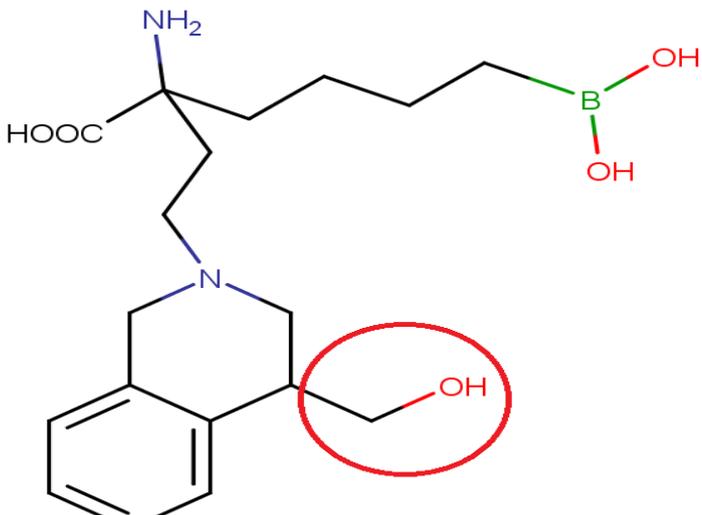
M (1) : molécule (1) ; M (2) : molécule (2) ; P : positions des substituants.

Les résultats observés dans le Tableau 09 montre que :

- La substitution par le groupement « CON » réalisée sur la molécule (1) dans la position « e » donne le score le plus élevé par rapport au score de référence (de 4,67 à 6,9).
- La substitution par le groupement « CH<sub>2</sub>OH » réalisée sur la molécule (2) dans la position « b » a nettement amélioré le score de référence qui est passé de 6,08 à 8,32.

La structure des deux composés A et B dont les scores ont été améliorés sont représentés dans le tableau 10.

Tableau 10: Structure des deux molécules améliorées par substitutions.

Molécule	Structure	Score
A		6,9
B		8,32

✚ La bi-substitution n'a donné qu'un résultat fiable avec la molécule (1).

Tableau 11 : bi-substitution de la molécule-1.

substituants	NH2	CON
Positions	b	E
Structure		
Score	6,08	

L'étude des deux molécules monosubstituées (A et B), a été complétée par une analyse visuelle des interactions qu'elles établissent avec l'ARG-1.

### 3.1. Interactions A-ARG 1 :

La visualisation des interactions établies par la molécule substituée (A) et l'arginase-1, révèle la présence de nouvelles liaisons hydrogène qu'on retrouve dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Liaisons hydrogène entre le site actif de l'ARG-1 et la molécule (A).

Liaisons hydrogène	Les groupements et les résidus du site actif	Les groupements de la molécule (A)	Distance (Å)
1	O <sub>D2</sub> : Asp 183	NH	2,12
1	N <sub>E2</sub> : His 126	NH	2,06
1	O <sub>D2</sub> : Asp 234	OH	2,19
1	O <sub>G1</sub> : Thr 246	OH	2,02
1	O <sub>D2</sub> : Asp 232	OH	2,03
1	O : Gly 142	OH	1,92

Comme indiqué dans le tableau ci-dessus et la figure 26, les liaisons hydrogène sont formées entre les hydroxyles (OH) et les amines (NH) du ligand portés par les carbones C2, C19, C16, C45 et les groupement CO et CN des acides aminés :

A-C2-OH-----CO<sub>G1</sub>-Thr 246 où D = 2,02 Å

A-C2-OH-----CO<sub>D2</sub>-Asp 234 où D = 2,19 Å

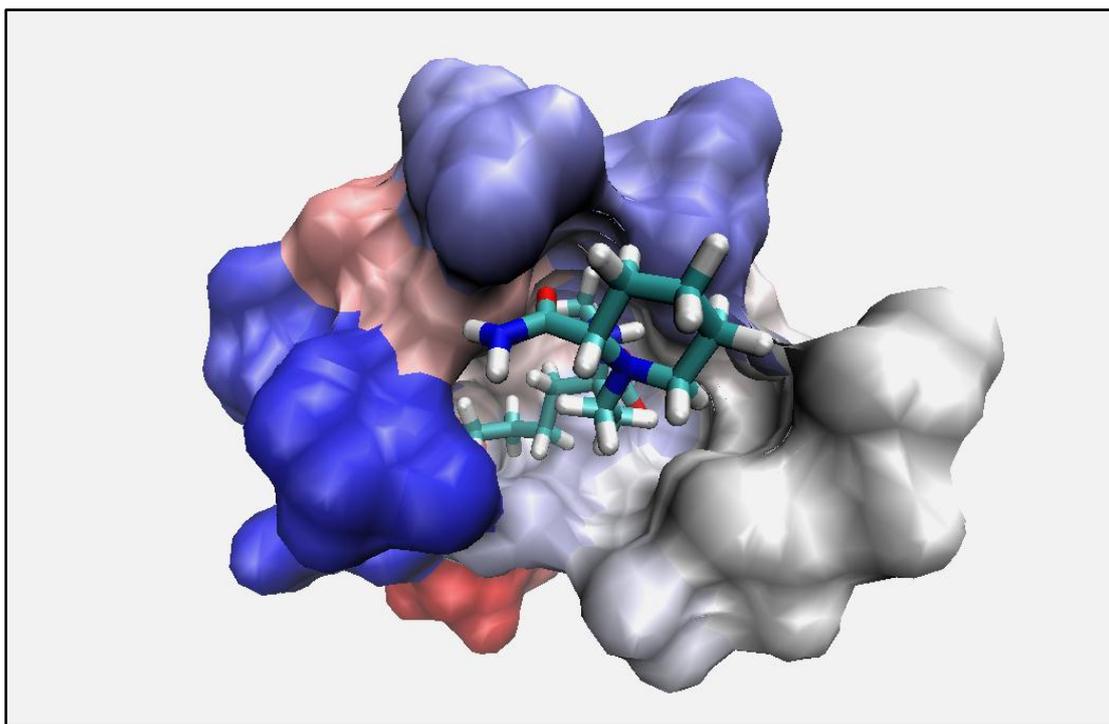
A-C2-OH-----CO<sub>D2</sub>-Asp 232 où D = 2,03 Å

A-C16-OH-----CO<sub>D2</sub>-Asp 183 où D = 2,12 Å

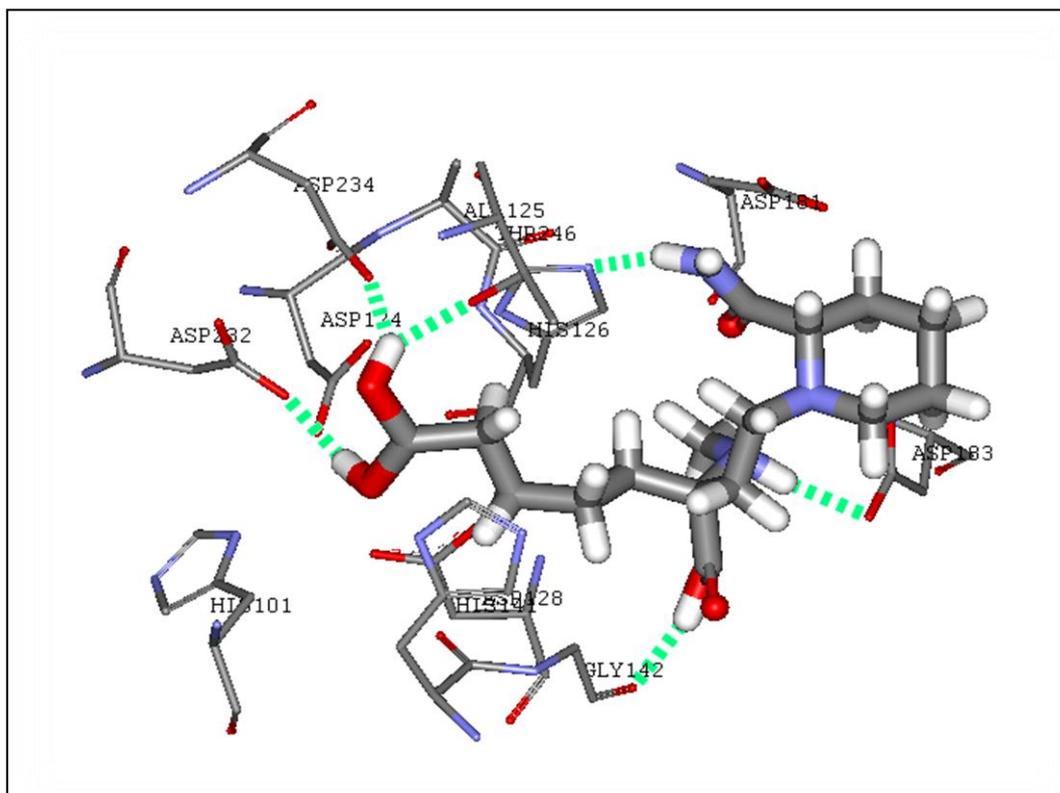
A-C19-NH-----CO-Gly 142 où D = 1,92 Å

A-C45-NH-----CN<sub>E2</sub>-His 126 où D = 2,06 Å

En plus des liaisons hydrogène, la molécule est stabilisée par plusieurs interactions hydrophobiques dont les résidus impliquées sont : Asp 183, His 126, Asp 234, Thr 246, Asp 232, Gly 142, Asp 181, Ala 125, Asp 124, His 101, His 141, Asp 128.



**Figure 26 : Emplacement de la molécule « A » dans le site actif de l'ARG-1.**



**Figure 27 : Mode d'interaction de la molécule « A » dans le site actif de l'ARG-1.**

### 3.2. Interactions B-ARG 1 :

La visualisation de la molécule (B) dans le site actif de l'arginase 1 montre l'existence de huit liaisons hydrogène entre les groupements hydroxyles (OH) et amines (NH) du ligand et les groupements CO et CN des résidus des acides aminés (voir tableau 13 et figure 29).

B-C2-OH-----CO<sub>G1</sub>-Thr 246 où D = 2,14 Å

B-C2-OH-----CO<sub>D2</sub>-Asp 234 où D = 2,09 Å

B-C2-OH-----CO<sub>D1</sub>-Asp 128 où D = 2,09 Å

B-C2-OH-----CO<sub>D2</sub>-Asp 128 où D = 2,24 Å

B-C16-NH-----CN<sub>D2</sub>-Asn 130 où D = 1,96 Å

B-C16-NH-----CO-Gly 142 où D = 2,05 Å

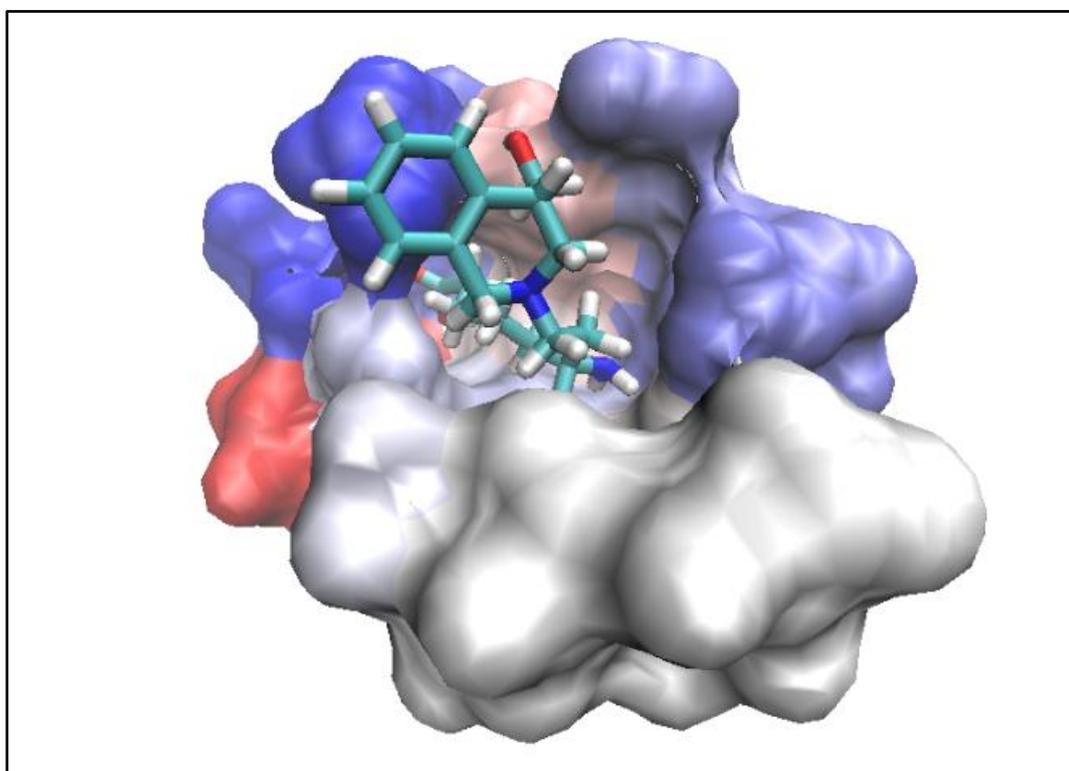
B-C19-OH -----CO-Asn 139 où D = 2,02 Å

B-C33-OH-----CN<sub>E2</sub>-His 126 où D = 2,06 Å

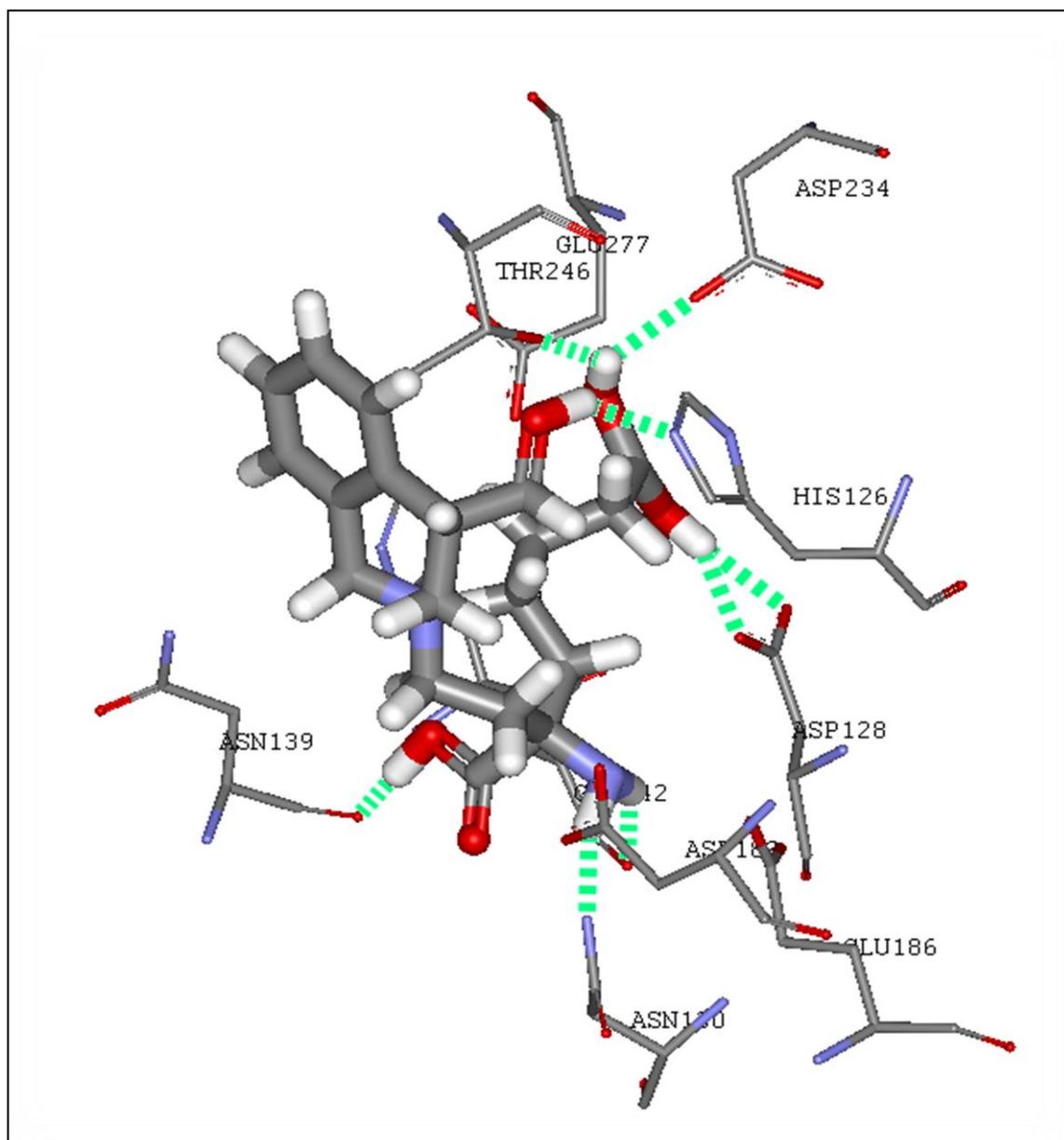
**Tableau 13 : Liaisons hydrogène formées entre l'ARG 1 et la molécule (B).**

Nombre des LH formées	Résidu et groupement du site actif	Groupement de la molécule (B)	Distance (Å)
1	N <sub>D2</sub> : Asn 130	NH	1,96
1	O : Gly 142	NH	2,05
1	O : Asn 139	OH	2,02
1	O <sub>G1</sub> : Thr 246	OH	2,14
1	O <sub>D2</sub> : Asp 234	OH	2,09
1	N <sub>E2</sub> : His 126	OH	2,06
2	O <sub>D1</sub> : Asp 128	OH	2,09
	O <sub>D2</sub> : Asp 128	OH	2,24

La molécule (B) est stabilisée au sein du site actif de l'ARG 1 par de nombreuses interactions hydrophobiques avec les résidus : Asn 130, Gly 142, Asn 139, Thr 246, Asp 234, His 126, Asp 128, Asp 128, Glu 277, His 141, Glu 186.



**Figure 28 : Emplacement de la molécule « B » dans le site actif de l'ARG-1.**



**Figure 29 : Mode d'interaction de la molécule « B » dans le site actif de l'ARG-1.**

#### **4. La règle de cinq « règle de Lipinski »:**

Pour compléter notre étude concernant le développement de nouveaux inhibiteurs de l'ARG 1, il était nécessaire de vérifier d'autres critères de base associés à ses propriétés pharmacocinétiques d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (ADME) en appliquant la « règle de Lipinski ». Cette dernière permet d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure

chimique 2D. Selon cette règle, un composé possède toutes les chances d'être absorbé par voie orale s'il respecte au moins 3 des 5 critères suivants :

- Poids moléculaire (PM) inférieur à 500 g / mol.
- Nombre de donneurs de ponts H (DH) inférieur à 5.
- Nombre d'accepteurs de ponts H (AH) inférieur à 10.
- Nombre de liaisons retables ou flexibles (LF)  $\leq$  15.
- Lipophilie (LogP) inférieure à 5 (avec un optimum entre 0 et 3) [36].

Le calcul de ces valeurs a été réalisé par le serveur Molispiration.

**Tableau 14 : Calcul des propriétés physico-chimiques des quatre molécules M1, M2, A et B.**

Molécule	PM	DH	AH	LF	Log P
M 1	314,2	4	6	11	2,19
M 2	348,21	5	6	10	2,3
A	343,19	7	8	11	1,1
B	378,24	6	7	11	1,46

D'après ce tableau nous constatons que les quatre molécules (M1, M2, A, B), répondent positivement à la règle de Lipinski. Ainsi, ces molécules peuvent être considérées comme candidats potentiels dans l'inhibition de l'ARG-1 et ne poseront aucun problème de biodisponibilité par voie orale.

# Conclusion

## Conclusion

---

L'objectif de notre travail est de proposer, par une étude théorique, de nouveaux inhibiteurs de l'arginase-1, considérés comme cible thérapeutique pour le traitement de l'asthme.

A cet effet, nous avons exploité le programme de docking moléculaire **Surflex**. Il était donc nécessaire, en premier lieu, de procéder aux tests de validité du programme informatique via la confrontation de ses résultats théoriques aux données expérimentales. Le premier test consiste à calculer le RMSD (RootMean Square Déviation) pour mieux évaluer la déviation de la géométrie du ligand simulé par **Surflex** avec sa de référence qu'on retrouve dans la *PDB*. Sur les 100 complexes pris de manière arbitraire depuis la *PDB*, seulement 17% ont présenté un RMSD imparfait (supérieur à 2 Å), les 83% restant étaient des valeurs parfaitement dans les normes (inférieur à 2 Å). Afin de s'assurer la fiabilité de ce programme, nous avons suivi le test RMSD par une analyse visuelle des trois complexes utilisés et qui possédaient des valeurs du RMSD à des intervalles différentes. Le dernier test consiste à déterminer le coefficient de corrélation linéaire entre  $\log CI_{50}$  et les scores d'affinité de 30 inhibiteurs issus de la bibliographie. Les résultats de la régression linéaire donnent un coefficient de corrélation égale à 0.67. A la lumière de ces résultats nous estimons que le programme **Surflex** est susceptible d'être exploité dans la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'arginase-1.

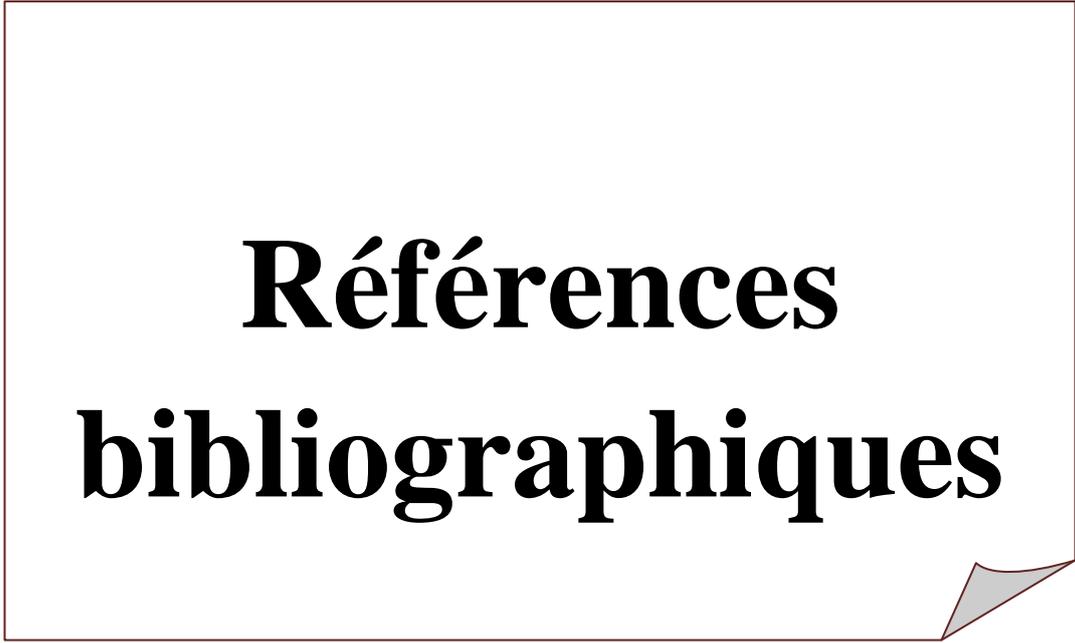
En second lieu, nous avons procédé à l'étude des modes d'interactions des deux meilleurs composés parmi les trente inhibiteurs étudiés et présentant les  $CI_{50}$  0,06  $\mu$ M et 0,51  $\mu$ M. Ces deux molécules nommées composé 14 et composé 18, ont donné des scores d'affinités de 4.67 et 6.08, respectivement. L'étude des interactions des molécules à l'aide du programme **Viewer lite 4.2**, est faite aussi bien pour nos deux molécules ainsi que pour les deux molécules A et B qui ont été obtenues par mono-substitution des molécules 14 et 18. Les scores de docking sont passés de 4.67 à 6.9 pour la molécule « A » qui obtenue par mono-substitution de la molécule 14 en position « e » avec un groupement amide (CON), et de 6.08 à 8.32 pour la molécule « B » résultant de la substitution de la molécule 18 en position « b » par un alcool primaire ( $CH_2OH$ ).

## Conclusion

---

La dernière étape de notre travail a consisté à appliquer la règle de cinq de **Lipinski** afin de nous renseigner sur les propriétés pharmacocinétiques ADME de ces inhibiteurs. Les résultats obtenus sont positifs car les quatre composés M1, M2, A et B ont respecté au moins 3 des 5 critères de la règle de **Lipinski**. Leur utilisation comme médicaments potentiels ne posera donc aucun problème de biodisponibilité par voie orale. En perspective, les résultats théoriques obtenus *in silico* doivent être complétés et confirmés par des études expérimentales *in vitro* et/ou *in vivo*.

# **Références bibliographiques**



## Références bibliographiques

---

- [1] Krid A. Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant. Mémoire Présenté pour l'Obtention du Diplôme de magister en chimie théorique : Université Mentouri Constantine1. Faculté des sciences exactes département de chimie. 2008 :79.
- [2] Chebira M. Boudjaadar W. Contribution à la mise en évidence de nouveaux anti-inflammatoires par docking moléculaire. Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de master en Biochimie Moléculaire et Santé : Université Mentouri Constantine1.2014 :104.
- [3] Tossa M.P. Marqueurs précoces non invasifs de l'inflammation des voies aériennes dans les métiers à risque d'asthme professionnel: Etude dans une population d'apprentis boulangers, pâtisseries et coiffeurs. Thèse Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Henri Poincaré Nancy 1 Mention Santé Publique et Epidémiologie Ecole doctorale BioSE. 2009.
- [4] Nobuyasu K. Isao N. Toshiaki M. Treatment of ventilation failure after tracheal intubation due to asthma attack with high concentration sevoflurane. *Journal of clinical anesthesia*.2017.
- [5] Elmarzgioui N. L'école de l'asthme au service de Pneumologie : intérêts et attentes. Mémoire de fin de spécialité: Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès. 2014 :98.
- [6] Dinda.B. Dinda.S. DasSharma.S. Banik.R. Chakraborty.A. Dinda.M. Therapeutic potentials of baicalin and its aglycone, baicalein against inflammatory disorders. *EuropeanJournal of Medicinal Chemistry* .2017.
- [7] Nafti S. Taright S. El Ftouh M. Yassine N. Benkheder A. Bouacha H. Fakhfakh H. Ali-Khoudja M. Texier N. El Hasnaoui A. Prevalence of asthma in North Africa: the Asthma Insights and Reality in the Maghreb (AIRMAG) study. *Respiratory Medicine*.2009; **103** : S2-S11.
- [8] Aliane H.F.Z. Asthme bronchique. Mémoire pour l'obtention du doctorat en médecine : Université Abou-Bekr Belkaid Tlemcen. Faculté de médecine. 2013-2014 : 119.
- [9] Belfarhi L. L'effet de la pollution atmosphérique sur les maladies respiratoires à Annaba (Asthme). Mémoire Présenté pour l'Obtention du Diplôme de magister : Université Mentouri-Constantine. 2011 : 67.
- [10]Asthme bronchique.[En ligne] <http://www.physiotherapiepour tous.com/maladies-respiratoires/asthme-bronchique/>. Consulté le (15/04/2017).
- [11] Baroudi M. Janssens J P. Asthme. Service de médecine de premier recours. *Hopitaux Universitaire Genève*.2013: 66-70.
- [12] Fergeson J.E. Patel S. Lockey R.F. Acute Asthma, Prognosis and Treatment. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2016.
- [13] Custot J. Boucher J L.Vadon S. Guedes C. Dijols S. Delaforge M. Mansuy D. Hydroxyamino-a-amino acids as a new class of very strong inhibitors of arginases. *JBIC*. 1996 ; **1**: 73–82.

## Références bibliographiques

---

- [14] Chandan V.S. Shah S.S. Torbenson M.S. Wu Tsung T. Arginase-1 Is Frequently Positive in Hepatoid Adenocarcinomas. *Human Pathology*. 2016: 60-68.
- [15] Bergeron M. Louis P B. Nathalie P. Laviolette M. Zimmermann N E. Rothenberg E. Influence of cigarette smoke on the arginine pathway in asthmatic airways: Increased expression of arginase I. *American Academy of Allergy, Asthma & Immunology*. 2007: 391-397.
- [16] Ruth B. Caldwell Haroldo A. Toque S. Narayanan P. Arginase: an old enzyme with new tricks. 2015.
- [17] Protein Data Bank.[En ligne]  
<http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=4hww>. Consulté le (30/03/2017).
- [18] Bordage S. Thanh-Nhat P. Zedet A. Gugglielmetti A S. Nappey M. Demougeot C. Girard-Thernier C. Investigation of Mammal Arginase Inhibitory Properties of Natural Ubiquitous Polyphenols by Using an Optimized Colorimetric Microplate Assay. 2016 : 30-35.
- [19] D'Antonio E L. Christianson D W. Crystal structures of complexes with cobalt-reconstituted human arginase-1. *Biochemistry*. 2011; **50**: 8018-8027.
- [20] Marinova G V. Loyaga-Rendon R Y. Obayashi S. Ishibashi T. Kubota T. Imamura M. Azuma H. Possible involvement of altered arginase activity, arginase type I and type II expressions, and nitric oxide production in occurrence of intimal hyperplasia in premenopausal human uterine arteries. *J Pharmacol Sci*. 2008; **106**(3):385–393.
- [21] Di Costanzo L. Sabio G. Mora A. Rodriguez P C. Ochoa A C. Centeno F. Christianson D W. Crystal structure of human arginase1 at 1.29-Å resolution and exploration of inhibition in the immune response. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; **102**(37):13058–13063.
- [22] Boucherit H. Chikhi A. Bensegueni A. Merzoug A. Hioual KH. Mokrani E H. Research of New Molecules Able to Starve the Tumors by Molecular Docking's Method. *Biochem Pharmacol*. 2013: 2-4.
- [23] Boucherit H. Chikhi A. Bensegueni A. Merzoug A. Hioual KH. Mokrani E H. Theoretical study of the interactions involved in the inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* methionine aminopeptidase by several molecules. *Computational Biology and Bioinformatics*. 2014; **2**(5): 63-73.
- [24] Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide deformylase – substances antibactériennes à l'aide de techniques de docking (amarrage) moléculaire. Thèse Présenté pour l'Obtention du Diplôme de Doctorat d'état en microbiologie : Université Mentouri Constantine. 2007:126.
- [25] Mokrani E H. Krid Y. Bensegueni A. Chikhi A. Teniou S. Boucherit H. Merzoug A. Hioual KH. Highlighting of a new flavonol derivatives as a potent antihypertensive compound using molecular docking. *Journal Academica*. 2013; **3**(2): 59-66.

## Références bibliographiques

---

[26] Teniou S. Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Mémoire Présenté pour l'Obtention du Diplôme de magister en Biochimie : Université Mentouri Constantine. 2012 : 95.

[27] Chikhi K. Ayadi O. Inhibition *in silico* de l'ARN polymérase NS5B pour combattre le virus de l'hépatite C. Mémoire Présenté pour l'Obtention du Diplôme de Master : Université Frères Mentouri de Constantine. 2016: 76.

[28] Protein Data Bank. [En ligne] [www.rcsb.org/pdb/home/home.do](http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do). Consulté le (04/04/2017).

[29] Calculation of Molecular Properties and Prediction of Bioactivity [En ligne] <http://www.molinspiration.com/>. Consulté le (03/05/2017).

[30] Surflex Manual: Docking and Similarity. *BioPharmics LLC*. [www.biopharmics.com](http://www.biopharmics.com). Aout 2010.

[31] Theoretical and computational biophysics group. VMD v 1.9.1. [En ligne] <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/vmd-1.9.1/>. Consulté le (03-04-2017).

[32] Viewerlite4.2. [En ligne] [.http://viewerlite.software.informer.com/4.2/](http://viewerlite.software.informer.com/4.2/). Consulté le (11/05/2017).

[33] Chikhi A. Bensegueni A. Docking Efficiency Comparison of Surflex, a commercial Package and Arguslab, a Licencable Freewar *.Journal of Computer Science and System Biology*.2008; **1**: 081-086.

[34] Chikhi.A. Bensegueni.A. *In silico* study of the selective inhibition of bacterial peptide Deformylases by several drugs *.Journals of proteomics and bioinformatics*. 2010; **3**: 061-065.

# **Annexe**

## Annexe

---

**Annexe 1** : Tableau RMSD de 100 complexes.

Code du complexe	Ligand	RMSD (Å)
1GZ8	CSD	1.265
1JR4	CL4	1.354
1JS3	142	1.015
2AEB	ABH	0.192
2CL5	BIE	1.495
2PHO	TSZ	1.483
2XRG	NAG	1.205
2YI7	BZ8	0.307
2YK9	YK9	0.115
2YKE	YKE	1.217
2ZVJ	KOM	1.794
3A7D	SAM	0.368
3BWY	DNC	1.088
3GMZ	ORN	1.271
3GN0	DMO	0.847
3HVV	542	2.137
3HVI	619	1.748
3HVJ	705	1.875
3HVK	719	2.232
3KV2	NNH	1.493
3MFV	Z70	1.287
3NW9	637	0.688
3NWB	659	1.047
3NWE	662	0.882
3OCZ	SRA	0.78
3OE4	610	1.961
3OE5	611	2.137
3OZR	OZR	1.782
3OZS	OZS	1.837
3OZT	OZZ	1.930
3PO7	ZON	1.680
3RDE	OYP	1.86
3RUX	BS5	0.918
3S68	TCW	2.347
3SJT	5BA	0.782
3SKK	4U7	1.863
3THE	BCN	0.856
3THH	ABH	0.888
3W8D	DXX	0.992
3W63	HTB	1.103
3WAF	MLA	1.115
3WAW	DWW	1.935

## Annexe

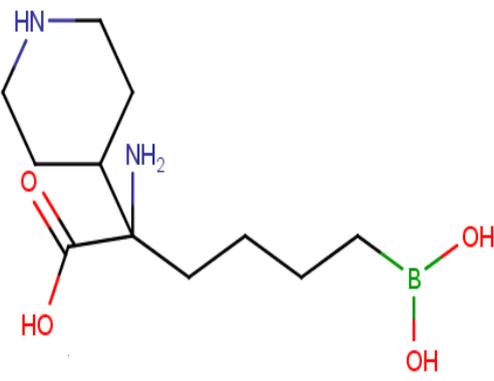
---

3X3C	TNH	0.933
4B7Z	Q4Q	0.541
4B80	A36	1.343
4B81	ZN4	1.448
4EIN	NOH	1.069
4EZ8	NOH	1.035
4FCI	GPA	1.079
4FCK	GPA	0.244
4GCA	2X9	1.777
4GD7	TIY	1.061
4GSV	ABH	0.497
4GSZ	ABH	1.261
4GWD	ABH	1.182
4HWW	X7A	1.396
4HXQ	X8A	1.394
4IE1	1EC	1.372
4ISK	1JY	1.740
4LXJ	LAN	2.731
4MOE	1YL	1.613
4MOF	1YK	1.706
4NM3	DTT	0.657
4P58	2F6	1.226
4PYL	SFG	1.158
4PYQ	2X1	2.029
4QFS	32H	0.158
4S3E	KCX	1.138
4TVK	TJH	0.621
4U7H	FAD	0.720
4XTU	44J	1.143
4XTV	44K	1.415
4XTW	44M	2.397
4XTX	590	2.099
4XTY	44L	1.662
4XU0	44N	2.291
4XU1	44O	1.802
4XU2	44Q	1.592
4XUC	43G	2.384
4XUD	43H	2.266
4ZG6	4NY	1.202
4ZG7	400	2.219
4ZGA	403	0.415
5A6H	DMS	0.038
5AN7	LLK	0.281
5BAU	MLA	1.688
5BWC	HBP	1.057

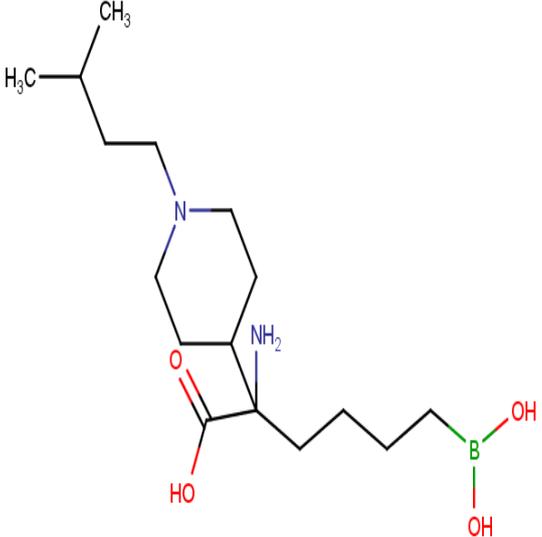
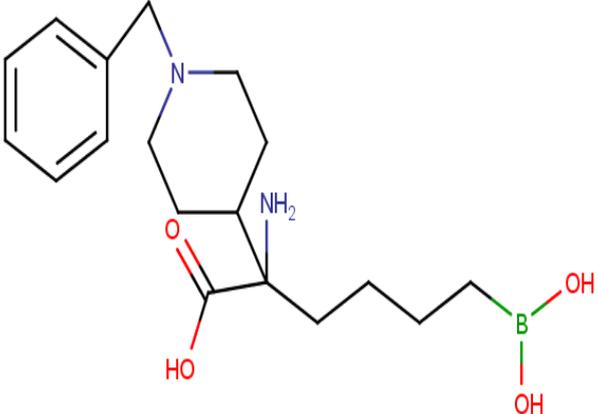
## Annexe

5GSO	5GI	2.729
5GSW	5GI	1.76
5SZ7	72H	0.209
5T26	74P	1.356
5TZ3	70M	1.865
5TZA	70J	1.808
5TZC	70J	0.294
5TZH	70P	2.374
5TZW	7P4	3.29
5TZX	70Y	2.493
5TZZ	70J	2.059
5U00	70V	2.377
5WQA	J20	1.264

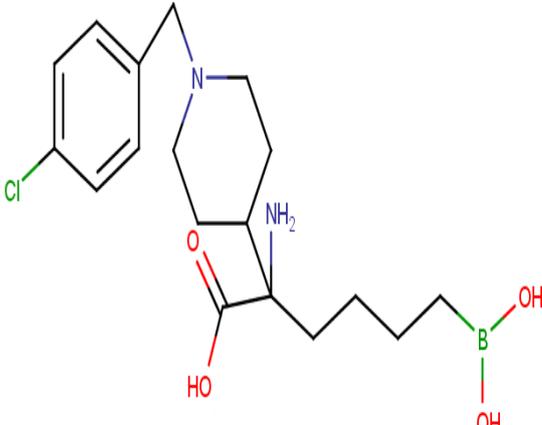
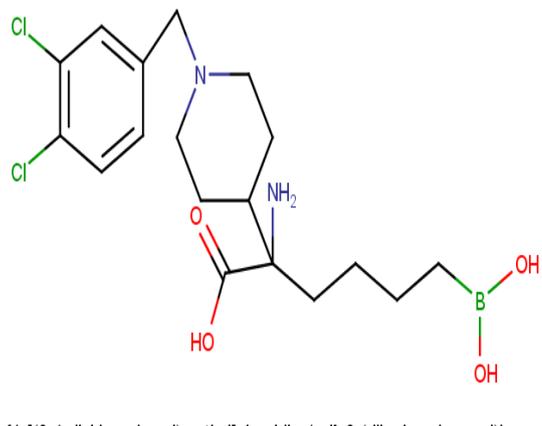
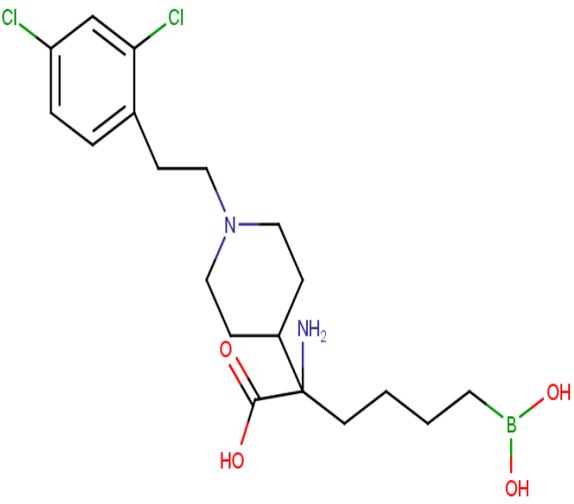
**Annexe 2** : Structures des inhibiteurs de l'ARG 1 utilisées dans l'étude de la régression linéaire.

N° de composé	Nom	Structure
1	2a	 <p>2-amino-6-(dihydroxyboranyl)-2-(piperidin-4-yl)hexanoic acid</p>

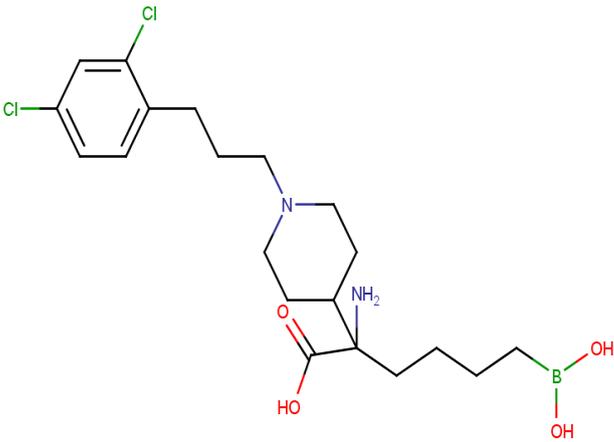
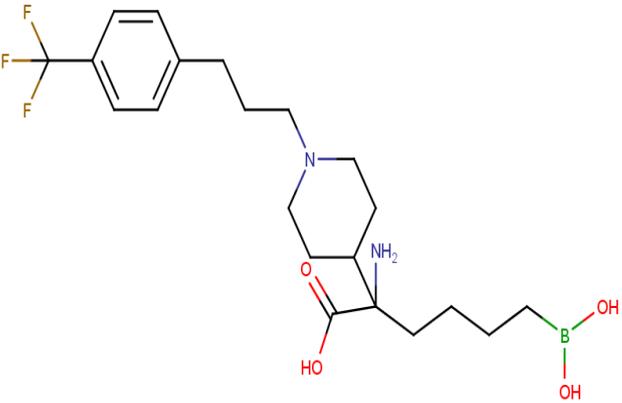
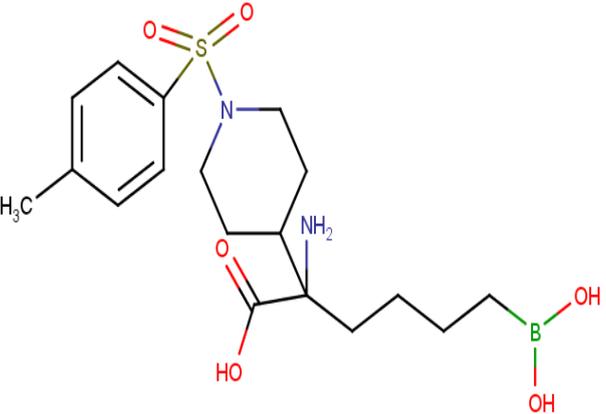
## Annexe

2	2b	 <p>2-amino-6-(dihydroxyboranyl)-2-[1-(3-methylbutyl)piperidin-4-yl]hexanoic acid</p>
3	2c	 <p>2-amino-2-(1-benzylpiperidin-4-yl)-6-(dihydroxyboranyl)hexanoic acid</p>

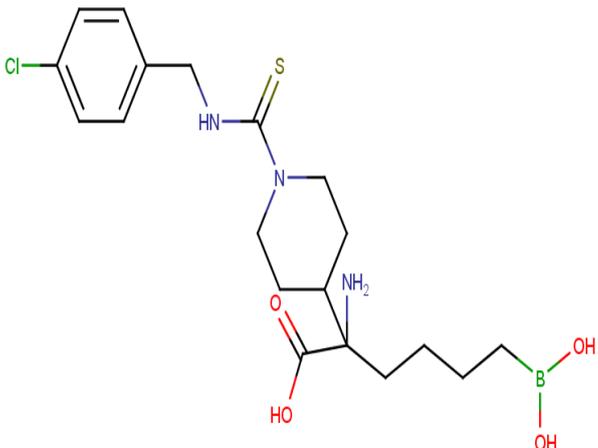
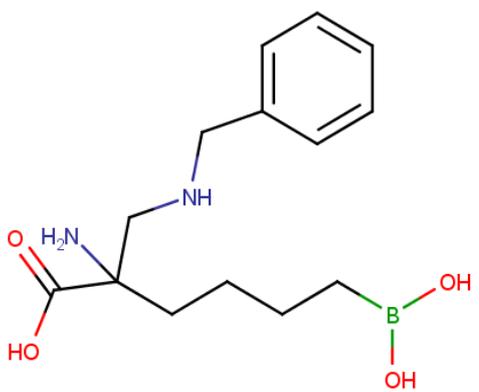
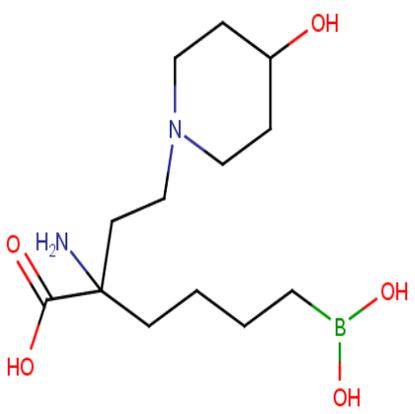
## Annexe

4	2d	 <p>2-amino-2-[(4-chlorophenyl)methyl]piperidin-4-yl)-6-(dihydroxyboranyl)hexanoic acid</p>
5	2e	 <p>2-amino-2-[(3,4-dichlorophenyl)methyl]piperidin-4-yl)-6-(dihydroxyboranyl)hexanoic acid</p>
6	2f	 <p>2-amino-2-[2-(2,4-dichlorophenyl)ethyl]piperidin-4-yl)-6-(dihydroxyboranyl)hexanoic acid</p>

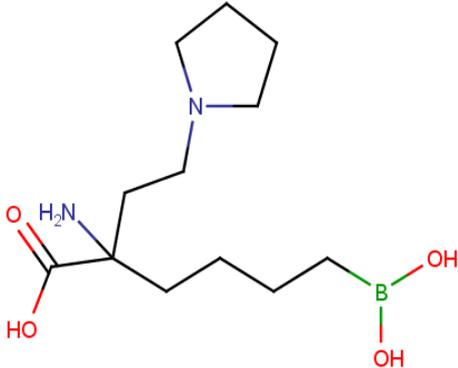
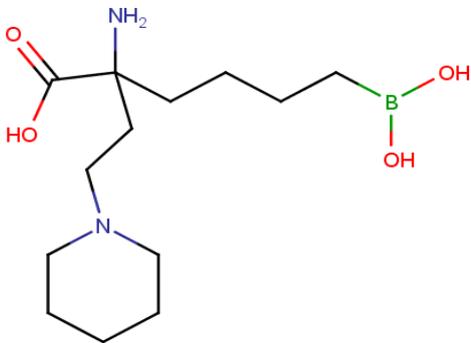
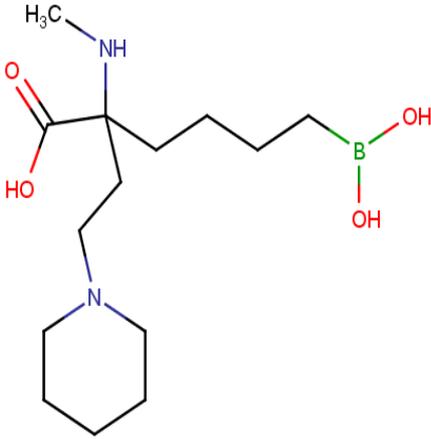
## Annexe

7	2g	 <p>2-amino-2-[1-[3-(2,4-dichlorophenyl)propyl]piperidin-4-yl]-6-(dihydroxyboranyl)hexanoic acid</p>
8	2h	 <p>2-amino-6-(dihydroxyboranyl)-2-[1-[3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]propyl]piperidin-4-yl]hexanoic acid</p>
9	2i	 <p>2-amino-6-(dihydroxyboranyl)-2-[1-[4-(4-methylbenzenesulfonyl)piperidin-4-yl]hexanoic acid</p>

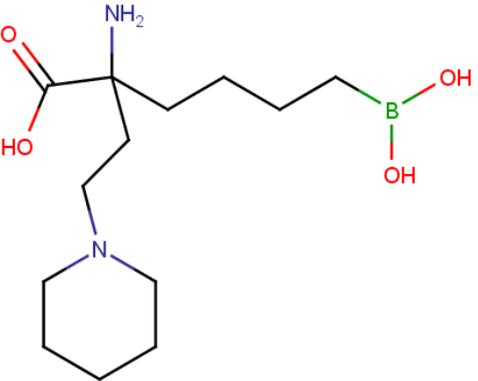
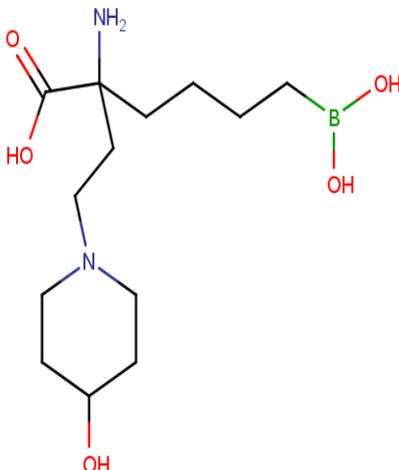
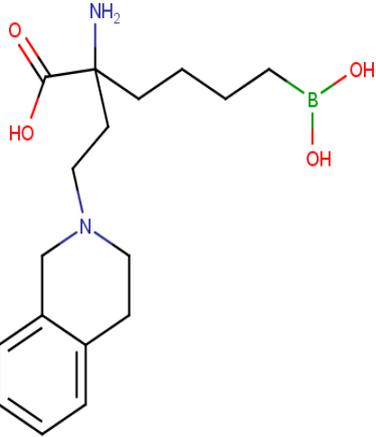
## Annexe

10	2k	 <p>2-amino-2-(1-((4-chlorophenyl)methyl)carbamothioyl)piperidin-4-yl)-6-(dihydroxyboranyl)hexanoic acid</p>
11	11	 <p>2-amino-2-[(benzylamino)methyl]-6-(dihydroxyboranyl)hexanoic acid</p>
12	1o	 <p>2-amino-6-(dihydroxyboranyl)-2-[2-(4-hydroxypiperidin-1-yl)ethyl]hexanoic acid</p>

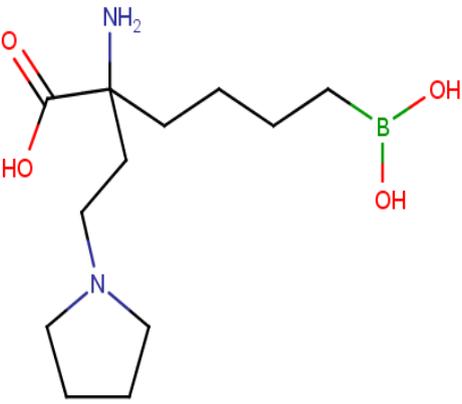
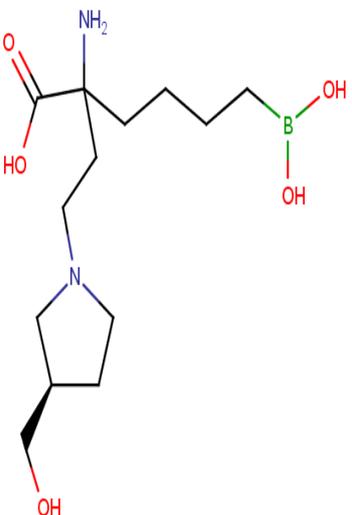
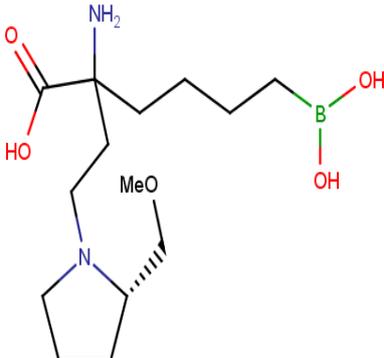
## Annexe

13	1p	 <p>2-amino-6-(dihydroxyboranyl)-2-[2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl]hexanoic acid</p>
14	9	 <p>2-amino-6-(dihydroxyboranyl)-2-[2-(piperidin-1-yl)ethyl]hexanoic acid</p>
15	14	 <p>6-(dihydroxyboranyl)-2-(methylamino)-2-[2-(piperidin-1-yl)ethyl]hexanoic acid</p>

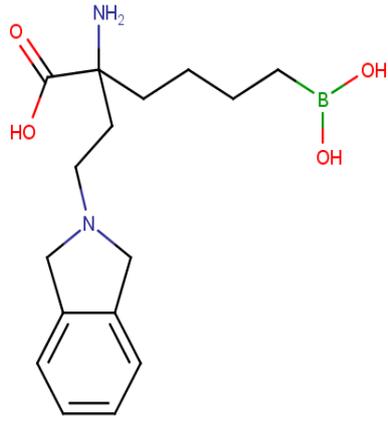
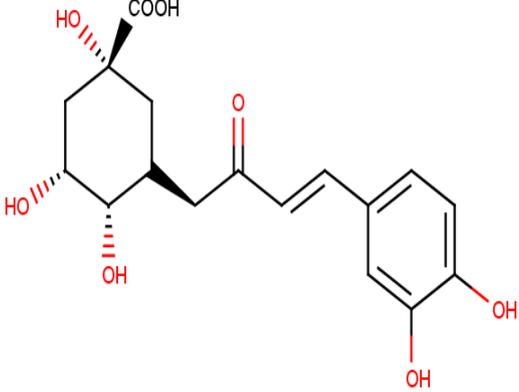
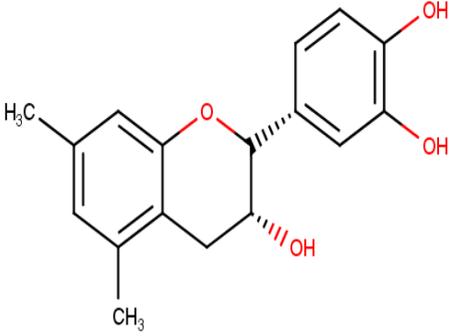
## Annexe

16	15	 <p>2-amino-6-(dihydroxyboranyl)-2-[2-(piperidin-1-yl)ethyl]hexanoic acid</p>
17	17	 <p>2-amino-6-(dihydroxyboranyl)-2-[2-(4-hydroxypiperidin-1-yl)ethyl]hexanoic acid</p>
18	18	 <p>2-amino-6-(dihydroxyboranyl)-2-[2-(1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-2-yl)ethyl]hexanoic acid</p>

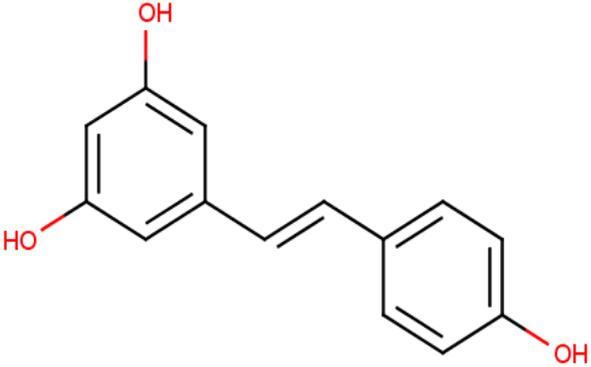
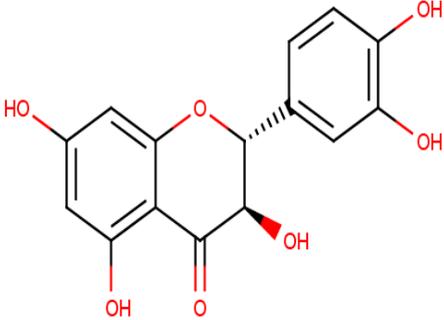
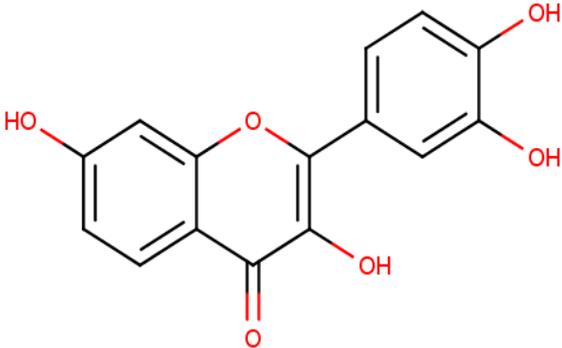
## Annexe

19	19	 <p>2-amino-6-(dihydroxyboranyl)-2-[2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl]hexanoic acid</p>
20	20	 <p>2-amino-6-(dihydroxyboranyl)-2-[(3R)-3-(hydroxymethyl)pyrrolidin-1-yl]ethyl]hexanoic acid</p>
21	21	 <p>2-amino-6-(dihydroxyboranyl)-2-[(2R)-2-ethylpyrrolidin-1-yl]ethyl]hexanoic acid</p>

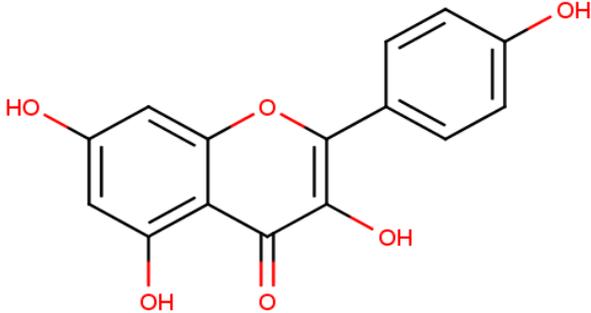
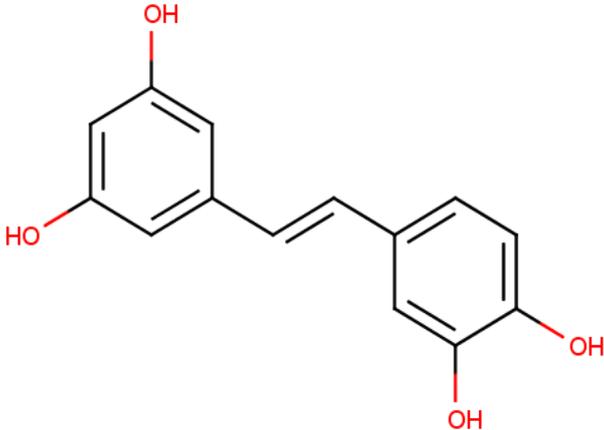
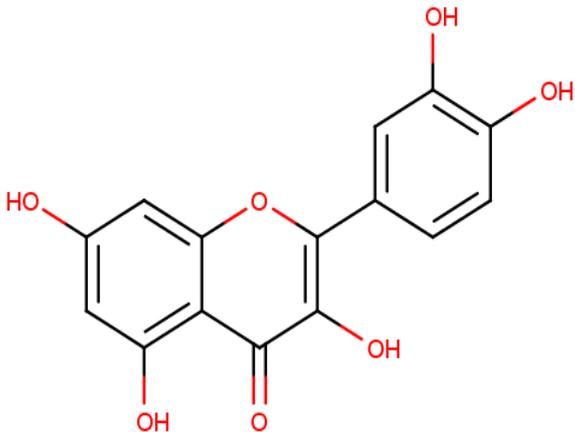
## Annexe

22	23	 <p>2-amino-2-[2-(2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)ethyl]-6-(dihydroxyboranyl)hexanoic acid</p>
23	Acide chlorogénique	 <p>(3E)-4-(3,4-dihydroxyphenyl)-1-[(2S,3R)-2,3,5,5-tetrahydroxycyclohexyl]but-3-en-2-one</p>
24	Epicatéchine	 <p>4-[(3R)-3-hydroxy-5,7-dimethyl-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-2-yl]benzene-1,2-diol</p>

## Annexe

25	Resvératrol	 <p>5-[(E)-2-(4-hydroxyphenyl)ethenyl]benzene-1,3-diol</p>
26	Taxifoline	 <p>(2R,3R)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-4-one</p>
27	Fistine	 <p>2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,7-dihydroxy-4H-chromen-4-one</p>

## Annexe

28	Kaempferol	 <p>3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one</p>
29	Piceatannol	 <p>4-[(E)-2-(3,5-dihydroxyphenyl)ethenyl]benzene-1,2-diol</p>
30	Quercitine	 <p>2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-chromen-4-one</p>

# Résumés

## Résumé

---

### Résumé :

Le docking moléculaire *in silico* représente l'une des techniques les plus performantes dans l'étude des interactions ligand-récepteur.

Dans ce contexte, Surfex est utilisé afin d'évaluer l'activité biologique (inhibition) de l'arginase-1 (ARG-1), cible thérapeutique de la maladie d'asthme, par des molécules issues de la littérature. L'évaluation de l'affinité de ces molécules, a permis de dégager l'effet inhibiteur des deux molécules obtenu par mono- substitution de deux molécules mères : le groupement amide (CON) sur la position « e » du composé « 14 » et le groupement alcool primaire (CH<sub>2</sub>OH) sur la position « b » du composé « 18 ». Les valeurs de leurs scores sont améliorées de 4.67 à 6.9 et de 6.08 à la valeur de 8.32, respectivement. Ainsi, nous avons montré que ces molécules interagissent et gardent leurs stabilités au niveau du site actif de l'ARG-1 par des interactions de type hydrophobes et liaisons hydrogène.

La biodisponibilité de ces molécules a été vérifiée tout en calculant leurs propriétés pharmacocinétiques à partir des règles de Lipinski. Ce dernier nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADME de ces composés qui se présentent comme de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus actifs envers l'ARG-1.

**Mots clés** : Docking moléculaire ; Interaction ligand-récepteur ; Surfex ; Arginase-1 ; Asthme ; Interaction hydrophobe ; Liaison hydrogène ; Biodisponibilité.

## **Abstract**

---

### **Abstract:**

Molecular docking « *in silico* » presents one of the performing techniques in the study of ligand-receptor interactions.

In this context, Surflex was used to evaluate the biological activity (inhibition) of arginase-1(ARG-1), a therapeutic target for asthma disease via molecules derived from the literature. Evaluation of the affinity of these molecules revealed the inhibitory effect of the two inhibitors that was obtained by mono-substitution of two parent molecules (the amide group (CON) at the « e » position of the compound « 14 » and the primary alcohol group (CH<sub>2</sub>OH) at position « b » of compound « 18 »). Their score values were boosted from 4.67 to 6.9 and from 6.08 to 8.32, respectively. Thus, the study demonstrated that these molecules interact and maintain their stabilities at the active site of ARG 1 through hydrophobic interactions and hydrogen bonding.

The bioavailability of these molecules was verified while calculating their pharmacokinetic properties from the Lipinski rules. The latter provides us with positive information on the ADME properties of these compounds which emerge as being new inhibitors, theoretically displaying more activity towards ARG 1.

**Key words:** Molecular docking; Ligand-receptor interaction; Surflex; Arginase 1; Asthma; Hydrophobic interaction; Hydrogen bond; Bioavailability.

**الملخص:**

الالتحام الجزيئي (docking) هو واحد من الأساليب الفعالة في دراسة طرق التحام المرتبط مع مستقبله. وفي هذا السياق، تم استخدام البرنامج surflex لتقييم النشاط البيولوجي (التثبيط) للأرجيناز-1 (ARG-1) بهدف إيجاد علاج لمرض الربو، و هذا انطلاقا من الجزيئات المستمدة من المقالات العلمية. إن تقييم انسجام هذه الجزيئات قد مكننا من تحديد التأثير المثبط لاثنين من المثبطات والتي تم الحصول عليها عن طريق اضافة جزيئين رئيسيتين (مجموعة أميد (CON) على موضع "e" للمركب "14" ومجموعة الكحول الأساسي (CH<sub>2</sub>OH) لموضع "b" للمركب "18". إن قيم نتائجهم تحسنت من 4.67 الى 6.9 و6.08 الى 8.32، على التوالي. و هكذا نكون قد أثبتنا أن هذه الجزيئات تتفاعل فيما بينها مع احتفاظها بالاستقرار على مستوى الموقع النشط ARG-1 عبرتفاعلات من النوع الكارهة للماء و الروابط الهيدروجينية.

لقد تم التحقق من التوافق البيولوجي لهذه الجزيئات أثناء حساب خصائصها الدوائية بالرجوع إلى قواعد ليبينسكي. يخبرنا هذا الأخير بطريقة إيجابية عن خصائص ADME لهذه المركبات و التي تبرز كمثبطات جديدة أكثر نشاطا نظريا اتجاه ARG-1.

**الكلمات المفتاحية:** الالتحام الجزيئي، Surflex، أرجيناز-1؛ الربو، التوافق البيولوجي.

## Etude *in silico* de l'inhibition de l'arginase-1 en tant que cible enzymatique impliquée dans l'asthme

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie moléculaire et santé.

### Résumé

Le docking moléculaire *in silico* représente l'une des techniques les plus performantes dans l'étude des interactions ligand-récepteur.

Dans ce contexte, Surfex est utilisé afin d'évaluer l'activité biologique (inhibition) de l'arginase-1 (ARG-1), cible thérapeutique de la maladie d'asthme, par des molécules issues de la littérature. L'évaluation de l'affinité de ces molécules, a permis de dégager l'effet inhibiteur des deux molécules obtenues par mono-substitution de deux molécules mères : le groupement amide (CON) sur la position « e » du composé « 14 » et le groupement alcool primaire (CH<sub>2</sub>OH) sur la position « b » du composé « 18 ». Les valeurs de leurs scores sont améliorées de 4.67 à 6.9 et de 6.08 à la valeur de 8.32, respectivement. Ainsi, nous avons montré que ces molécules interagissent et gardent leurs stabilités au niveau du site actif de l'ARG-1 par des interactions de type hydrophobes et liaisons hydrogène.

La biodisponibilité de ces molécules a été vérifiée tout en calculant leurs propriétés pharmacocinétiques à partir des règles de Lipinski. Ce dernier nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADME de ces composés qui se présentent comme de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus actifs envers l'ARG-1.

**Mots clés :** Docking moléculaire ; Interaction ligand-récepteur ; Surfex ; Arginase-1 ; Asthme ; Interaction hydrophobe ; Liaison hydrogène ; Biodisponibilité.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de Biochimie Appliquée.

Jury d'évaluation :

**Président du jury :** CHIKHI A. (Professeur à UFM Constantine-1)  
**Rapporteur :** BENSEGHENI A. (Professeur à UFM Constantine-1)  
**Examineur :** MOKRANI E.H. (Maitre assistant A à UFM Constantine-1)

**Date de soutenance :** 02/07/2017