

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Frères Mentouri Constantine 1**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire**

---

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

**Option : Biochimie Moléculaire et Santé**

## **Thème**

**Inhibition *in silico* de la Cyclo-Oxygénase 2 pour combattre le Cancer  
de prostate.**

**Soutenu :Le 28 juin 2017**

**Réalisé par :**

**M<sup>elle</sup> MEGUENANI ABIR**

**M<sup>elle</sup> MEBARKIA DOUNIA**

**Devant le jury:**

**Président : M<sup>r</sup> BENSEGUENI A. Professeur à Université Frères Mentouri Constantine1.**

**Rapporteur : M<sup>r</sup> CHIKHI A. Professeur à Université Frères Mentouri Constantine1.**

**Examineur : M<sup>r</sup> MOKRANI E .H. Maître assistant A à l'Université Frères Mentouri Constantine1**

**- Session Juin 2017 -**

## Remerciements

*Au premier lieu, nous remercions Dieu le tout puissant pour son aide, de nous avoir donné volonté, courage et patience.*

*Nos remerciements les plus chaleureux et les plus vifs s'adressent d'abord à notre promoteur, Monsieur CHIKHI A. Professeur à Université Frères Mentouri Constantine 1 a d'avoir accepté de nous encadrer ainsi que pour son entière disponibilité ainsi que ses grandes aides, orientations et conseils et que sans lui, le présent travail ne serait jamais abouti.*

*Nous tenons à remercier aussi Monsieur BENSEGUENIA. Professeur à Université Frères Mentouri Constantine 1 de nous avoir consacré de son temps et nous faisons l'honneur de présider les jury.*

*Mes remerciements vont aussi à Monsieur MOKRANI E .H. Maître assistant à l'Université Frères Mentouri Constantine 1. Pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Nous remercions également, très sincèrement : Nos enseignants pour leur soutien et leur dévouement durant toutes nos années d'études.*

*Sans oublier de remercier nos très chers parents.*

*Nous témoignons notre reconnaissance à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de notre mémoire.*

*Merci*

# Dédicaces

*C'est avec une grande joie que je dédie ce modeste travail, fruit de mes études en exprimant ma profonde gratitude à tous mes proches particulièrement :*

*A ma mère : « Fella », la tendresse, la sympathie et le sacrifice, qui ma toujours orienté pour le meilleur ;*

*A mon père : « Mahmoud » qui m'a inculqué le courage, l'espoir et m'a permis d'atteindre mes objectifs, il a été d'un grand secours par son soutien et sa présence pendant les moments difficiles ;*

*A mes chères sœurs : Karima et Oumeima ;*

*A mon chère frère: Mohamed Seif Elddinne ;*

*Mon affection pour vous est sans limite, votre soutien a sans doute été important pour le bon déroulement de mes études ;*

*A tout ma famille grand et petit chacun avec son nom ;*

*A tout mes amies surtout : Boubakeur, Ahmed, Amina, Zaineb, Narimen et Romaiassa.....*

*A mon binôme Dounia qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail et à sa famille ;*

*A toutes les personnes ayant participé à ce travail, se serait-ce que par un petit mot d'encouragement ou même un petit sourire.*

*Abir*

# Dédicaces

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, L'amour, le respect, la reconnaissance... Aussi, c'est tout simplement que Je dédie cette thèse à ...*

## **À MES CHERS PARENTS**

***ma très chère mère Nora et très cher père Mohamed***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire*

***Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à***

***Tous mes frères et mes sœurs,***

*A ma très chère sœur Radia, merci pour votre conseils , votre présence à côté de moi durant toute la période de ma vie et surtout dans tous les moments difficiles ; que je t'aime beaucoup*

*A ma très chère sœur Yasmina, son mari Salim et leurs enfants ; Khaled ; Anfal ; AYmen*

*A ma très chère sœur Assia , son mari Boumedienne et leurs enfants ; Lina , Abd el Rahman , Yakoub et la petite miel Nour el Yakine*

***A mes très chers frères Amine et Ilyes***

*Présent dans tous mes moments d'examens par ses soutiens moraux et ses belles surprises sucrées. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.*

***A tous les membres de ma famille***

*Petits et grands Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.*

***A Mon binôme de travail***

*Abir qui partage tous les moments difficiles du mémoire avec moi.*

***A mes chères amies***

*Soumia, Sara ,Houda, Kawthar,.*

*à toutes les personnes qui ont participé a*

*l'élaboration de ce travail à tous ceux que j'ai omis de citer*

*a mon mari et mes enfants au futur*

*Dounia*

## TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION ..... **Error! Bookmark not defined.**

### CHAPITRE 1 : Revue bibliographique

1. GENERALITE.....	3
2. ANATOMIE DE LA GLANDE PROSTATIQUE.....	3
3. ROLE PHYSIOLOGIQUE DE LA PROSTATE.....	3
4. CANCER DE LA PROSTATE.....	4
4.1.Introduction.....	4
4.2.Définition.....	4
4.3.Evolution.....	4
4.4.Traitement.....	6
4.5.Prévention du cancer de prostate.....	7
5. DEFINITION DE CYCLO-OXYGENASE.....	7
5.1.La Cyclooxygénase-1( Cox -1).....	8
5.2.La cyclooxygénase-2( Cox-2 ).....	8
6. DESCRIPTION MOLECULAIRE.....	9
7. SITE ACTIF DE L'ENZYME.....	10
7.1.Site actif de Cox-1.....	10
7.2.Site actif de Cox-2.....	10
8. COX-2 ET LE CANCER.....	12
9. LES INHIBITEURS DE LA CYCLO OXYGENASE.....	12
9.1.Les inhibiteurs naturels de Cox-2.....	13
9.2.Les inhibiteurs synthétiques de Cox-2.....	13
10. LE NAPROXEN.....	15
10.1.Définition.....	15
10.2.Structure.....	15
10.3.Mecanisme d'action.....	16
10.4.Métabolisme.....	16
10.5.Utilisation dans le cancer.....	16

## CHAPITRE 2:LE DOCKING MOLECULAIRE

1. INTRODUCTION.....	18
2. DEFINITION DE DOCKING MOLECULAIRE.....	18
3. PRINCIPE DE DOCKING .....	19
4. PRINCIPE THEORIQUE .....	19
5. LES INTERACTIONS PROTEINE-LIGAND .....	20
6. LES PROGRAMMES DE DOCKING MOLECULAIRE .....	22
7. EVALUATION DES PROGRAMMES DE DOCKING.....	24

## CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODES

1. MATERIELhnn .....	26
1.1.Micro-ordinateurs.....	26
1.2.Programmes .....	26
2.METHODES .....	26
2.1.Banque de données protéiques « Protein Data Bank ».....	26
2.2.Le protocole d'utilisation des logiciels .....	27
2.3.Le test de fiabilité des logiciels .....	29
3. INHIBITION DE L'ENZYME DU COMPLEXE 3NT1 .....	30
3.1.Choix du complexe 3NT1 .....	30
3.2.Filtrage ADME (règle de Lipinski « 1997 ») :.....	31
3.3.Calcul des interactions « enzyme- composés substitués ».....	31

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

1. TESTS DE FIABILITE DES PROGRAMMES DE DOCKING MOLECULAIRE .....	38
1.1.Le test RMSD .....	38
1.2.L'analyse visuelle.....	39
1.3.Le coefficient de corrélation (r).....	41
2. INHIBITION DE L'ENZYME DU COMPLEXE 3NT1 .....	44
2.1.Mono-substitution .....	45
2.2.Bi-substitution.....	46
2.3.Les composés similaires .....	47
2.4.Conclusion.....	48
3. ETUDE DES INTERACTIONS ENTRE LE NAPROXEN ET LE CYCLO- OXYGENASE2 .....	49

4. ETUDE DE	INTERACTIONS DES COMPLEXES COX2-DERIVES	
	SUBSTITUES .....	50
5. APPLICATION DE LA REGLE DE LIPINSKI SUR LES DIFFERENTS	COMPOSES.....	53
CONCLUSION.....		55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		
ANNEXES		
RESUMES		

## LISTE DES ABREVIATIONS

**3D**: Trois Dimensions.

**Å** : Angström.

**ADME/Tox** :Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et de Toxicité.

**AINS** : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens.

**Cox** : Cyclo-Oxygénase.

**Cox-1** : Cyclo-Oxygenase 1.

**Cox-2** : Cyclo-Oxygénase 2 .

**EGF** :Domaine Epidermal Growth Factor-like .

**HTS** : High Throughput Screening.

**IC50**: Inhibitory Concentration 50.

**IRM** : Imagerie par Résonance Magnétique.

**kDa**: Kilo Dalton.

**Log P** : Le coefficient de partition Eau/Octanol.

**MBD** :Domaine de Liaison à la Membrane .

**NCBI**: National Center for Biotechnology Information.

**nO,N** : nombre d'accepteurs de ponts Hydrogène.

**nOH,NH** : nombre de donneurs de ponts Hydrogène.

**nrotb** : nombre des liaisons rotables.

**PDB**: Protein Data Bank.

**PGHS** : prostaglandine G / H synthase.

**pH** : potentiel hydrogène.

**PM** : Poids Moléculaire .

**PSA** : Antigène Prostatique Spécifique ou Prostate Specific Antigen .

**Px** : site d'activité peroxydase.

**r** : Coefficient de corrélation linéaire.

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire.

**RMSD**: Root Mean Square Deviation.

**VDW**: Van der Waals.

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 :Les différences entre les deux formes des Cyclooxygénase .....	9
Tableau 02 : Les principaux programmes de docking moléculaire .....	23
Tableau 03: Les mono-substitutions du Naproxen .....	32
Tableau 04: Les bi-substitutions du Naproxen. ....	33
Tableau05 : résultats de l'analyse par régression linéaire les différents complexes....	42
Tableau 06 : Les affinités du Naproxen et des meilleurs composés substitués .....	45
Tableau 07: Les propriétés pharmaceutiques de Naproxen .....	53
Tableau 08 : Table d'application de la règle de Lipinski sur les meilleurs composés monosubstitués et similarités de Naproxen.....	53
Tableau 09 : Table d'application de la règle de Lipinski sur les 2 meilleurs composés bisubstitués de Naproxen. ....	54

## LISTE DES FIGURES

Figure 01: Les différents stades du cancer de la prostate .....	5
Figure 02: Modèle tridimensionnel de la structure de Cyclo-oxygénase .....	10
Figure 03: Schéma présentant les différences structurales des deux Coxs .....	11
Figure 04: Site actif de la Cox-2 .....	12
Figure 05: Classification des inhibiteurs des Coxs .....	15
Figure 06: Structure de Naproxen .....	16
Figure 07: Principe générale d'un programme de docking .....	20
Figure 08: Les forces de Van Der Waals .....	21
Figure 09: La liaison Hydrogène. ....	22
Figure 10: Les différentes liaisons hydrogènes .....	22
Figure 11: les différents valeurs de r .....	30
Figure 12: La structure cristallographique du complexe 3NT1. Générée par la PDB ....	31
Figure 13: Structure du Naproxen .....	32
Figure 14: Comparaison des résultats en % deux programmes à deux intervalles de RMSD(A°). ....	39
Figure 15 : Le positionnement du site actif dans la chaîne A de la Cox-2 .....	40
Figure 16: Superposition de l'inhibiteur et final-0 calculé par Surfex du complexe 5UFO .....	40
Figure 17: Superposition de l'inhibiteur et final-0 calculé par le Surfex du complexe 5KIR .....	41
Figure 18: Comparaison du positionnement de l'inhibiteur et final-0 calculé par le Surfex du complexe 2OBJ .....	41
Figure 19: Corrélation entre l'activité biologique (PIC50) des différents complexes et leurs Affinités données par Surfex .....	43
Figure 20: Les positions ciblées lors de la substitution. ....	44
Figure 21: Les meilleurs dérivés mono substitués (composé 23, composé 45) .....	46
Figure 22: Les meilleurs dérivés bi-substitués (composé 94 et composé 95) .....	46
Figure 23: Affinité de composé 95 par le Surfex .....	47
Figure 24: La structure du similaire N° 9 CID: 13075209 .....	48
Figure 25: La structure du similaire N° 33 CID: 46782448 .....	48

Figure 26: Illustration du positionnement de l'inhibiteur naproxen dans le site actif de Cox-2.....	49
Figure 27: Représentation des liaisons hydrogène formées par le Naproxen et le site actif de Cox-2.....	50
Figure 28: Représentation des liaisons hydrogène formées par le composé 94 et le site actif de Cox-2.....	51
Figure 29: Représentation des liaisons hydrogène formées par le composé 95 et le site actif de Cox-2.....	52

# INTRODUCTION

Les interactions entre molécules sont à la base de la plupart des mécanismes biologiques. Les détails de ces interactions, au niveau moléculaire, sont donc d'un très grand intérêt et peuvent être étudiés par cristallographie aux rayons X ou résonance magnétique nucléaire (RMN). Malheureusement, ces techniques ne permettent pas de détailler la totalité de ces interactions étant donné le nombre incalculable de molécules différentes au sein d'une seule cellule.

Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales mentionnées ci-dessus. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont des petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée. Ce travail de mémoire se termine d'ailleurs par des applications du docking dans la conception de nouvelles molécules actives.[1]

C'est au docking moléculaire par Surflex et Arguslab que nous nous intéressons dans notre travail. Nous avons choisi comme cible thérapeutique la Cyclo-oxygénase 2 (Cox-2) ; enzyme clé produite par l'organisme en réponse à des provocations inflammatoires.

Notre travail concerne la compréhension des mécanismes d'action de l'enzyme Cyclo-oxygénase 2 (Cox-2) afin de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs en faisant appel aux approches *in silico* de modélisation des interactions enzyme - inhibiteur par docking moléculaire.

Les inhibiteurs de la Cox-2 jouent un rôle dans la réduction des risques de différents types de cancer dus à sa surexpression, et son inhibition peut diminuer la prolifération et induire l'apoptose dans les lignées cellulaires du cancer de la prostate [2]

Le premier objectif de notre travail est de tester la performance de 2 programmes de docking moléculaire «Arguslab et Surflex». Ce test consiste à calculer les écarts quadratiques moyens ou RMSD entre la position du ligand amarré par le logiciel et celle déterminée expérimentalement. Une fois le programme de docking choisi, un deuxième test est effectué pour confirmer sa fiabilité. Ce dernier consiste à déterminer le coefficient de corrélation linéaire qui existe entre les valeurs expérimentales de l'IC50 des molécules retenues dans cette étude et leur affinité ou leur énergie d'interaction simulée par le programme sélectionné.

Ensuite nous tenterons d'élucider l'inhibition de la Cyclo-oxygénase 2 par la méthode de docking moléculaire en déterminant le mode d'interaction, lors de la fixation de certains dérivés substitués et certains similaires à l'enzyme durant la formation du complexe Cox-2 - inhibiteur, avec une meilleure complémentarité par le calcul de l'affinité du complexe formé.

Enfin nous proposerons des molécules nouvelles présentant une meilleure affinité que le Naproxène et contribuerons ainsi au développement de nouveaux inhibiteurs dérivés de ce dernier après évaluation de leurs propriétés pharmacodynamiques.

Le mémoire sera divisé en deux grandes parties :

- ✓ La première sera consacrée à l'étude bibliographique et regroupera un premier chapitre qui traitera les différents notions sur le cancer de la prostate, de l'enzyme cible, la Cox-2, son implication dans le cancer de la prostate et ses différents inhibiteurs. et un deuxième chapitre sur le docking moléculaire
- ✓ La seconde constituera notre partie pratique et rassemblera un chapitre sur le matériel et les méthodes utilisés suivi d'un chapitre dans lequel seront présentés les résultats obtenus et leurs interprétations.

CHAPITRE 1:  
REVUE  
BIBLIOGRAPHIQUE

## 1. GENERALITE

La Cyclooxygénase (Cox) ou prostaglandine G/H synthase (EC 1.14.99.1.) a un rôle essentiel dans la cascade de l'acide arachidonique.

En effet, c'est elle qui est responsable de la synthèse des différents médiateurs chimiques que sont les prostanoïdes et les thromboxanes. Ces métabolites sont impliqués dans la transmission des informations entre les cellules et notamment ils sont à l'origine des processus inflammatoires. Ces phénomènes de lutte de l'organisme contre une éventuelle agression extérieure peuvent devenir néfastes dans les cas où leur action trop importante conduit à une dérégulation de l'organisme. [3] entraînant entre autres le cancer de la prostate.

## 2. ANATOMIE DE GLANDE PROSTATIQUE

La prostate est une glande exocrine située sous la vessie entre la symphyse pubienne et le rectum.

Elle entoure la partie supérieure de l'urètre sur 3 à 4cm, De la forme d'une châtaigne, la glande prostatique mesure 3 cm de haut, 4 cm de large et 2 cm de profondeur chez un adulte jeune. Elle pèse 20 à 25 grammes. [4].

La prostate excrète directement ses sécrétions dans l'urètre dernier par l'intermédiaire de plusieurs petits canaux. Les vésicules séminales sont des glandes accessoires appendues à la prostate. La prostate et les vésicules séminales produisent le liquide séminal. Les canaux déférents, qui proviennent des testicules amènent dans la prostate les spermatozoïdes qui sont mélangés au liquide séminal pour former le sperme passant dans l'urètre au moment de l'éjaculation [5].

## 3. ROLE PHYSIOLOGIQUE DE LA PROSTATE

La prostate produit un liquide légèrement acide (pH 6,5) dont la fonction est de favoriser la viabilité et la mobilité des spermatozoïdes. Représentant 25% du volume du sperme, ce liquide est sécrété au niveau de l'urètre prostatique via les canaux excréteurs et est composé :

- + **D'acide citrique** : utilisé par les spermatozoïdes pour produire de l'ATP.
- + **De phosphatase acide.**
- + **D'enzymes protéolytiques** : comme l'antigène prostatique spécifique, le pepsinogène, le lysozyme, l'amylase et la hyaluronidase dont la fonction est de fluidifier le sperme coagulé déposé dans le tractus génital féminin.[5]

## **4. CANCER DE LA PROSTATE**

### **4.1. Introduction**

Le cancer de la prostate est le plus fréquent chez l'homme, 2ème rang des cancers de l'homme, son incidence clinique augmente avec l'âge, il est caractérisé par une prolifération incontrôlée des cellules épithéliales pour former une tumeur maligne, la tumeur peut s'étendre localement (cancer localisé) ou se métastaser. [5]

Une cellule cancéreuse possède plusieurs caractéristiques particulières qui la distingue d'une cellule normale. Tout d'abord, on retrouve dans ces cellules une perte des mécanismes qui contrôlent la croissance et la prolifération cellulaire.

Il y a aussi une perte de la balance entre la naissance et la mort d'une cellule en réponse à des signaux de croissance, des signaux d'inhibition de croissance ou des signaux de mort cellulaire.

Cette perte de régulation est causée par des dommages génétiques. De plus, pour croître, une tumeur cancéreuse doit obtenir un support sanguin plus élevé qu'un organe sain. Il se produit, donc, une croissance du nombre de vaisseaux sanguins dans la tumeur. Lorsqu'une cellule acquiert toutes ces caractéristiques, elle devient immortelle et est capable de se reproduire indéfiniment. [6]

### **4.2. Définition**

Le **cancer de la prostate** résulte de la transformation maligne progressive de cellules glandulaires prostatiques.

Ces cellules se multiplient de façon anarchique pour former une tumeur maligne. Les cancers de la prostate sont, dans la très grande majorité des cas, des adénocarcinomes.

Il existe deux stades d'évolution :

- ❖ **Le cancer de la prostate localisé ou « intracapsulaire »** : Les cellules cancéreuses sont présentes uniquement dans la prostate.
- ❖ **Le cancer non localisé ou « extracapsulaire »** : Les cellules cancéreuses s'étendent hors de la prostate, affectant les ganglions lymphatiques et les os, formant ainsi des métastases.

Le cancer de la prostate est majoritairement un cancer à évolution lente (10 à 15 ans) et reste longtemps localisé. Certains restent même latents, n'entraînant aucun symptôme. Il existe cependant des formes d'évolution rapide. [7]

### **4.3. Evolution**

Il existe 4 stades du cancer de la prostate qui dépendent chacun de l'évolution et de la propagation des cellules cancéreuses dans l'organisme. Savoir à quel stade d'avancement en est le cancer est très important pour décider quel est le meilleur traitement du cancer de la prostate à adopter.

Les stades du cancer de la prostate dépendent de trois facteurs:

- ✓ La taille de la tumeur
  - ✓ La localisation de la tumeur (dans la prostate ou en dehors de la prostate)
  - ✓ Si la tumeur se propage hors de la prostate, quels sont les organes atteints (organes proches ou organes éloignés de la prostate)
- ✓ **Le stade T1** : correspond à un petit cancer de découverte fortuite sur des biopsies motivées par une élévation du taux de PSA.
  - ✓ **Le stade T2** : correspond à un cancer perceptible au toucher rectal, étendu, touchant les 2 lobes de la prostate, mais restant encore limité à la glande, intra-capsulaire.
  - ✓ **Le stade T3** : correspond à un cancer localement avancé, franchissant la capsule, envahissant les vésicules séminales.
  - ✓ **Le stade T4** : correspond à un volumineux cancer fixé, envahissant les organes de voisinage comme le rectum, et s'accompagnant de métastases osseuses (au pubis) et ganglionnaires.

D'autres examens complémentaires sont nécessaires pour préciser l'extension de la tumeur. [5] (voir figure 01).

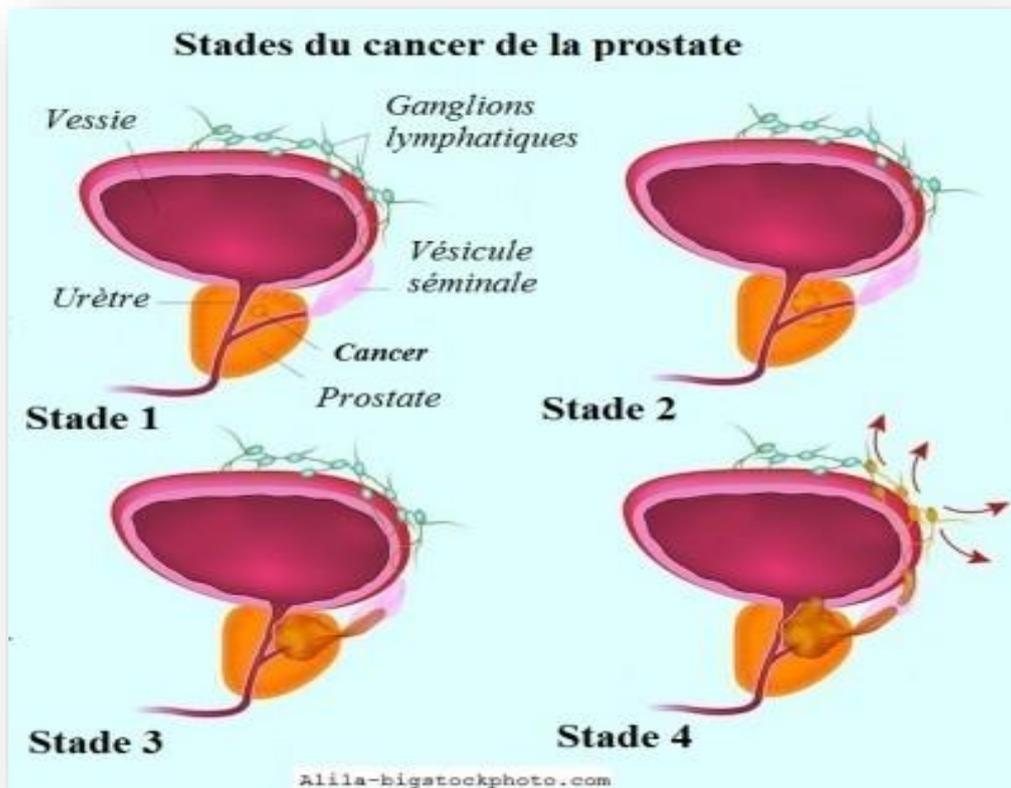


Figure 01 :Les différents stades du cancer de la prostate

#### **4.4. Traitement**

Le choix du traitement dépend de l'âge et de l'état de santé, ainsi que du stade du cancer et de son agressivité. Le médecin et le patient doivent donc examiner les risques et les bénéfices de chaque option afin de prendre une décision éclairée.

➤ **La surveillance active**

Lorsque le cancer ne provoque pas de symptômes, ne présente pas ou peu de risque de propagation et ne met pas la vie en danger, de plus en plus de médecins préfèrent attendre avant d'entreprendre un traitement. Ils surveillent tout simplement de près l'évolution de la tumeur pour s'assurer que la maladie ne progresse pas. Dans le cas contraire, un traitement sera mis en route.

➤ **La prostatectomie radicale**

Cette opération chirurgicale consiste à retirer la glande prostatique et certains tissus avoisinants. Elle est recommandée quand les cellules cancéreuses n'ont pas migré à l'extérieur de la prostate. La prostatectomie offre de bonnes chances de guérison.

➤ **La radiothérapie**

Elle est parfois préférée à la chirurgie. Comme cette dernière, elle traite les cancers confinés à la prostate. On la suggère notamment aux patients qui ne souhaitent pas être opérés ou qui ne peuvent l'être en raison de leur état de santé. La radiothérapie détruit les cellules cancéreuses au moyen de substances radioactives. Ces dernières peuvent être administrées par voie externe ou interne. La radiothérapie externe consiste à envoyer des rayons radioactifs à travers la peau vers une zone ciblée. En radiothérapie interne, on introduit, sous anesthésie, des microbilles radioactives dans la prostate.

➤ **L'hormonothérapie**

Les cellules cancéreuses ont besoin d'hormones mâles, en particulier la testostérone, pour croître. Ce mode de traitement consiste donc à administrer des médicaments pour priver les cellules cancéreuses de ces hormones, ce qui permet de ralentir considérablement la progression du cancer. L'hormonothérapie contribue aussi à réduire la taille de la tumeur. Ce traitement est souvent utilisé lorsque les cellules cancéreuses ont migré à l'extérieur de la prostate.

➤ **La chimiothérapie**

Elle est réservée aux cancers avancés avec métastases. On administre alors, par injection ou sous forme de comprimés, des agents chimiques afin de détruire les cellules cancéreuses. Le traitement a pour but de ralentir la croissance du cancer, de prolonger la vie et de préserver la qualité de vie. [8]

➤ **Les médicaments**

Les plus fréquemment utilisés pour traiter le cancer de la prostate sont le « docetaxel », qui favorise le maintien des microtubules en inhibant leur dépolymérisation par liaison stable à la tubuline et entraîne un blocage de la mitose, ou une combinaison de mitoxantrone et de prednisone ou d'estramustine.

D'autres médicaments sont des agents alkylants qui ajoutent des groupements alkyle à des groupements électronégatifs qu'on retrouve dans la cellule. Les acides nucléiques sont leurs principales cibles, mais ils peuvent aussi se lier à des protéines. Ils arrêtent la croissance des tumeurs grâce à une liaison covalente avec les régions riches en électrons des bases azotées de l'ADN.

Ce mécanisme empêche les brins d'ADN de se séparer et prévient la réplication de l'ADN. Cela entraîne, alors, un arrêt de la division cellulaire.

Parmi ce genre de médicaments se retrouve le cisplatine, le chlorambucil, le carboplatine et l'oxaliplatine. [9]

#### **4.5. Prévention du cancer de prostate**

✓ **Mesures préventives de base**

Les principales recommandations concernant la prévention du cancer à l'aide des habitudes de vie :

- ❖ Consommer suffisamment de fruits et de légumes.
- ❖ Avoir un apport équilibré en gras.
- ❖ Eviter les excès de calories.
- ❖ Être actif.
- ❖ Ne pas fumer.

✓ **Mesures de dépistage précoce**

La Société canadienne du cancer invite les hommes âgés de plus de 50 ans à discuter avec leur médecin de leurs risques d'être atteints d'un cancer de la prostate et de la pertinence du dépistage.

Deux tests peuvent être utilisés par les médecins pour tenter de dépister de manière précoce un cancer de la prostate chez des hommes qui n'ont aucun symptôme :

- ❖ Le toucher rectal.
- ❖ Le test de l'antigène prostatique spécifique (APS). [10]

### **5. DEFINITION DE CYCLO-OXYGENASE**

La cyclo-oxygénase, qu'on désigne également par l'appellation Cox. Les Coxs (ou, prostaglandine-endoperoxydesynthase) sont des enzymes de la famille des myéloperoxydases [11], c'est une enzyme capable de convertir l'acide arachidonique, qui participe à la formation des membranes cellulaires, en prostaglandines H2, responsables de nombreuses fonctions physiologiques, notamment au niveau

musculaire. Les Cox sont également en partie responsables des phénomènes inflammatoires.

Son action est inhibée par les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) [10]

Au début des années 90, deux isoformes de cette enzyme ont été identifiées [12] :

### **5.1. La Cyclo-oxygénase-1 (Cox-1)**

Représente la forme constitutive de l'enzyme. est codée par un gène qui se localise sur le chromosome 9. Cette protéine est hautement exprimée dans le tube digestif, les plaquettes sanguines, les reins et les cellules endothéliales vasculaires. [12] (voir tableau 1).

### **5.2. La cyclo-oxygénase-2 (Cox-2)**

Représente la forme inductible de l'enzyme. La Cyclo-oxygénase-2 (Cox-2) a été découverte en 1990 et elle a été rapidement associée aux phénomènes inflammatoires pouvant toucher l'organisme. Elle a été mise en évidence après que certaines études aient prouvé que la quantité de protéines Cox augmentait dans les états inflammatoires, suggérant la présence d'une forme inductible de la Cyclo-oxygénase. [13]

De ce fait, l'organisme répond par la production de prostaglandines au niveau des sites inflammatoires. Par contre, si cette réaction prend de l'ampleur, elle peut devenir néfaste en perturbant les différents processus physiologiques. L'inhibition de la Cyclo-oxygénase pourrait être la réponse thérapeutique à bon nombre de problèmes rencontrés lors d'une inflammation en supprimant la synthèse de prostaglandines bien entendu . [14]

L'enzyme est fortement exprimée dans les cellules musculaires lisses de la prostate normale et cancéreuse. Son expression dans les cellules épithéliales non cancéreuses est limitée à la couche de cellules basales.

Dans l'inflammation prostatique, les cellules épithéliales lumineuses entourées par des lymphocytes sont induites pour exprimer l'enzyme. La Cox-2 est exprimée dans les cellules épithéliales de néoplasie intra-épithéliale prostatique de haut grade et de cancer. [15] (voir tableau 1).

**Tableau 01 :Les différences entre les deux formes des Cyclo-oxygénase .**

COX 1	COX 2
❖ Poids moléculaire 71kDa	❖ Poids moléculaire 72kDa
❖ Constitutive	❖ Inductible (dans la plupart des tissus)
❖ Synthétise des prostanoïdes qui régulent l'homéostasie	❖ Synthétise des prostanoïdes qui régulent l'inflammation, la douleur et la fièvre
❖ Importante pour : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ la muqueuse gastrique</li> <li>▪ le rein</li> <li>▪ les plaquettes</li> <li>▪ l'endothélium vasculaire</li> </ul>	❖ Produite sur le site de l'inflammation <ul style="list-style-type: none"> <li>❖ L'expression constitutive est surtout dans :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ le cerveau</li> <li>▪ le rein</li> </ul> </li> </ul>

## 6. DESCRIPTION MOLECULAIRE

La structure tridimensionnelle des Coxs est composée de trois domaines distincts (voir figure 02) :

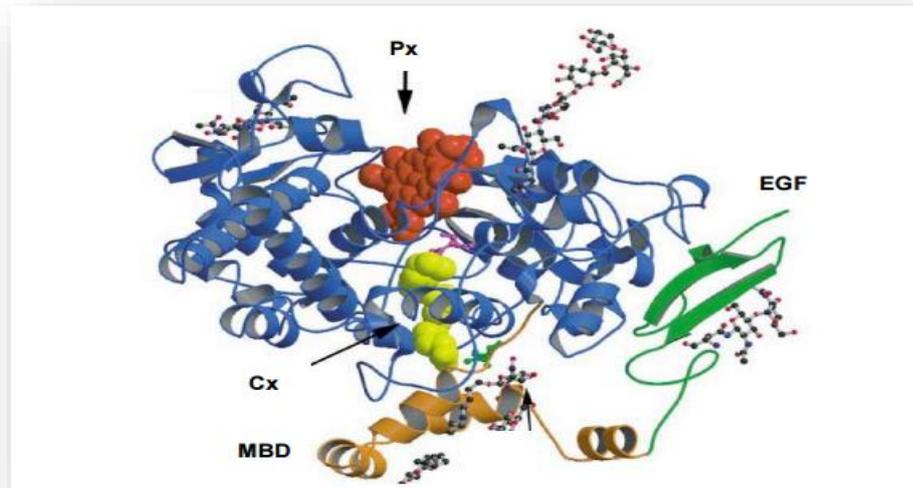
- **Un court domaine en N-terminal** : formé de deux doubles feuillets  $\beta$ , qui ressemble au Facteur de croissance épidermique
- **Un domaine de liaison à la membrane** : composé de quatre hélices " où se loge l'AA ou les anti-inflammatoires non stéroïdiens
- **Un domaine catalytique bifonctionnel en C-terminal** : représentant environ 80% de la protéine. Ce domaine catalytique se présente sous la forme d'un long tunnel hydrophob [16] dont l'entrée se situe à proximité du domaine de liaison à la membrane. Il comprend deux sites spatialement distincts mais fonctionnellement couplés : **le premier** est celui de réaction Cyclo-oxygénase (di-oxygénase) et **le deuxième** est chargé de réaction peroxydase . [16-17]

Dans un premier temps, les Coxs assurent une activité di-oxygénasique sur l'acide arachidonique, permettant ainsi son oxydation et sa transformation en prostaglandines G2 (PGG2). [16]

Dans un second temps, les Coxs assurent une activité peroxydasique provoquant la réduction de la PGG2 en prostaglandine H2 (PGH2). [11]

**La figure 02** : représente un modèle tridimensionnel de la structure de la Cox-2 proposé par Gravito et al (2002). Ce modèle comporte un noyau hème ( en rouge)

dans le site peroxydase, un site Cyclooxygénase occupé ici par le flurbiprofène (en jaune), un domaine de liaison à la membrane (en beige), et un domaine Epidermal Growth Factor-like



**Figure 02: Modèle tridimensionnel de la structure de Cyclo-oxygénase**

**Abréviations :** Cox :site d'activité cyclo-oxygénase ; EGF :domaine Epidermal Growth Factor-like ; MBD :domaine de liaison à la membrane ; Px : site d'activité peroxydase .

## 7. SITE ACTIF DE L'ENZYME

### 7.1.Site actif de Cox-1

La Cyclo-oxygénase1 humaine est une protéine de 71 kDa. Elle est constituée de 576 acides aminés. Structuralement parlant, son site actif comprend quelques acides aminés spécifiques jouant un rôle clé dans la stabilité du complexe Cox-Substrat (AA).

Selon une étude récente réalisée en 1994. Le site actif de Cox-1 est représenté notamment par les acides aminés Arg120, Ser530, Tyr385. Grâce à son groupement carboxylique terminal, l'acide aminé Arg120 est capable de se lier avec l'acide arachidonique (et quelques AINS) en jouant un rôle remarquable dans la formation et la stabilité du complexe Enzyme-Substrat (ou inhibiteur). De son côté, l'acide aminé Ser530 sera acétylé lors de la liaison Cox-Aspirine.

Enfin, le résidu Tyr385 est à l'origine de l'activité catalytique d'oxygénase de l'éventuelle enzyme. [18]

### 7.2.Site actif de Cox-2

La Cox-2 humaine est une enzyme de 72 kDa et contient 604 acides aminés. La récente résolution de sa structure tridimensionnelle a permis de mettre en évidence les différences structurales de son site actif vis-à-vis de celui de la Cox-1 . [19]

En effet, le site actif de la Cox-2 se caractérise par la présence de deux résidus Valine en positions 434 et 523 (à la place des deux résidus Ile 434 et 523 dans le cas de la Cox-1), entraînant la disparition d'un groupement méthylène à chaque position.

Comme le montre la figure 03 l'emplacement du groupement Ile dans la position 523 permet l'accès à une nouvelle poche supplémentaire dans le site actif de la COX-2 jouant un rôle majeur dans la formation et la stabilité du complexe Cox-2-acide arachidonique [20]. De même, cette éventuelle poche donne à la Cox-2 la possibilité d'être inhibé spécifiquement par certains AINS.

Une autre étude réalisée en 2002, montre que le site actif de la Cox-2 est divisé en trois régions importantes :

- ❖ **La première** : étant une poche hydrophobe définie par Tyr385, Trp387, Phe518, Tyr248 et Leu384.
- ❖ **La seconde région** : étant l'entrée du site actif bordé avec les résidus hydrophiles Arg120, Ser530, Tyr355.
- ❖ **La troisième** : est une poche latérale bordée par His90 et Val523 Arg513 (voir figure 04) . [21]

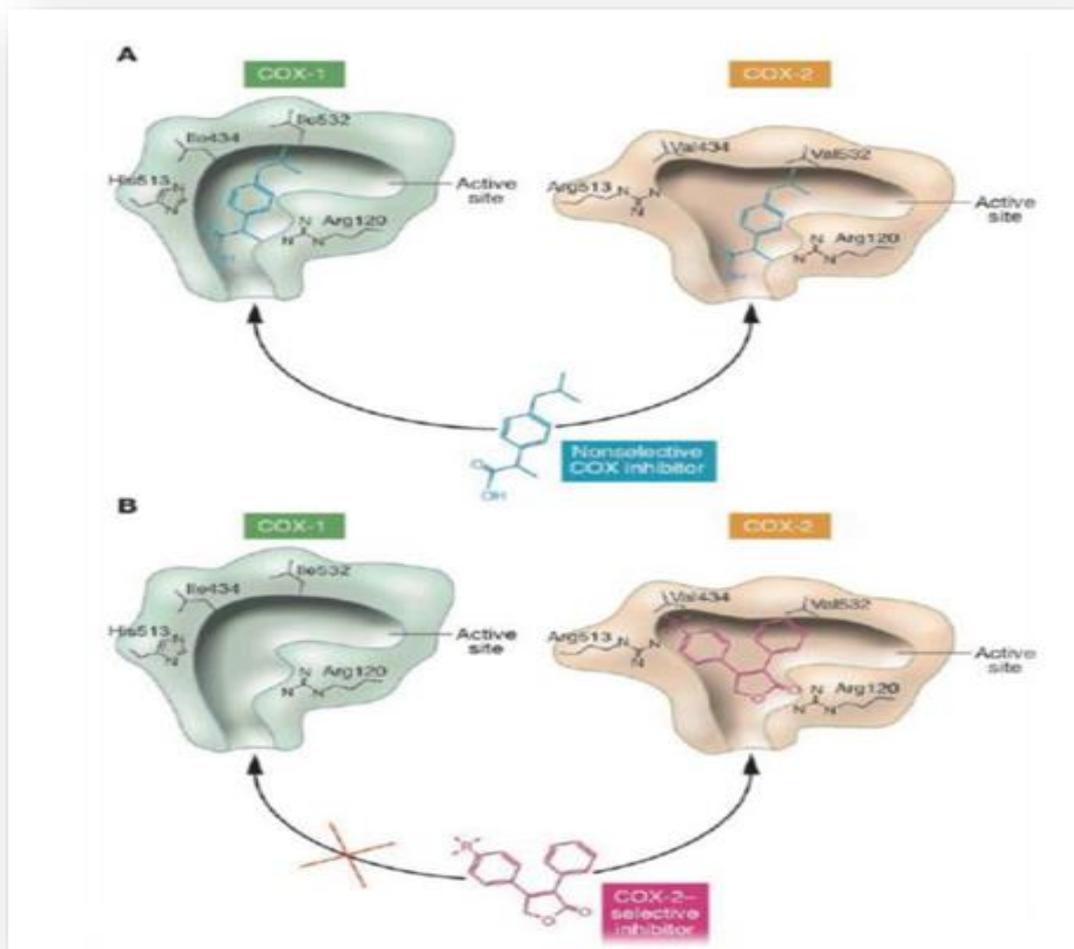


Figure 03: Schéma présentant les différences structurales des deux Coxs .

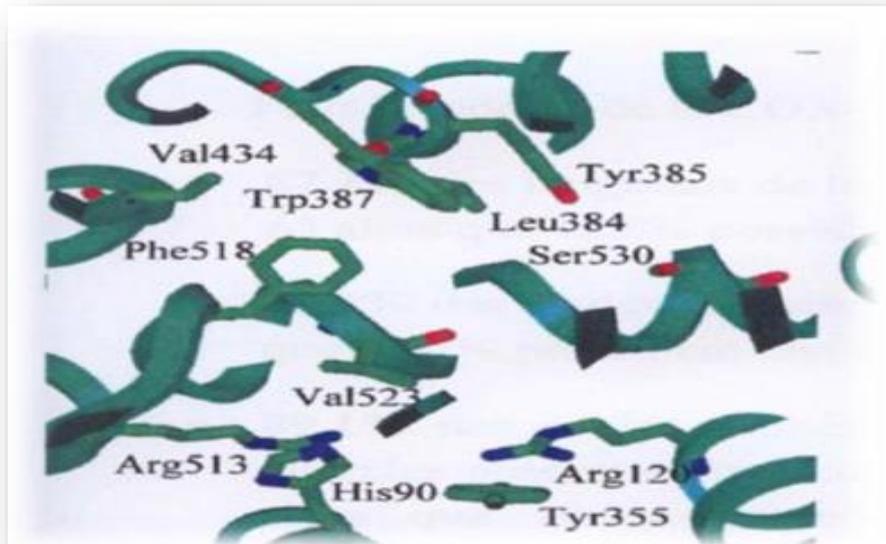


Figure 04 : Site actif de la Cox-2

## 8. COX-2 ET LE CANCER

L'utilisation des AINS, des substances inhibant les Coxs et d'inhibiteurs spécifiques de Cox-2 (par exemple, le célécoxib, le Naproxen) est associée à une diminution de l'incidence de plusieurs maladies dont **le cancer**, la polyarthrite rhumatoïde.

Une surexpression de Cox-2 a pu être observée dans plusieurs types de cancers comme par exemple **le cancer de prostate**, pancréatique, du poumon. La surexpression de Cox-2 est corrélée avec un mauvais pronostic .

Cette surexpression pourrait signifier que Cox-2 puisse jouer un rôle très important dans la promotion tumorale en induisant la prolifération des cellules tumorales, en réduisant la mort cellulaire programmée et en diminuant l'efficacité des thérapies anti-cancéreuses (chimiothérapie, radiothérapie, thérapie photo dynamique)

Mais aussi en induisant l'angiogenèse tumorale et le développement de métastases en inhibant l'apoptose induite par perte d'adhérence des cellules . [22]

## 9. LES INHIBITEURS DE LA CYCLO-OXYGENASE

Les inhibiteurs de la cyclo-oxygénase sont de petites molécules de synthèse, hémi-synthèse ou naturels appartenant à plusieurs familles chimiques. Ils peuvent être mixtes inhibant aussi bien la Cox-1 que la Cox-2, ou alors sélectives pour la Cox-2. [22]

### 9.1. Les inhibiteurs naturels de Cox-2

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments. Elles sont capables de produire une grande diversité de produits qui ne participent pas à leur métabolisme de base. Parmi ces composés, les flavonoïdes sont des substances importantes du fait qu'ils possèdent de nombreuses propriétés biologiques, notamment thérapeutiques, pharmaceutiques et alimentaires. [23]

#### ❖ Le curcuma

Le curcuma, encore appelé "Safran des Indes", est une plante vivace qui pousse naturellement en Inde, en Asie du sud-est et en Chine. Depuis, elle s'est étendue partout où le climat a permis son développement et sa culture.

Le curcuma (*Curcuma longa*, famille des Zingibéracées), genre de la famille du gingembre, compte quelque quarante espèces de vivaces à tubercules ou à rhizomes, répandues dans les régions à précipitations très saisonnières d'Asie tropicale et d'Australie septentrionale.

Ces plantes portent de larges feuilles ressemblant aux cannas, elles peuvent former de grosses touffes d'environ 1 m de hauteur.

La caractéristique principale du curcuma est l'inhibition de la Cox-2 à 74%.

Grâce à sa composition chimique, il se montre capable d'interférer sur un certain nombre de voies métaboliques, et présente plusieurs activités biologiques telles que [24]:

- ✓ Anti-inflammatoire
- ✓ Anti-oxydante
- ✓ Anti-thrombotique : inhibition de l'agrégation plaquettaire
- ✓ Antiulcéreuse
- ✓ Anti-tumorale.

#### ❖ Gingembre

Le gingembre ou *Zingiber officinale* est une plante tropicale, de la famille des *Zingiberaceae*, vivace, herbacée, issue d'un rhizome, d'origine asiatique.

Cette plante est reconnue pour son action anti-Cox2 avec un pourcentage qui peut aller jusqu'à à 66,8%. [25]

#### ❖ Cannelle

La **cannelle** ou encore *Cinnamomum verum*, *Cinnamomum cassia*, appartient à la famille des lauracées (*Lauraceae*). Cette substance végétale aromatique provient de l'écorce interne du cannelier. Sa forme d'origine ressemble à de petits tubes, mais on la consomme souvent moulue. Très appréciée pour sa saveur parfumée, elle est également riche en antioxydants potentiellement bénéfiques pour la santé. [26]

Elle possède un pouvoir inhibiteur vis-à-vis de la Cox-2 qui peut aller jusqu'à 81,7%.

#### ❖ Le Giroflier

Le giroflier ou girofle est un arbre de la famille des Myrtacées. Il est originaire d'Indonésie et son nom botanique est *Eugenia caryophyllata*. Cet arbre mesure en moyenne de dix à douze mètres. Il peut atteindre jusqu'à vingt mètres de haut [27].

Il se caractérise par des feuilles persistantes, ovales et coriaces. Les fleurs à quatre pétales blancs rosés s'épanouissent au printemps ou en été selon le climat.

C'est cet arbre qui produit les fameux clous de girofle : il s'agit des boutons floraux qui sont cueillis avant l'épanouissement de la fleur puis séchés au soleil.

Le girofle est connu pour son inhibition de la Cox-2 à 98% et ses diverses autres activités telles que [28] :

- ✓ Anti-infectieuse à large spectre et antiseptiques
- ✓ Antidouleurs même pour les dents
- ✓ Anticoagulante
- ✓ Stimulante digestive, intestinale et du système immunitaire

### **9.2. Les inhibiteurs synthétiques de Cox-2**

Cox-2 est la cible des AINS [29] (par exemple, l'indométhacine, le flurbiprofène) et d'inhibiteurs spécifiques (par exemple, le rofécoxib, le célécoxib, l'étoricoxib). Ces anti-inflammatoires sont pour la plupart des inhibiteurs compétitifs de Cox-2.

Cox-2 présente une extension du côté C-term et un site de liaison aux AINS plus important [16], qui permet la reconnaissance spécifique de Cox-2 par les inhibiteurs spécifiques (voir figure 05).

Les AINS (ibuprofène, aspirine, ketoprofène) sont capables d'inhiber Cox-2 mais ces substances sont aussi capables d'inhiber Cox-1 et génèrent ainsi des effets secondaires indésirables comme une altération de la muqueuse gastrique.

Des problèmes rénaux ont aussi été mis en évidence suite à l'utilisation des AINS qui provoquent une rétention de sodium et la formation d'oedèmes. [30]

Les inhibiteurs de Cox-2 peuvent être séparés en trois catégories. Il y a tout d'abord :

- ❖ Les anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques : qui sont capables d'inhiber l'activité de Cox-1 et de Cox-2 (en vert)
- ❖ Les inhibiteurs spécifiques de Cox-2 : qui n'inhibent que l'activité de Cox-2 (en bleu).
- ❖ Le nimésulide et le méloxicam : qui sont souvent désignés comme inhibiteurs préférentiels de Cox-2 (en gris) en raison de leur capacité à inhiber Cox-1 mais que pour les plus fortes posologies recommandées.

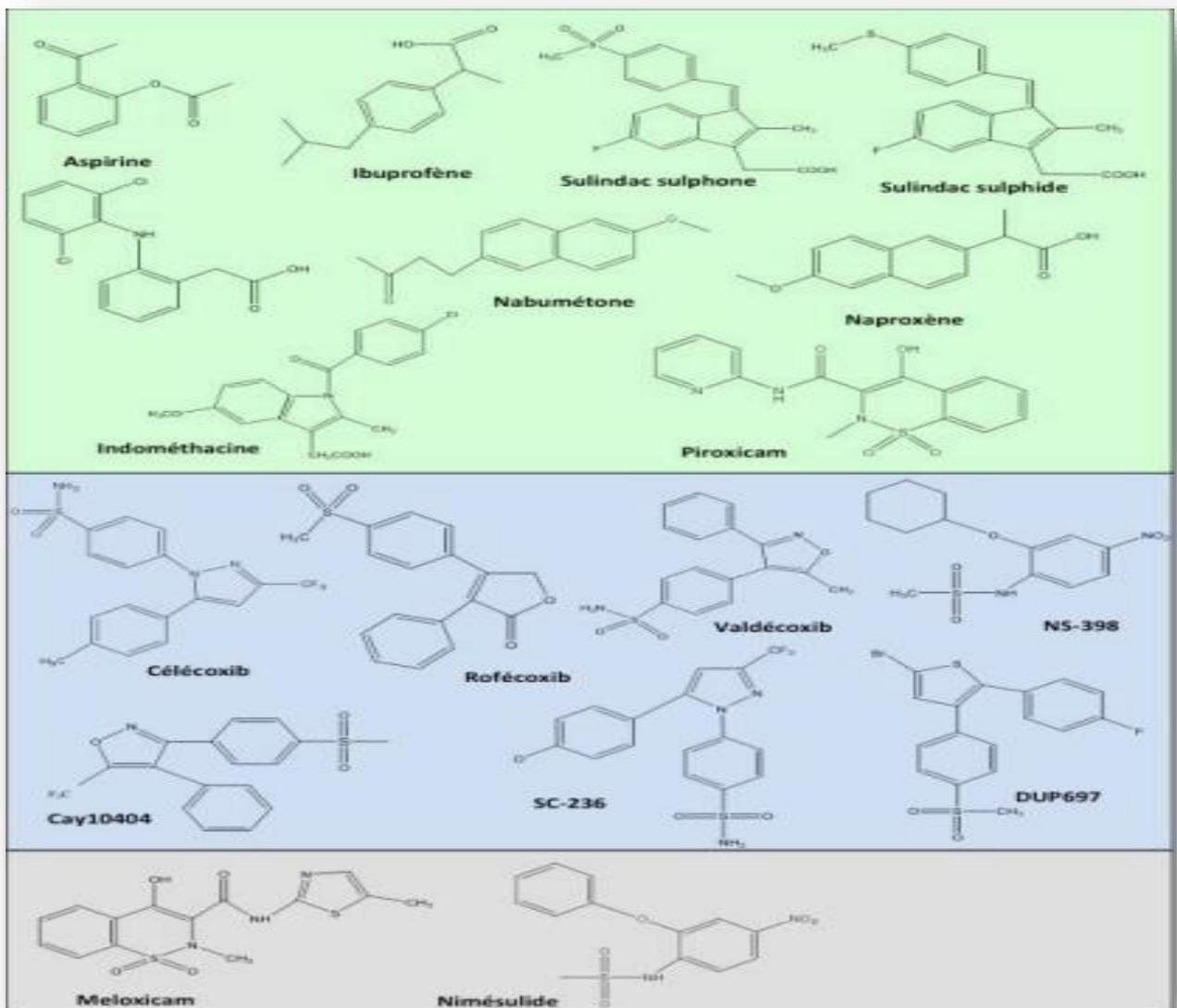


Figure 05 : Classification des inhibiteurs des Coxs

## 10. LE NAPROXÈNE

### 10.1. Définition

Naproxène est un agent anti-inflammatoire aux propriétés analgésiques et antipyrétiques. L'acide et son sel de sodium sont tous deux utilisés dans le traitement de différents maladies. [31]

Le Naproxène est un dérivé de l'acide propionique et un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) avec des activités anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques.

Le Naproxène inhibe l'activité des enzymes Cyclo-oxygénase 1 et 2, ce qui entraîne une diminution de la formation de précurseurs de prostaglandines et de thromboxanes. La diminution résultante de la synthèse des prostaglandines est responsable des effets thérapeutiques du Naproxène.

Le Naproxen provoque également une diminution de la formation de la synthèse du thromboxane A2 par la thromboxane synthase, inhibant ainsi l'agrégation plaquettaire. [32]

## 10.2. Structure

Au sein des AINS, le Naproxen fait partie de la famille des dérivés de l'acide arylacétique. C'est une substance cristalline inodore, blanche ou blanchâtre. Son poids moléculaire est de 230,2628.

Le Naproxen est liposoluble, pratiquement insoluble dans l'eau avec un faible pH (inférieur à pH 4), mais assez soluble dans l'eau de pH supérieur ou égal à 6. Le Naproxen a un point de fusion de 153 °C.

Le nom chimique pour Naproxen est l'acide (S)-6-methoxy- $\alpha$ -methyl-2-naphthalene acétique. [33] Il a la formule structurale suivante (voir figure 06)

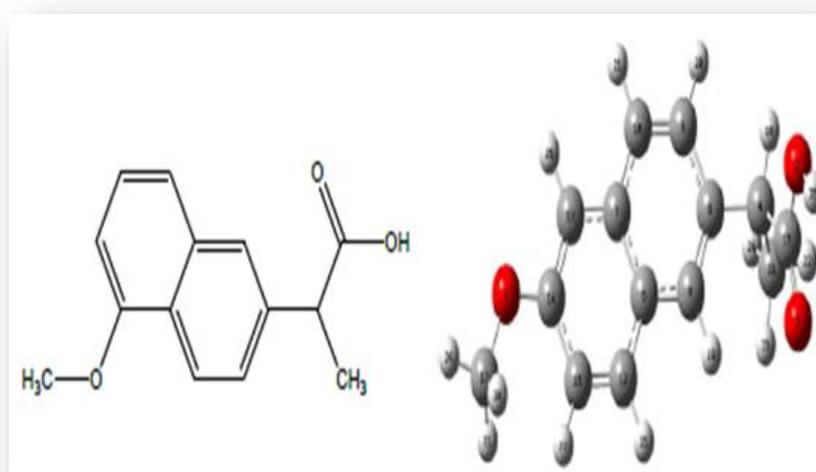


Figure 06 :Structure de Naproxen

## 10.3. Mécanisme d'action

Naproxen a des actions pharmacologiques similaires à celles d'autres anti-inflammatoires non stéroïdiens prototypes (NSAIA).

Le médicament présente une activité anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique. Les mécanismes exacts n'ont pas été clairement établis, mais beaucoup d'actions semblent être associées principalement à l'inhibition de la synthèse des prostaglandines.

Le Naproxen inhibe la synthèse des prostaglandines dans les tissus corporels en inhibant la cyclooxygénase; Au moins 2 isoenzymes, la cyclo-oxygénase1 (Cox-1) et2 (Cox-2) (également appelées respectivement prostaglandine G / H synthase-1 (PGHS-1) et -2 (PGHS-2) Ont été identifiés qui catalysent la formation de prostaglandines dans la voie de l'acide arachidonique. Naproxen, comme d'autres AINS prototypiques, inhibe à la fois Cox-1 et Cox-2.

Bien que les mécanismes exacts n'aient pas été clairement établis, les AINS semblent exercer une activité anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique principalement par inhibition de l'isoenzyme Cox-2; L'inhibition de la Cox-1 est vraisemblablement responsable des effets indésirables des médicaments sur la muqueuse gastro intestinal et l'agrégation plaquettaire. [34]

#### **10.4. Métabolisme**

Le Naproxen est administré par voie parentérale ;il est largement métabolisé dans le foie en 6-desméthylnaproxène. Approximativement 95% du médicament est excrété dans l'urine sous forme de naproxen inchangé (moins de 1%) et de 6-desméthylnaproxène (moins de 1%) et de glucuronide ou d'autres conjugués (66-92%).

Certaines données suggèrent que l'excrétion rénale de Naproxen inchangé peut être négligeable ou absente; Les concentrations précédemment rapportées de médicament inchangé peuvent refléter une hydrolyse rapide des conjugués pendant la collecte, le stockage et la manipulation des échantillons d'urine.

La demi-vie des métabolites et des conjugués du Naproxen est inférieure à 12 heures. Les métabolites de Naproxen peuvent s'accumuler chez les patients atteints d'insuffisance rénale.

L'élimination du Naproxen est réduite chez les patients atteints d'insuffisance rénale sévère. Une petite quantité (moins de 5%) du médicament est excrétée dans les selles. [34]

#### **10.5. Utilisation dans le cancer**

Les AINS développés(Naproxen)dans le cadre de la recherche contre les effets secondaires gastriques des anti-inflammatoires ont vu leur intérêt renouvelé après que des essais aient montré leurs effets sur la prolifération de lignées cellulaires du cancer du côlon .

En effet, bien que les effets des deux entités soient connus, les résultats obtenus laissent penser qu'une synergie d'action existe dans le cadre de cette pathologie. Par la suite, plusieurs équipes ont pu constater que l'influence de ces composés sur la prolifération n'était pas limitée aux seuls cancers du côlon, mais également à d'autres lignées cellulaires telles que celles issues de cancers du pancréas, **de la prostate**, du poumon et de la langue

Ces données expérimentales, en plus des hypothèses pharmacologiques, montrent l'intérêt que le développement de ce type de thérapie peut revêtir dans le traitement de différents cancers. [35]

Par ailleurs, des études ont suggéré de combiner des produits naturels anti-inflammatoires avec des anti-inflammatoires classiques (AINS ou inhibiteurs spécifiques de Cox-2) .De telles combinaisons pourraient permettre de diminuer les doses d'inhibiteurs classiques et donc de réduire les effets secondaires associés à ces molécules.

Dans ce sens, il a été montré que la combinaison de produits naturels avec des anti-inflammatoires classiques pourrait être utilisée en chimioprévention mais aussi en chimiothérapie. [36]

CHAPITRE 2:  
LE DOCKING  
MOLECULAIRE

## 1. INTRODUCTION

La bio-informatique dites « structurale » permet de modéliser la structure tridimensionnelle, l'assemblage (structure quaternaire) et les interactions entre des molécules (ligands) et macromolécules biologiques (protéine, ADN). [37] Elle permet aussi d'analyser le lien entre la structure et la fonction biologique dans de nombreux domaines telles que :

- ❖ La recherche pharmacologique : (conception de médicaments : il s'agit de trouver un ligand « une molécule médicamenteuse complémentaire » à assembler avec un récepteur membranaire étant connu)
- ❖ La biologie cellulaire (étude du fonctionnement de la cellule : il s'intéresse plutôt à l'étude des interactions entre macromolécules protéines ou acides nucléiques intervenant dans les cycles cellulaire)
- ❖ La recherche médicale (élaboration de nouveaux traitements). [38]

Le plus souvent, les récepteurs sont des protéines soit exprimés à la surface des cellules-cibles, soit sont des protéines intracellulaires du cytosol ou du noyau du cellules-cibles. Les ligands sont des molécules de signalisation qui en se fixant sur des récepteurs spécifiques déterminent une réponse cellulaire.

## 2. DEFINITION DE DOCKING MOLECULAIRE

Le docking moléculaire consiste à déterminer la position relative de deux molécules (un ligand et un récepteur). La structure obtenue confère les propriétés à l'ensemble (le complexe) ainsi formé. Par exemple, la recherche de 'bonne' structure est cruciale dans la conception de nouveau médicament. Ou encore, selon l'association de 2 protéines, le signal déclenché lors de leur association peut être différent.

D'un point de vue informatique, la prédiction de structure se traduit par un problème d'optimisation. A chaque position relative possible est associé une énergie (également appelé score, fitness, etc.). La structure la plus probable est alors celle qui minimise cette énergie. [39]

Le docking est une méthode qui prédit l'orientation d'une molécule par rapport à une autre pour avoir le complexe le plus stable. Il est fréquemment utilisé sur l'étude de la cible moléculaire des médicaments et réduire les essais expérimentaux. Deux approches

- ✓ Basée sur la complémentarité des surfaces
- ✓ Basée sur le calcul de l'énergie du complexe. [40]

Le docking ou amarrage protéine-protéine est un problème de biologie structurale qui à partir des structures tridimensionnels (3d) des protéines et de leurs propriétés physico-chimiques , consiste à prédire comment les protéines s'associent entre elles pour former des complexes fonctionnels au niveau de la cellule.

La connaissance de la structure des complexes protéine-protéine permet aux chercheurs de mieux comprendre les mécanismes clefs mis en jeu lors d'une interaction entre protéines, ce qui constitue un enjeu scientifique majeur, autant en termes fondamentaux (expliquer une fonction cellulaire) que pour la recherche appliquée (inhiber spécifiquement une fonction cellulaire). [41]

### 3. PRINCIPE DE DOCKING

Le docking moléculaire s'accomplit en deux étapes complémentaires :

- ❖ La première consiste à rechercher et générer toutes les conformations possibles et donc générant les modes d'interaction possibles entre la protéine et le ligand. Cette étape doit parcourir au mieux l'espace conformation elle pour trouver l'énergie minimale globale.
- ❖ La deuxième est une donnée numérique dite fonction de score capable de déterminer la conformation qui représentera le mode d'interaction le plus juste pour chaque ligand par rapport à son récepteur. En calculant rapidement l'énergie libre totale du complexe protéine-ligand formé : c'est l'étape de marquage de score. [42]

### 4. PRINCIPE THEORIQUE

Docking (ancrage ou amarrage en français) et le nom donné aux simulations moléculaires dans les quelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interactions entre deux molécules. Dans la plus part des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de docking) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand). Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine.

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring. [43]

- ❖ La première est le « *Docking* », qui consiste à rechercher les conformations du ligand capables à établir des interactions idéales avec le récepteur en utilisant des algorithmes de recherche: algorithme génétique, la méthode de Monte Carlo (qui utilise des procédés aléatoires)...
- ❖ La deuxième dite le « *Scoring* », qui sont des méthodes mathématiques et des fonctions discriminant les poses de docking correctes de celles incorrectes. Ces méthodes sont utilisées pour estimer la puissance d'interaction et l'affinité de liaison et qui permet d'évaluer les conformations par un calcul rapide d'énergie d'interaction des ligands avec un récepteur pour ne retenir que la meilleure. [44] (voir figure 07)

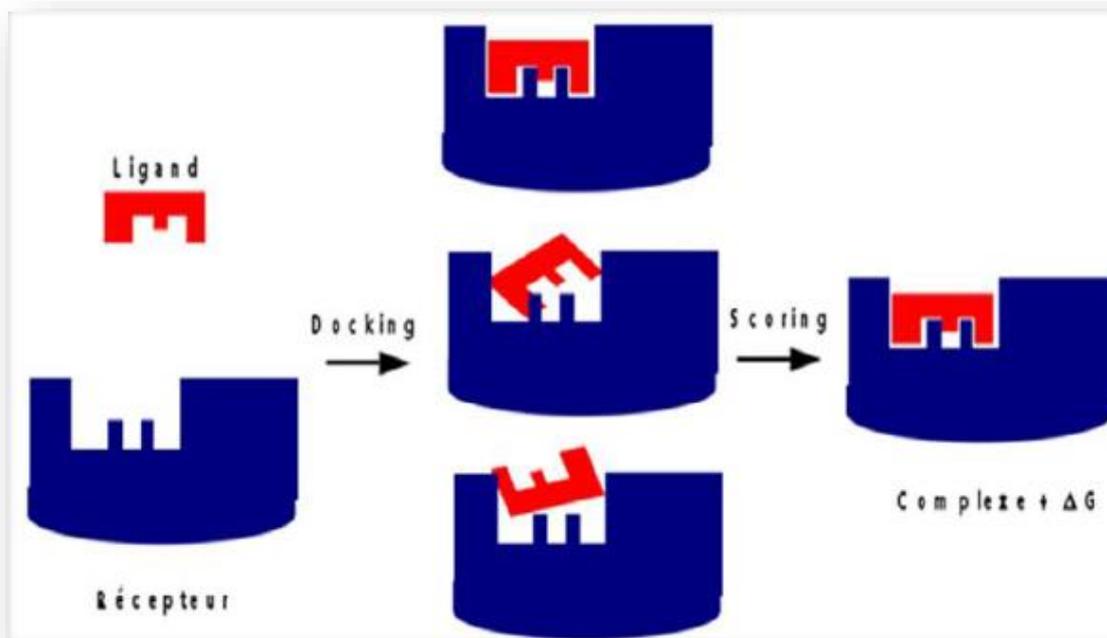


Figure 07 :Principe générale d'un programme de docking

## 5. LES INTERACTIONS PROTEINE-LIGAND

Pour attacher un ligand à une protéine (docking) le problème est de prédire la conformation et l'orientation du ligand relative au site actif de la protéine cible.

Le docking est la base de la reconnaissance moléculaire et du type de l'interaction. [45]

La liaison du ligand (endogène) à son récepteur est dans la plupart des cas non covalente.

L'énergie libre de Gibbs se calcule selon l'Équation 1:[46]

$$\Delta G = -RT \ln K_i = \Delta H - T\Delta S$$

### Équation 1. Energie libre de Gibbs

*R*: constante des gaz (8,314 J. K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>)

*T*: Température (K)

*K<sub>i</sub>*: constante d'inhibition

#### • Les interactions intermoléculaires

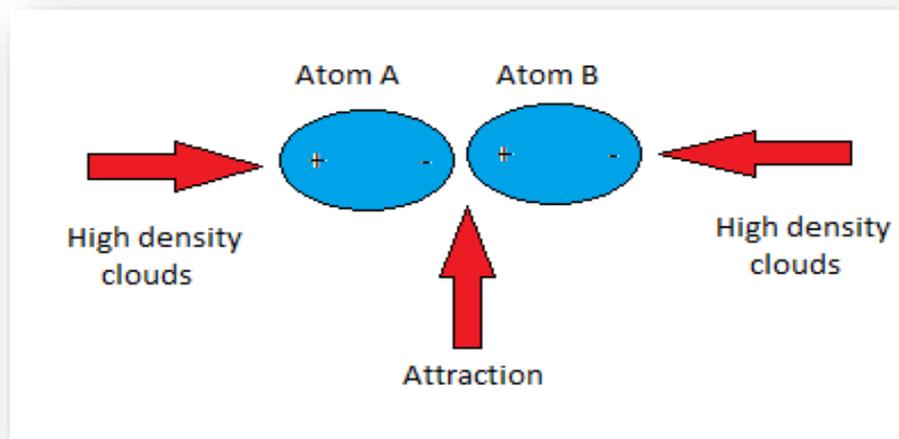
Les interactions intermoléculaires, plus faibles par leur nature que des liaisons covalentes ou intramoléculaires permettant ainsi de distinguer molécules et assemblages de molécules sont adressées souvent sous le nom "interactions non covalentes", "interactions faibles" ou "interactions van der Waals"(VDW). Les interactions intermoléculaires ont un rôle important dans des domaines aussi variés que la physique, la chimie et la biologie.

Le Docking moléculaire est l'étude des interactions non-liantes intervenant lors de la formation de complexes moléculaires telle que :

- ✓ Les interactions VDW.
- ✓ Les interactions électrostatiques.
- ✓ Les interactions Hydrogènes.

Le but du Docking moléculaire est de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou de plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur. [47]

Types Van Der Waals lorsqu'elles se rapportent aux nuages électroniques de deux atomes adjacents conduisant à la présence d'une force attractive pour des distances de 3-4 Å (ces forces comprennent une composante attractive à longue portée [force de dispersion de London] et une composante répulsive à très courte portée). De par leur grand nombre, ces interactions jouent un rôle important dans la stabilisation des complexes et favorisent leur compacité. (Voir figure 08)



**Figure08 : Les forces de Van Der Vaals**

Types hydrogènes lorsqu'elles se forment de manière électrostatique entre un atome d'hydrogène(H), lié lui-même par covalence à un atome électronégatif (O, N, S) (donneur) et un atome électronégatif possédant une paire d'électrons non partagée (accepteur). Les liaisons hydrogènes sont plus fortes que les liaisons de Van der Waals ; 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 à très courte distance (0.8 à 2.8 Å). Les liaisons hydrogènes sont peu nombreuses et s'adaptent à la flexibilité (l'angle peut varier de 120° à 180°).



Figure 09 : La liaison Hydrogène.

Les liaisons hydrogènes habituelles sont :

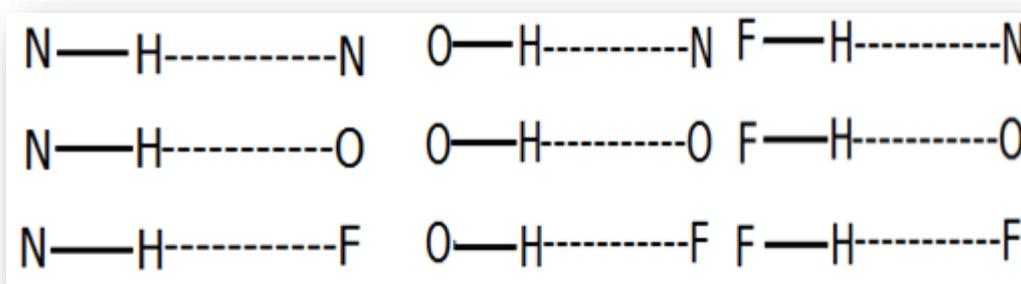


Figure10 : Les différentes liaisons hydrogènes

De types hydrophobes et de solvations lorsque les molécules non polaires tendent à se rapprocher les unes des autres afin de limiter les contacts avec l'eau, et créer entre elles des liaisons dites interactions non covalentes. [48]

## 6. LES PROGRAMMES DE DOCKING MOLECULAIRE

Le docking consiste à prédire à la fois la conformation active et l'orientation relative de chacune des molécules de la chimiothèque sélectionnée par rapport à la cible d'intérêt. Très généralement, la recherche se focalise sur le site actif pour former le complexe le plus stable.

De nombreux programmes de docking sont disponibles (voir le tableau 02) tels que Surflex et Gold sont devenus des outils utilisés régulièrement par les modélisateurs moléculaires.

Tableau 02 : Les principaux programmes de docking moléculaire

Nom	Editeur	Site Internet
<b>AutoDock</b>	Scripps	<a href="http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/">http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/</a>
<b>Dock</b>	UCSF	<a href="http://dock.compbio.ucsf.edu/">http://dock.compbio.ucsf.edu/</a>
<b>FlexX</b>	BioSolveIT	<a href="http://www.biosolveit.de/FlexX/">http://www.biosolveit.de/FlexX/</a>
<b>Fred</b>	OpenEyes	<a href="http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html">http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html</a>
<b>Glide</b>	Schrödinger	<a href="http://www.schrodinger.com/Products/glide.html">http://www.schrodinger.com/Products/glide.html</a>
<b>Gold</b>	CCDC	<a href="http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/">http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/</a>
<b>ICM</b>	Molsoft	<a href="http://www.molsoft.com/products.html">http://www.molsoft.com/products.html</a>
<b>LigandFit</b>	Accelrys	<a href="http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html">http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html</a>
<b>Surflex</b>	Biopharmics	<a href="http://www.biopharmics.com/products.html">http://www.biopharmics.com/products.html</a>

Ces méthodes utilisent toutes le principe de complémentarité stérique (Dock, Fred) ou d'interactions moléculaires (AutoDock, FlexX, Glide, Gold, ICM, LigandFit, Surflex) afin de placer un ligand dans le site actif d'une cible et le calcul d'énergie du complexe. [49]

Ces programmes reposent le plus souvent sur des algorithmes spécifiques (Algorithme génétique, Recuit Simulé...), leur protocole est composé de 2 étapes essentielles *Docking/Scoring*.

Pour accomplir la tâche de docking, les outils d'amarrage moléculaire vont générer une série de poses différentes de liaison au ligand et en utilisant une fonction de notation « *scoring* » pour évaluer les affinités de liaison de ligand pour les poses générées afin de déterminer le meilleur mode de liaison. [49]

La plupart des programmes existants essaient de déterminer la géométrie du complexe macromolécule-ligand. L'algorithme de base tient essentiellement en trois points :

- Définir une géométrie du complexe.
- Évaluer la qualité de cette géométrie.
- Recommencer en classant les géométries.

Une simulation de Docking comprend essentiellement deux étapes le *searching* et le *scoring*.

La première sert à trouver et sélectionner des géométries possibles pour le complexe en plaçant le ligand dans le site actif de la protéine. Elle est utile pour échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) éventuelles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables. Cette étape est le plus souvent exécutée de manière automatisée à l'aide d'un algorithme de docking, ce qui améliore la vitesse et précision des simulations. La seconde consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine dans chacun des complexes sélectionnés lors de l'étape précédente.

Cette tâche est accomplie par des outils informatiques nommés fonctions de score. Celles-ci évaluent d'abord les différentes contributions énergétiques pour la

stabilisation des complexes protéine-ligand, et les ordonnent ensuite, pour permettre l'identification des modes d'interactions les plus probables. [50-51]

Pour faciliter les calculs, la majorité des logiciels de docking ne prennent en compte que la flexibilité du ligand, la protéine est considérée entité rigide.

#### ❖ **Searching**

Il existe plusieurs méthodes de recherche de l'espace conformationnel, celles basées sur la complémentarité géométrique d'une part et celles fondées sur la complémentarité atomique d'autre part. Elles utilisent différents algorithmes afin de trouver le meilleur positionnement du ligand au sein de la cavité enzymatique. [52]

#### ❖ **Scoring**

Les résultats du docking consistent le plus souvent en différentes poses du ligand dans le site d'interaction, correspondant à plusieurs conformations favorables que le ligand peut adopter. Les méthodes de "scoring" permettent d'évaluer l'énergie de liaison du complexe formé et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking.

Ce score permettra d'une part de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées, mais également de classer la meilleure pose de différents ligands pour identifier les meilleurs d'entre eux.

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. [53]

## **7. EVALUATION DES PROGRAMMES DE DOCKING**

Les performances d'un programme de docking sont évaluées en termes de capacité à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux. Le mieux possible signifie que la valeur du RMSD (Root Mean Square Deviation) entre la pose du ligand calculée par le logiciel et la conformation dans le complexe expérimental est la plus petite possible. Le positionnement, c'est-à-dire l'identification correcte du site de liaison sur la protéine, l'orientation et la conformation du ligand influent sur la valeur du RMS

- ✓ Le coefficient de corrélation « r »

CHAPITRE 3:  
MATERIEL ET  
METHODES

## 1. MATERIEL

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

### 1.1. Micro-ordinateurs

Dans notre étude, nous avons utilisé deux micro-ordinateurs présentant les performances suivantes :

- Un PC HP avec 4GO de RAM, 320 GB HDD et une vitesse de 2,53 GHz.
- Un PC SAMSANG avec 2GO de RAM, 220 GB HDD et une vitesse de 2;20 GHz.

### 1.2. Programmes

- **ArgusLab v4.0.1,2003**: logiciel de docking et de construction moléculaire.
- **Surflex-dock v 1.3, 2005** : Logiciel principal de docking.
- **Open babel v2.3.0** :c'est un programme libre visant à faciliter l'iner conversion des données chimiques d'un format à un autre de fichiers de divers types (mol2,pdb.....)
- **VMD v 1.9.1** : VMD est un programme de visualisation moléculaire pour l'affichage, l'animation, et l'analyse de grands systèmes biomoléculaires utilisant des graphiques 3-D et le script intégré. VMD prend en charge les ordinateurs fonctionnant sous Windows, est distribué gratuitement, et inclut le code source.
- **MSViewer v 4.2** : programme de visualisation des molécules.

Nous avons également utilisé :

- **Le réseau internet** : comme outil principal pour le téléchargement des programmes, des complexes et des ligands dont on a besoin
- **Une banque de données appelée la PDB (Protein Data Bank)** : c'est la principale source de données de biologie structurale, elle permet en particulier d'accéder à des structures 3D de protéines d'intérêt pharmaceutique.Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN. [54]
- **La pubChem** est une banque de données américaine de molécules chimique gérée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI) . La PubChem répertoire actuellement plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques sont gratuitement accessibles via Internet. [55]

## 2. METHODES

### 2.1. Banque de données protéiques « Protein Data Bank »

Pour réaliser le docking il faut avoir les structures dont on a besoin et pour cela il faut consulter la PDB.

Ces dernières se différencient par :

- ❖ la source du complexe Cox-2 : *Homo sapiens*..... ect
- ❖ la nature du ligand intervenant dans le complexe : Naproxen,Aspirine.....ect

La Cox-2 faisant l'objet de notre étude ,a été téléchargée sous format pdb via la banque de donnée protéine data banque (PDB) ,cette dernière nous a proposé 91 conformations 3D de Cox-2 parmi lesquelles nous avons choisi le complexe ayant pour code 3NT1 ,car il s'agit d'une structure correctement définie avec une bonne résolution 1.73 Å°.

## **2.2.Le protocole d'utilisation des logiciels**

### **2.2.1. ArgusLab**

Après téléchargement, le complexe Cox-2-ligand apparaît sur l'écran. Les étapes suivantes de docking sont nécessaires :

#### **➤ Préparation du ligand**

- Sélectionner le ligand et éliminer tout le reste : la protéine, le métal...
- Ajouter les hydrogènes
- Faire une copie de ce ligand
- Le 1er ligand va servir de référence tandis que le 2ème sera celui qui va être utilisé pour le docking.

#### **➤ Création du site actif**

En sélectionnant le ligand de référence et en cliquant sur l'option appropriée, les divers acides aminés du site actif de l'enzyme apparaissent sur l'écran.

#### **➤ Arrimage du ligand dans le site actif**

Le choix de l'option "Calcul/dock a ligand in the binding site" dans le menu permet de lancer les calculs.

#### **➤ Lecture des résultats**

Après quelques secondes, nous pouvons observer sur l'écran le ligand qui vient se placer dans le site actif de l'enzyme. La meilleure énergie d'interaction est alors donnée directement sur l'écran ainsi que le temps de calcul. Le RMSD est déterminé en sélectionnant simultanément le ligand de référence et le ligand arrimé et en choisissant l'option " calcul du RMSD ".

#### **✓ La construction des molécules**

Arguslab permet de construire de nouvelles molécules et de modifier celles existant déjà dans la littérature, pour mieux comprendre comment construire une molécule on peut consulter "tutorials" en cliquant sur help/tutorials and FAQs, un sommaire contenant les principaux titres apparaîtra, ensuite cliquer sur "molecule builder".

### **2.2.2. Surflex**

Pour réaliser l'arrimage il faut passer par :

- ❖ **La séparation de la protéine et du ligand** : pour cela il y a deux méthodes, l'une consiste à utiliser le fichier wordpad c'est-à-dire que les constituants des molécules apparaissent sous format texte, et l'autre c'est la technique que nous

avons choisie et qui est plus rapide, elle consiste en l'utilisation du logiciel Arguslab :

1. Cliquer sur le signe + pour obtenir le contenu du complexe (les chaînes de la protéine, les ligands et les molécules d'eau).
2. Pour obtenir la protéine seule il faut garder l'une des chaînes et supprimer le reste.
3. Pour obtenir le ligand seul il faut garder l'un des ligands de la même chaîne et supprimer le reste.
4. Enregistrer les modifications sous format pdb et les renommer en ajoutant la lettre P pour la protéine et L pour les ligands.

❖ **Réalisation du docking** : en utilisant l'invite de commandes MS Dos :

1. Création du site d'interaction (Protomol) en lançant la commande suivante :  
**Surflex-dock proto ligand.pdb proteine.pdb pl**
2. Le docking :

**Surflex-dock dock ligand.pdb pl-protomol.mol2 proteine.pdb**

3. Le calcul de RMS :

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

4. En cas de l'obtention d'un rms supérieur à 2 et inférieur ou égal à 3, on peut lancer la commande suivante pour optimiser le résultat.

**Surflex-dock oprms final-0.mol2 ligand.pdb**

❖ **La visualisation** :

Après l'arrimage vient l'étape de la visualisation par le biais de MSViewer :

1. Cliquer sur file/open dans la barre des menus pour ouvrir les différents fichiers :

- ✓ La protéine.
- ✓ Le ligand de référence.
- ✓ Le final-0.
- ✓ L'optrms dans certains cas.

2. Changer la couleur du ligand de référence (vert), le final-0 (violet), oprms (bleu)

3. Cacher les hydrogènes de la protéine en cliquant sur tools /hydrogens /hide dans la barre des menus.

4. Mettre les fenêtres verticalement en cliquant sur window/tile vertical dans la barre des menus pour visualiser le tout.

5. Copier et coller au niveau de la protéine le ligand de référence, final-0 et l'optrms(en cas d'une optimisation du RMSD) pour comparer leur superposition au niveau du site d'interaction.

6. Enregistrer les résultats des modifications effectuées et les renommer.

### **2.2.3. Open babel**

La conversion du format pdb en format mol2 en utilisant le logiciel Open Babel :

1. Ouvrir le programme , choisir le fichier à convertir en sélectionnant.
2. S'assurer du format d'entrée (input format ) pdb et du format de sortie (output format) mol2.
3. Après l'accès aux dossiers qui contiennent la protéine et le ligand , nous observons leurs contenu s'afficher sur l'écran.
4. Cocher la case Add Hydrogens appropriate for pH pour ajouter les hydrogènes.
5. Cliquer sur le bouton Convert.

### **2.3. Le test de fiabilité des logiciels**

Deux programmes de docking sont utilisés : Arguslab (v 4.0.1 2003), Surflex (v1.3, 2005) ont été testés sur 204 complexes protéines-ligands tirés de la PDB.

Les performances d'un programme de docking peuvent être jugées au moyen de différents critères : détermination du RMSD suivi d'une visualisation et du coefficient de corrélation.

#### **2.3.1. RMSD (root mean square deviation)**

Correspond à la moyenne de la déviation de chacun des atomes par rapport à ceux de la molécule d'origine.

Le mieux possible signifie que la valeur du RMSD entre la pose du ligand calculée par le logiciel et la conformation dans le complexe expérimental est la plus petite possible. Le positionnement, c'est-à-dire l'identification correcte du site de liaison sur la protéine, l'orientation et la conformation du ligand influent sur la valeur du RMSD.

Le ratio admis est une différence maximum de deux angströms au-delà de laquelle la Prédiction est considérée comme non pertinente.

La norme actuelle pour évaluer les performances d'un programme de docking est de faire un test à partir de plusieurs centaines de complexes protéines-ligands cristallisés. [56-57]

#### **2.3.2. Coefficient de corrélation**

Le coefficient de corrélation de *Pearson* permet d'évaluer l'intensité et le sens de la relation linéaire entre deux séries de données provenant de l'échantillonnage de deux variables métriques.

Le coefficient de corrélation indique le degré de relation linéaire entre les deux séries de données, et il prend des valeurs situées entre  $-1$  et  $1$ . S'il n'y a pas de relation linéaire entre les deux séries de données, le coefficient de corrélation est très proche de zéro, et on dira que les deux variables ne sont pas corrélées. Dans ce cas, il pourrait tout de même y avoir une relation entre les deux variables, mais alors elle ne sera pas linéaire.

Le signe du coefficient de corrélation indique le sens de la corrélation: s'il est positif, la valeur d'une des variables tend à augmenter en même temps que celle de l'autre variable, s'il est négatif, la valeur d'une variable tend à diminuer quand celle de l'autre augmente. [58]

La liste des complexes protéines-ligands testés sera retrouvée dans l'annexe 1.

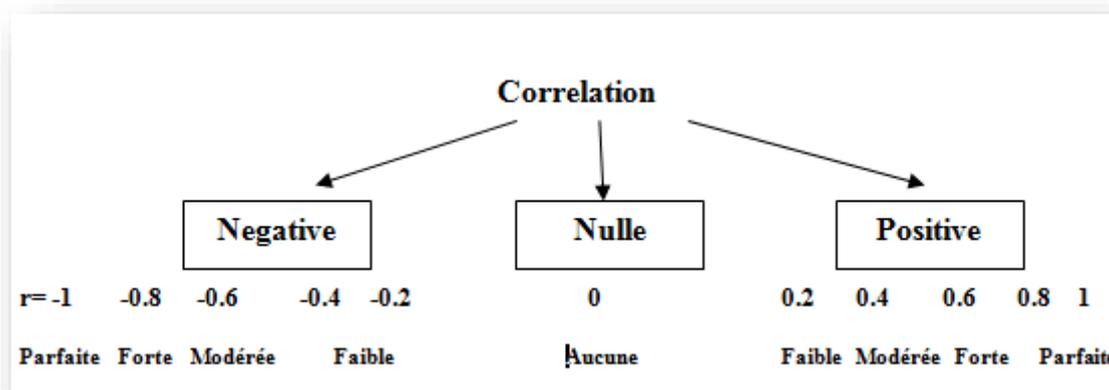


Figure 11: les différents valeurs de r

### 3. INHIBITION DE L'ENZYME DU COMPLEXE 3NT1

#### 3.1.Choix du complexe 3NT1

Parmi les 91 complexes de la Cyclo-oxygénase 2 (Cox-2) trouvés dans la PDB, nous avons choisi le complexe 3NT1 en raison de sa bonne résolution ( $1.73\text{\AA}$ ), sa concentration inhibitrice ( $IC_{50} = 900\text{ nM}$ ), son bon RMSD ( $0.427$ ) et sa bonne affinité obtenue par Surflex ( $8.71M^{-1}$ ) par rapport aux autres complexes testés, son ligand est le NPS.

L'inhibiteur considéré dans cette étude est le Naproxen, inhibiteur de la Cox-2 selon la littérature.



**Figure12 :La structure cristallographique du complexe 3NT1.Générée par la PDB**

### **3.2.Filtrage ADME (règle de Lipinski « 1997 ») :**

En 1997, **Lipinski** a défini un ensemble de propriétés physico-chimiques permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure 2D. Selon cette règle, un composé possède toutes les chances d'être biodisponible oralement s'il respecte au moins 3 des 5 critères suivants :

- ❖ Ne possède pas plus de **5 donneurs** de ponts hydrogène (OH et NH).
- ❖ Ne possède pas plus de **10 accepteurs** de ponts hydrogène (O et N).
- ❖ Possède une masse moléculaire (**PM**) inférieure à 500 da ( $< 83 \times 10^{-23}$  g)
- ❖ Possède un coefficient de partition octanol/eau (**log P**) ou une lipophile entre -2 et 5.
- ❖ Possède un nombre de **liaisons rotables** inférieur à 15 [59]

Dans notre travail, ces paramètres ont été calculés en utilisant le serveur **Molinspiration** se trouvant en réalisant les étapes suivantes sur le site web :

« <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties> »

- ✓ Conversion du format du fichier de nos inhibiteurs de **.pdb** en format **.smi** (smiles) par l'utilisation de logiciel **Open babel** ou désiner l'inhibiteur dans la case de dessin.
- ✓ Ouverture du site web indiqué au-dessus.
- ✓ Entrer l'inhibiteur dans la case « **Enter Smiles** ».
- ✓ Click sur le bouton « **calculate properties** ».

### **3.3.Calcul des interactions « enzyme- composés substitués »**

Pour étudier les interactions entre l'enzyme et l'inhibiteur nous avons utilisé 2 méthodes :

✓ Construction des molécules :

Dans le but de développer de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de Cox-2, nous avons utilisé comme structure de départ, le meilleur inhibiteur étudié le Naproxen . Afin d'améliorer l'affinité de Naproxen , plusieurs groupements fonctionnels présentant la capacité d'engager des liaisons hydrogène avec le site actif de l'enzyme ont été introduits sur différentes positions de la molécule. Il s'agit des fonctions : Carboxyl (-COOH) ; amine (-NH<sub>2</sub>) ; amide (CONH<sub>2</sub>), hydroxyle(OH),methoxyl (OCH<sub>3</sub>),aldehyde (CHO),methyl (CH<sub>3</sub>). (voir figure 14)

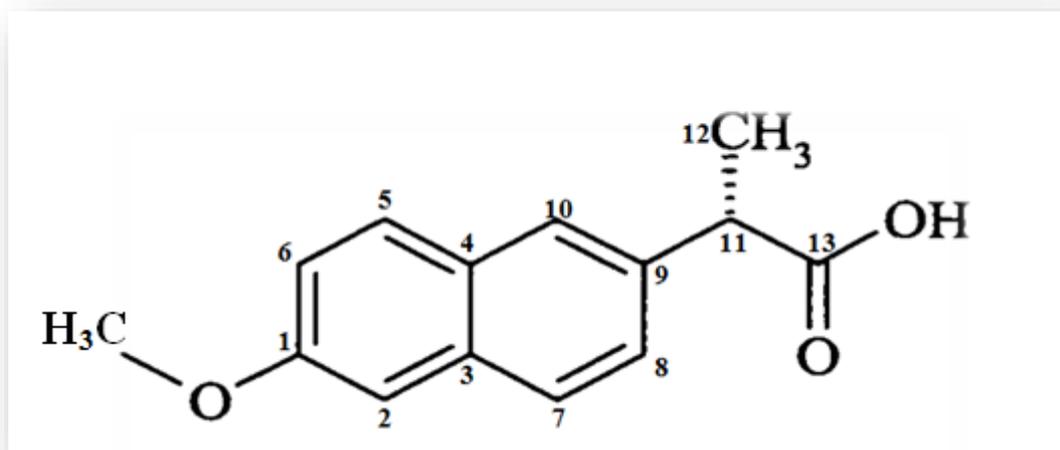


Figure 13:Structure du Naproxen

3.3.1. Les mono-substitutions :

Tableau 03: Les mono-substitutions du Naproxen

Mono substitution								
composé	C1	C2	C5	C6	C7	C8	C10	C13
1	NH <sub>2</sub>							
2		NH <sub>2</sub>						
3			NH <sub>2</sub>					
4				NH <sub>2</sub>				
5					NH <sub>2</sub>			
6						NH <sub>2</sub>		
7							NH <sub>2</sub>	
8								NH <sub>2</sub>
9	COOH							
10		COOH						
11			COOH					
12				COOH				
13					COOH			
14						COOH		
15							COOH	

16	OH							
17		OH						
18			OH					
19				OH				
20					OH			
21						OH		
22							OH	
23	CONH <sub>2</sub>							
24		CONH <sub>2</sub>						
25			CONH <sub>2</sub>					
26				CONH <sub>2</sub>				
27					CONH <sub>2</sub>			
28						CONH <sub>2</sub>		
29							CONH <sub>2</sub>	
30								CONH <sub>2</sub>
31		OCH <sub>3</sub>						
32			OCH <sub>3</sub>					
33				OCH <sub>3</sub>				
34					OCH <sub>3</sub>			
35						OCH <sub>3</sub>		
36							OCH <sub>3</sub>	
37								OCH <sub>3</sub>
38	COH							
39		COH						
40			COH					
41				COH				
42					COH			
43						COH		
44							COH	
45	CH <sub>3</sub>							
46		CH <sub>3</sub>						
47			CH <sub>3</sub>					
48				CH <sub>3</sub>				
49					CH <sub>3</sub>			
50						CH <sub>3</sub>		
51							CH <sub>3</sub>	

3.3.2. Les bi-substitutions

Tableau 04: Les bi-substitutions du Naproxen.

BI SUBSTITUTION								
Composé	C1	C2	C5	C6	C7	C8	C10	C13
52	OH	NH <sub>2</sub>						
53	NH <sub>2</sub>	COOH						
54		COOH	NH <sub>2</sub>					
55		COOH		NH <sub>2</sub>				
56			COOH		NH <sub>2</sub>			
57	OH		NH <sub>2</sub>					

58	OH			NH <sub>2</sub>				
59	OH				NH <sub>2</sub>			
60	OH					NH <sub>2</sub>		
61	OH						NH <sub>2</sub>	
62		COOH	OCH <sub>3</sub>					
63		COOH				OCH <sub>3</sub>		
64		COOH		OCH <sub>3</sub>				
65		COOH			OCH <sub>3</sub>			
66		COOH					OCH <sub>3</sub>	
67	OH		CONH <sub>2</sub>					
68		OH	CONH <sub>2</sub>					
69			CONH <sub>2</sub>	OH				
70			CONH <sub>2</sub>		OH			
71			CONH <sub>2</sub>			OH		
72			CONH <sub>2</sub>				OH	
73	OH	OH						
74	OH				OH			
75		OH			OH			
76			OH		OH			
77				OH	OH			
78					OH	OH		
79					OH		OH	
80	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>						
81	NH <sub>2</sub>		NH <sub>2</sub>					
82	NH <sub>2</sub>			NH <sub>2</sub>				
83	NH <sub>2</sub>				NH <sub>2</sub>			
84	NH <sub>2</sub>					NH <sub>2</sub>		
85	NH <sub>2</sub>						NH <sub>2</sub>	
86	NH <sub>2</sub>							NH <sub>2</sub>
87	CONH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>						
88		CONH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>					
89	CONH <sub>2</sub>			OCH <sub>3</sub>				
90			CONH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>				
91			CONH <sub>2</sub>		OCH <sub>3</sub>			
92					CONH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>		
93							CONH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>
94	COOH	NH <sub>2</sub>						
95	COOH		NH <sub>2</sub>					
96	COOH			NH <sub>2</sub>				
97	COOH				NH <sub>2</sub>			
98	COOH					NH <sub>2</sub>		
99	COOH						NH <sub>2</sub>	
100	OH	OCH <sub>3</sub>						
101	OH		OCH <sub>3</sub>					
102	OH			OCH <sub>3</sub>				
103	OH				OCH <sub>3</sub>			
104	OH					OCH <sub>3</sub>		
105	OH						OCH <sub>3</sub>	
106	OH	COOH						
107	OH		COOH					

108	OH			COOH				
109	OH				COOH			
110	OH					COOH		
111	OH						COOH	
112	OH	CONH <sub>2</sub>						
113	OH			CONH <sub>2</sub>				
114	OH				CONH <sub>2</sub>			
115	OH					CONH <sub>2</sub>		
116	OH						CONH <sub>2</sub>	
117	OH							CONH <sub>2</sub>
118	CONH <sub>2</sub>		CONH <sub>2</sub>					
119	CONH <sub>2</sub>			CONH <sub>2</sub>				
120	CONH <sub>2</sub>	CONH <sub>2</sub>						
121	CONH <sub>2</sub>					CONH <sub>2</sub>		
122	CONH <sub>2</sub>				CONH <sub>2</sub>			
123	CONH <sub>2</sub>						CONH <sub>2</sub>	
124	H							
125		CONH <sub>2</sub>	CONH <sub>2</sub>					CH <sub>3</sub>
126		CONH <sub>2</sub>		CONH <sub>2</sub>				
127		CONH <sub>2</sub>			CONH <sub>2</sub>			
128		CONH <sub>2</sub>				CONH <sub>2</sub>		
129		CONH <sub>2</sub>					CONH <sub>2</sub>	
130		CONH <sub>2</sub>						CONH <sub>2</sub>
131	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>						
132	CH <sub>3</sub>		CH <sub>3</sub>					
133	CH <sub>3</sub>			CH <sub>3</sub>				
134	CH <sub>3</sub>				CH <sub>3</sub>			
135	CH <sub>3</sub>					CH <sub>3</sub>		
136	CH <sub>3</sub>						CH <sub>3</sub>	
137		CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>					
138		CH <sub>3</sub>		CH <sub>3</sub>				
139		CH <sub>3</sub>			CH <sub>3</sub>			
140		CH <sub>3</sub>				CH <sub>3</sub>		
141		CH <sub>3</sub>					CH <sub>3</sub>	
142			CH <sub>3</sub>			CH <sub>3</sub>		
143				CH <sub>3</sub>		CH <sub>3</sub>		
144					CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>		
145						CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	
146	COOH					CH <sub>3</sub>		
147		COOH				CH <sub>3</sub>		
148			COOH			CH <sub>3</sub>		
149				COOH		CH <sub>3</sub>		
150					COOH	CH <sub>3</sub>		
151						CH <sub>3</sub>	COOH	
152	OH					CH <sub>3</sub>		
153		OH				CH <sub>3</sub>		
154			OH			CH <sub>3</sub>		
155				OH		CH <sub>3</sub>		
156					OH	CH <sub>3</sub>		
157						CH <sub>3</sub>	OH	

158	NH <sub>2</sub>					CH <sub>3</sub>		
159		NH <sub>2</sub>				CH <sub>3</sub>		
160			NH <sub>2</sub>			CH <sub>3</sub>		
161				NH <sub>2</sub>		CH <sub>3</sub>		
162					NH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>		
163						CH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	
164						CH <sub>3</sub>		NH <sub>2</sub>
165		OCH <sub>3</sub>				CH <sub>3</sub>		
166			OCH <sub>3</sub>			CH <sub>3</sub>		
167				OCH <sub>3</sub>		CH <sub>3</sub>		
168					OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>		
169						CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	
170						CH <sub>3</sub>		OCH <sub>3</sub>
171	COH					CH <sub>3</sub>		
172		COH				CH <sub>3</sub>		
173			COH			CH <sub>3</sub>		
174				COH		CH <sub>3</sub>		
175					COH	CH <sub>3</sub>		
176						CH <sub>3</sub>	COH	
177	CONH <sub>2</sub>					CH <sub>3</sub>		
178		CONH <sub>2</sub>				CH <sub>3</sub>		
179			CONH <sub>2</sub>			CH <sub>3</sub>		
180				CONH <sub>2</sub>		CH <sub>3</sub>		
181					CONH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>		
182						CH <sub>3</sub>	CONH <sub>2</sub>	
183						CH <sub>3</sub>		CONH <sub>2</sub>
184	COOH	CH <sub>3</sub>						
185	COOH		CH <sub>3</sub>					
186	COOH			CH <sub>3</sub>				
187	COOH				CH <sub>3</sub>			
188	COOH						CH <sub>3</sub>	
189	COOH							CH <sub>3</sub>

✓ Les composés similaires :

A partir d'une banque spécifique PubChem . Nous avons téléchargé 72 similaires de notre inhibiteur le Naproxen

En utilisant Open Babel, nous avons converti ces derniers du format « sdf » en format « mol2 » pour faire le docking

La liste des similaires utilisés est mentionnée dans l'annexe 3 .

### 3.3.4. La création de la cavité du site actif de Cox-2 par VMD

1. Cliquer sur file → New molécule → cliquer sur Browser puis sur load pour ouvrir le fichier de la protéine.

2. Cliquer sur Graphics puis sur Representation → un tableau va apparaître → Cliquer sur Creat Repertoire → cliquer sur Selection (sélectionner la protéine) →

une liste de « Keywords » va apparaitre → cliquer sur Chain A puis Entrer ( cliquer deux fois pour afficher seulement les acides aminés de la chain A) .

3. Cliquer sur Creat Repertoire pour créer un nouveau répertoire → entrer la commande « **protein chain A and same residue as within 6 of resname NPS** » puis Entrer → dans une 2<sup>ème</sup> fenêtre les molécules d’eaux et les autres composées sont éliminés → seulement les acides aminés de la Chain A va apparaitre .

4. Changer le style d’affichage de la cavité → Cliquer sur Draw style → choisir par exemple le style « Licorice »→ la forme est changé.

5. Enregistrer le fichier crée → cliquer sur Selection→ file → save cordinate → enregistrer sous format .pdb .

#### **3.3.4.La visualisation des liaisons hydrogènes établies entre le ligand et les acides aminés du site actif**

- ❖ Ouvrir le fichier de ligand du final-0, ou de l’optrms via MSViewer.
- ❖ Sélectionner le ligand, puis le copier et le coller au niveau du site d’interaction de la protéine en cliquant sur Edit/Copy puis Paste dans la barre des menu, ou bien appuyer sur le raccourcis Ctrl+ C puis Ctrl+V.
- ❖ Sélectionner le ligand une fois collé dans le site actif, puis cliquer sur tools/Monitor/Hbonds pour visualiser les liaisons hydrogènes établies entre le ligand et les acides aminés du site d’interaction.
- ❖ Cliquer sur chacun des atomes reliés avec le ligand par un trait discontinu en vert, puis marquer cet acide aminé en cliquant par le
- ❖ bouton droit de la souris et choisir l’option Label : changer la couleur et s’assurer des options suivante résidu, Name ensuite cliquer sur les boutons Apply/Ok.
- ❖ L’acide aminé sélectionné apparait en bas de l’écran.

CHAPITRE 4:  
RÉSULTATS ET  
DISCUSSION

Notre démarche consiste à tester, dans un premier temps, la fiabilité des programmes de docking moléculaire « Arguslab et Surfex » utilisés dans cette étude dans le but de la découverte de nouveaux inhibiteurs de la Cyclo-oxygénase 2 (Cox-2).

Dans un deuxième temps nous nous sommes attelés à mieux comprendre le mécanisme d'interaction mis en jeu entre la Cox-2 et l'inhibiteur connu (le Naproxen).

Dans la dernière partie, en nous appuyant sur les résultats précédents, nous avons tenté de modéliser de nouveaux inhibiteurs, dérivés du Naproxen, pouvant inhiber plus fortement la Cyclo-oxygénase 2.

## **1. TESTS DE FIABILITE DES PROGRAMMES DE DOCKING MOLECULAIRE :**

Avant d'aborder l'étude de l'inhibition de la Cox-2 par diverses molécules, à savoir le Naproxen et ses dérivés mono, bi-substitués et leurs similaires, il faut vérifier si le protocole que nous allons utiliser est correct. Nous avons jugé utile d'évaluer d'abord la performance des programmes Arguslab et Surfex par les trois tests suivants :

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

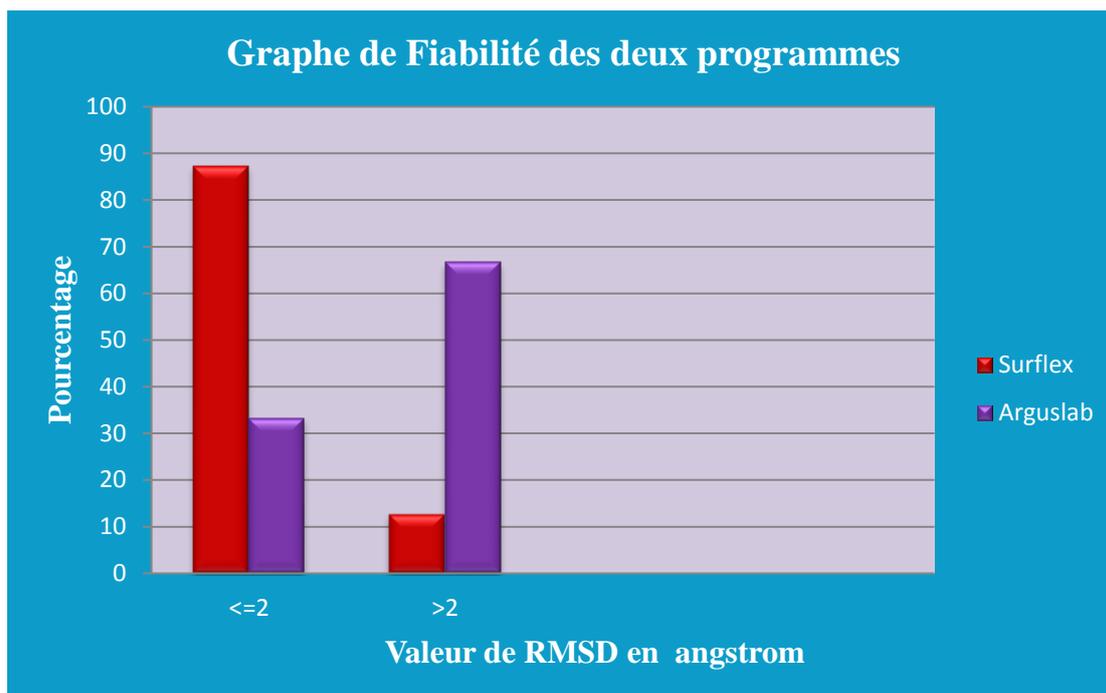
### **1.1. Le test RMSD**

La capacité d'un programme à faire correctement le docking moléculaire est habituellement jugée au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (root-mean-square deviation) du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure du cristal.

Les écarts quadratiques moyens entre la position du ligand du complexe cristallographique et celles des ligands amarrés par Surfex et Arguslab, ont été calculés. Une prédiction correcte est définie par un RMSD entre le mode d'interaction prédit et la structure cristalline, inférieur ou égal à 2Å°.

La performance des deux logiciels a été évaluée sur 204 complexes protéines-ligands (annexe 1) tirés de façon aléatoire de la PDB.

Dans les graphes suivants, les résultats sont donnés en pourcent (%), à deux intervalles de RMSD, pour les deux programmes : Arguslab, et Surfex.



**Figure 14 : Comparaison des résultats en % deux programmes à deux intervalles de RMSD(A°).**

A partir des résultats relevés des graphes, nous constatons que le programme Surfex est beaucoup plus fiable et reproduit bien les données expérimentales que le programme Arguslab.

En effet (87.25%) de résultats positifs pour Surfex et seulement(33.33%) pour Arguslab,

ce qui montre que le programme Surfex peut être utilisé dans la conception de nouvelles molécules biologiquement actives.

Ce programme a été utilisé par Chikhi.A en 2007, par Teniou en (2012) et ont obtenu de bons résultats, soit 88,4% et 85,8% respectivement. [45-60]

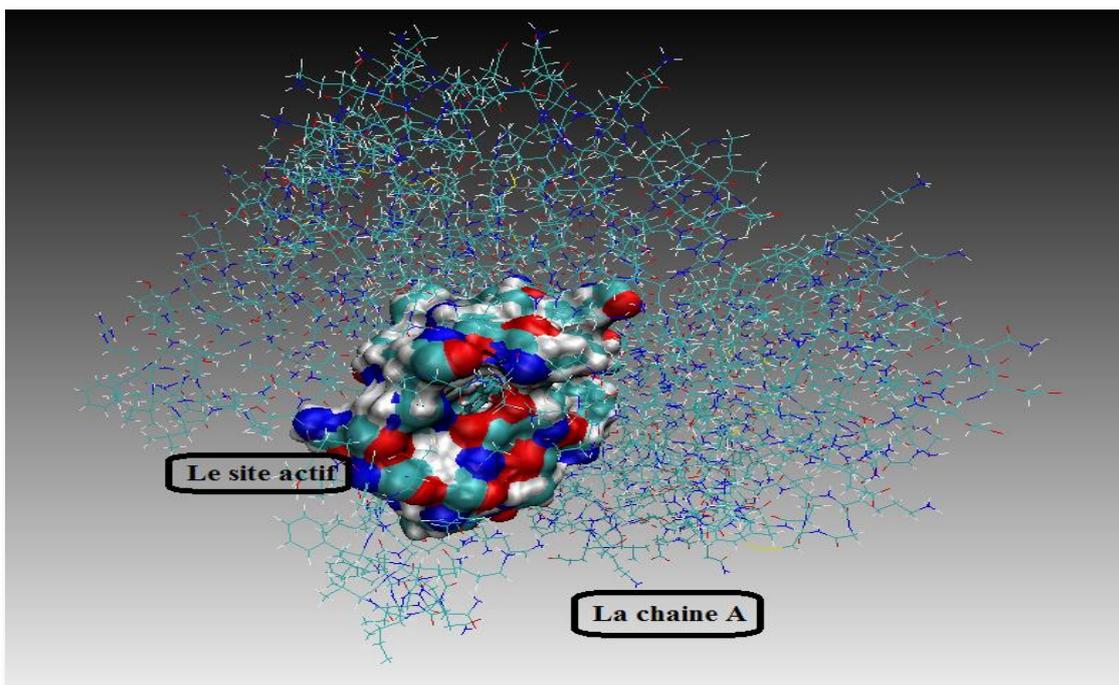
## 1.2.L'analyse visuelle

- **L'analyse visuelle de l'enzyme**

L'enzyme Cox-2 est constituée de 2 chaînes A et B. Dans notre étude, seule la chaîne A a été prise en compte car renfermant dans son site actif un ligand qui est le Naproxen : l'acide (S) – 6-méthoxy- $\alpha$ -méthyl-2-naphtalène-acétique.

Le site actif est constitué de 31 acides aminés dont 24 sont hydrophobes, conférant à la cavité sa haute hydrophobicité. Ces observations visuelles nous montrent la conformation bien détaillée du site actif de la Cox-2 (voir figure16).

La liste des acides aminés composant le site actif de Cox-2 sera retrouvé dans l'annexe 4.



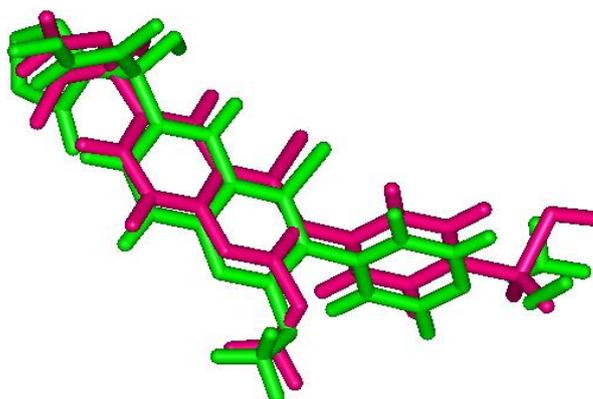
**Figure15 :Le positionnement du site actif dans la chaine A de la Cox-2**

- **Visualisation des complexes**

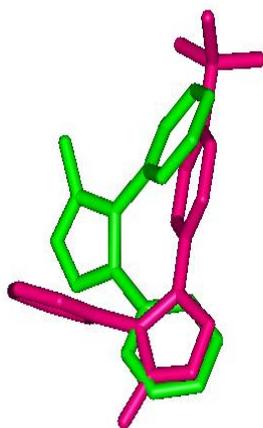
L'analyse Visuelle par Ms-Viewerlite4.2 faite à la suite du test RMSD, est une étape essentielle pour juger la performance du programme Surfex, elle nous permet de visualiser les résultats décrits par la valeur numérique RMSD.

Pour cela, il suffit de comparer, par simple superposition la conformation du même ligand, calculée par Surfex (final-0 en rose) à celle obtenue expérimentalement que l'on retrouve dans la PDB (en vert):

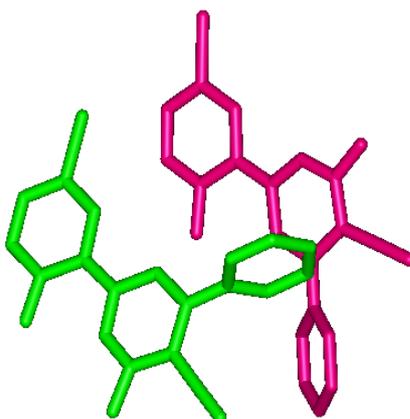
- ❖ Le meilleur 5UFO : N° 130 dans l'annexe 1, (voir figure 17)
- ❖ L'intermédiaire 5KIR : N° 69 dans l'annexe 1, (voir figure 18)
- ❖ Le mauvais 2OBJ : N° 29 dans l'annexe 1, (voir figure 19)



**Figure 16: Superposition de l'inhibiteur (coloré en vert) et du final-0 calculé par Surfex (Coloré en rose) du complexe 5UFO (RMSD=0,453Å).**



**Figure 17 :**Superposition de l'inhibiteur (coloré en vert) et du final-0 calculé par le Surfex(Coloré en rose) du complexe 5KIR (RMSD=3.081Å).



**Figure 18 :**Comparaison du positionnement de l'inhibiteur (coloré en vert) et du final-0 calculé par le Surfex(Coloré en rose) du complexe 2OBJ (RMSD=7.346Å°).

Dans le premier complexe, avec un RMSD de 0.453 Å, on obtient une bonne superposition de la solution du docking de la structure observée expérimentalement. De ce fait la superposition est presque parfaite (figure 16); dans le deuxième complexe, avec un RMSD de 3.081 Å elle est intermédiaire(figure 17);alors que dans le troisième complexe avec un RMSD de 7.346 Å le ligand arrimé est éloigné de ligand naturel (figure 18).

### 1.3.Le coefficient de corrélation (r)

- **Le coefficient de corrélation**

Le coefficient de corrélation linéaire (r) est obtenu en traçant la droite de régression linéaire donnant la corrélation entre l'affinité de l'inhibiteur pour l'enzyme calculée par Surfex et la valeur expérimentale de son IC50.

Le signe du coefficient de corrélation indique le sens de la corrélation: s'il est positif, la valeur d'une des variables tend à augmenter en même temps que celle de l'autre variable, s'il est négatif, la valeur d'une variable tend à diminuer quand celle de l'autre augmente.

**IC50** : est la concentration d'inhibiteur nécessaire pour atteindre 50% d'inhibition de l'enzyme.

Ce test a été réalisé sur 25 complexes (protéines-ligands) différents téléchargés à partir de la PDB dans le format pdb portant des codes différents.

Dans le tableau ci-dessous nous présentons les valeurs suivantes : IC50 issues de la littérature, les valeurs calculées de LogIC50 et les valeurs de l'affinité données par Surflex.

**Tableau05 : résultats de l'analyse par régression linéaire les différents complexes.**

Numéro du composé	Le code PDB	IC50 (nM)	Log IC <sub>50</sub>	Affinité (M <sup>-1</sup> )
1	1R5G	22	1.34	6.47
2	1YW9	19	1.27	4.69
3	1X70	18	1.25	4.59
4	1G2A	10	1.00	5.91
5	1G27	7	0.84	2.40
6	1S17	5	0.69	2.69
7	1XOE	40	1.6	6.19
8	3CHR	61	1.78	10.08
9	3CHS	17	1.23	7.26
10	3FMQ	11.1	1.04	2.57
11	3FMR	10.6	1.02	3.78
12	4FIK	5	0.69	4.02
13	3KWF	19	1.27	10.02
14	3D4I	32	1.50	11.17

Numéro du composé	Le code PDB	IC <sub>50</sub> (nM)	Log IC <sub>50</sub>	Affinité (M <sup>-1</sup> )
15	3E3U	13	1.11	7.68
16	3FMM	45	1.65	6.72
17	2WIH	45	1.65	8.31
18	3HV8	88	1.94	11.02
19	3GCP	60	1.77	10.06
20	3CCC	8	0.90	4.04
21	2FJP	8	0.90	10.46
22	2QBJ	50	1.69	8.39
23	2NNU	48	1.68	10.71
24	1XOG	41	1.61	7.39
25	2QTB	4.8	0.68	0.85

L'analyse par régression linéaire a permis d'obtenir la courbe de corrélation suivante

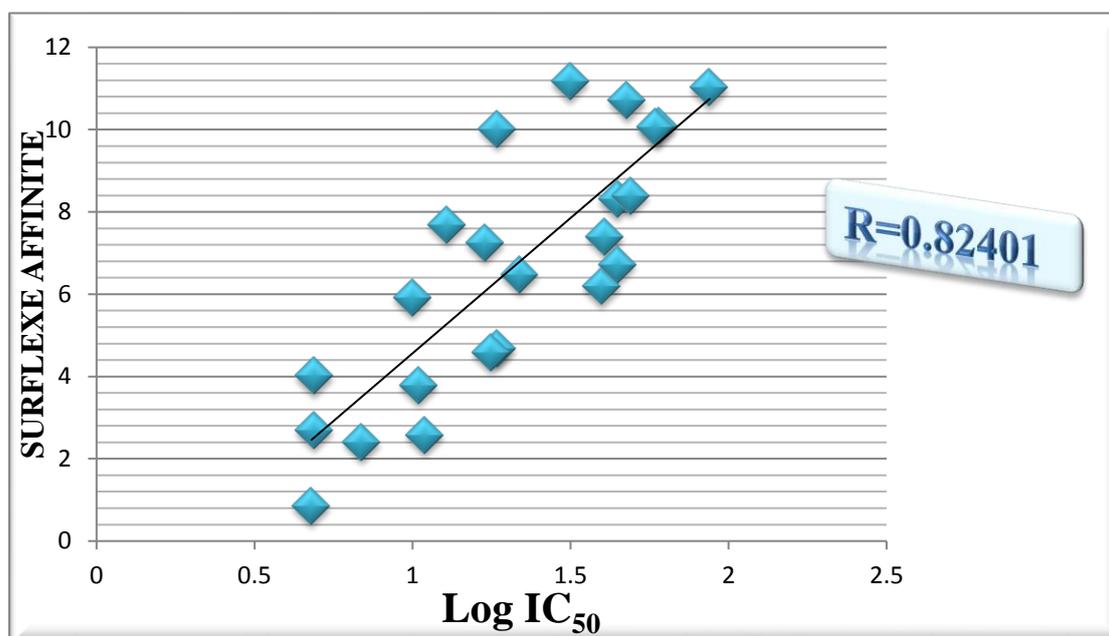


Figure 19 : Corrélation entre l'activité biologique (Log IC<sub>50</sub>) des différents complexes et leurs Affinités données par Surfex.

Le coefficient de corrélation « r » est égal à 0,82401. La valeur est supérieure à 0,5 ( $r \geq 0,5$ ). [61]

Ce coefficient montre donc qu'il ya une bonne corrélation entre les deux paramètres analysés, à savoir l'activité biologique représentée ici par Log IC<sub>50</sub> et les affinités données par Surfex.

Surflex établit une bonne corrélation, ce qui est en accord avec les résultats de Boucherit H. (2012), Mokrani E.H. (2012) soit respectivement 0,76 et 0,86. [62-63]

La détermination du coefficient de corrélation paraît être donc un excellent moyen pour tester la fiabilité du programme Surfex.

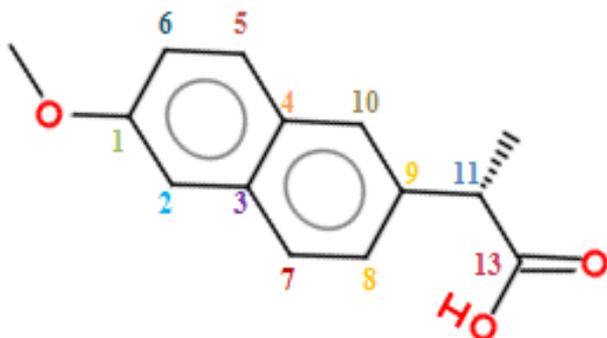
En conclusion nous retenons le programme Surfex pour poursuivre notre étude de docking moléculaire.

## 2. INHIBITION DE L'ENZYME DU COMPLEXE 3NT1

Dans la perspective de proposer de nouveaux inhibiteurs plus puissants de La Cox-2, nous avons pris le Naproxen : l'acide (S) -6-méthoxy- $\alpha$ -méthyl-2-naphtalène-acétique, un puissant anti-inflammatoire non stéroïdien non sélectif largement utilisé comme médicament de prescription et en vente libre en tant qu'inhibiteur de la Cox-2, comme structure de départ (voir figure 14) et nous avons réalisé de nombreuses substitutions (voir tableau 3 et 4).

Nous avons également testé certains similaires du Naproxen (voir l'annexe 3).

Les positions ciblées lors des substitutions sont numérotées dans la figure 21 :



**Figure 20 : Les positions ciblées lors de la substitution.**

Les résultats du docking entre la Cox-2 et les différents composés substitués ayant présenté des résultats intéressants sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 06 : Les affinités du Naproxen et des meilleurs composés substitués**

composés	Affinités ( $M^{-1}$ )
Le Naproxen	8.71
Composé 94	9.02
Composé 95	9.25

- **Règle de Lipinski :**

Avant d'entamer les interactions entre l'enzyme et l'inhibiteur étudié, il est nécessaire d'évaluer les paramètres permettant leur validation comme anti-inflammatoire

La règle de Lipinski est une règle générale pour évaluer la similarité avec le médicament ou déterminer si un composé chimique ayant une certaine activité pharmacologique ou biologique possède des propriétés qui le rendraient probablement une drogue active par voie orale chez l'homme.

La règle a été formulée par Christopher A. Lipinski en 1997, sur la base de l'observation selon laquelle la plupart des médicaments administrés par voie orale sont des molécules relativement petites et modérément lipophiles. [64-65]

La règle décrit les propriétés moléculaires importantes pour la pharmacocinétique d'un médicament dans le corps humain, y compris leur absorption, leur distribution, leur métabolisme et leur excrétion («ADME»). Cependant, la règle ne prédit pas si un composé est pharmacologiquement actif.

Ces propriétés ont été mesurées par le programme Molinspiration, il permet de dessiner des molécules ou donner leur formule smiles et de calculer les propriétés moléculaires importantes : LogP, la surface polaire, le nombre de donneurs et accepteurs de liaison hydrogène...etc.

### 2.1. Mono-substitution

Nous avons testé 52 complexes monosubstitués par différentes fonctions chimiques telles que : l'amine ( $NH_2$ ), le carboxyle ( $COOH$ ), l'hydroxyle ( $OH$ ).....

La monosubstitution par d'autres fonctions chimiques n'a pas pu améliorer l'affinité de la molécule étudiée. Seuls les composés 23 et 45 (substitués en position **C1** par la fonction amide ( $CONH_2$ ) et le groupement méthyl ( $CH_3$ ) respectivement), donnent des affinités d'interaction proches de celle observée par le Naproxen ( $8,71M^{-1}$ ) avec  $7,39 M^{-1}$  et  $7,47M^{-1}$  respectivement (voir figure 21)

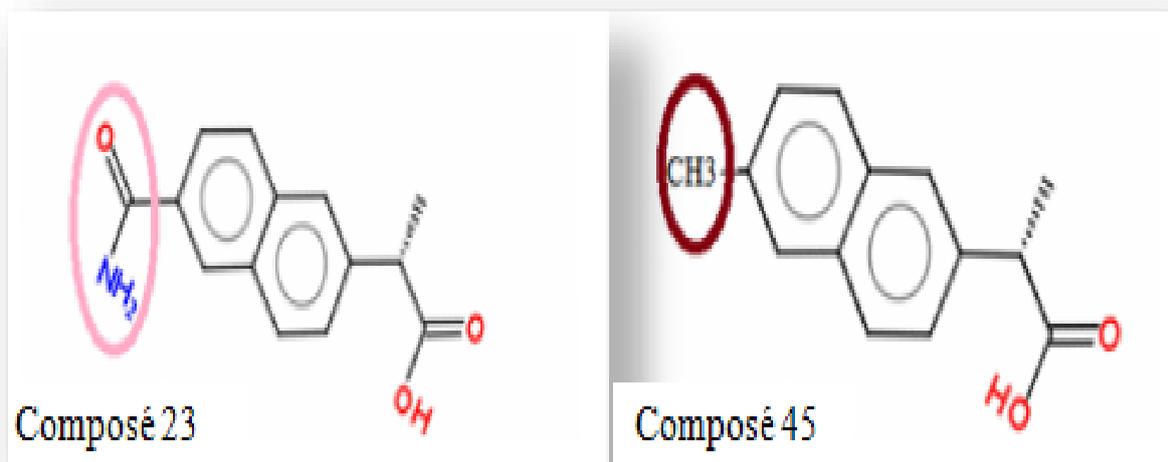


Figure 21 : Les meilleurs dérivés mono substitués (composé 23, composé45).

## 2.2. Bi-substitution

Nous avons testé 137 composés bi –substitués parmi lesquels 2 seulement présentent une amélioration de leur affinité d'interaction :le Composé 94 par une affinité égale à  $9,02 \text{ M}^{-1}$  et le composé 95 par  $9,25 \text{ M}^{-1}$ .(Voir figure 22)

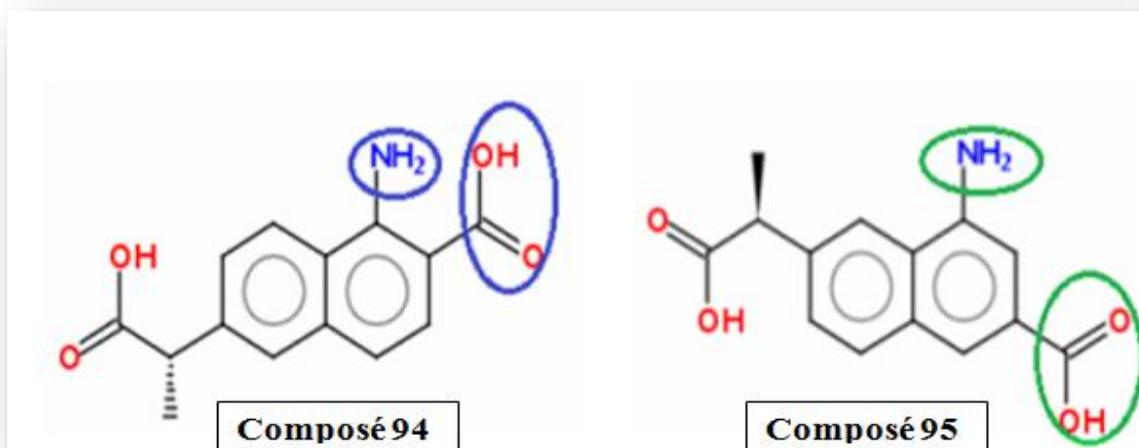


Figure 22 : Les meilleurs dérivés bi-substitués (composé 94 et composé95).

Le composé 94 est un composé qui a présenté une affinité ( $9.02 \text{ M}^{-1}$ ) supérieure à celle du Naproxen  $8.71 \text{ M}^{-1}$ . Par ailleurs le résultat indique que la substitution par un COOH en position C1 et un NH<sub>2</sub> en position C2 a légèrement amélioré l'affinité du Naproxen, contrairement aux autres fonctions où une baisse de l'affinité est observée.

Enfin, il faut souligner l'importance de la combinaison de la fonction carboxyle (COOH) en position C1 et de la fonction amine (NH<sub>2</sub>) en position C2 car l'utilisation d'autres groupements fonctionnels dans ces positions n'a pas pu améliorer l'affinité de la molécule étudiée.

```

C:\> Invite de commandes
Mconfs (final 73): 3 24 2424 2074
[ret_conf 6.40] [ret_conf 2.84] [ret_conf 4.01] [ret_conf 0.93] [ret_conf 2.46]
[ret_conf -1.10] [ret_conf 2.32] [ret_conf 2.81] [ret_conf 6.64] [ret_conf 1.62]
[ret_conf -0.59] [ret_conf 6.53] [ret_conf 4.11] [ret_conf 6.45] [ret_conf 6.95]
] [ret_conf 8.35] [ret_conf 2.42] [ret_conf 2.21] [ret_conf 6.44] [ret_conf 4.88]
] [ret_conf 7.08] [ret_conf 4.36] [ret_conf 2.99] [ret_conf 2.68] [ret_conf 3.61]
] [ret_conf 6.37] [ret_conf 1.71] [ret_conf 5.77] [ret_conf 4.13] [ret_conf 1.36]
] [ret_conf 4.97] [ret_conf 4.69] [ret_conf 7.90] [ret_conf 3.10] [ret_conf 0.20]
] [ret_conf 2.57] [ret_conf 6.44] [ret_conf 3.40] [ret_conf 4.99] [ret_conf 3.00]
] [ret_conf 4.28] [ret_conf -9.06] [ret_conf 3.26] [ret_conf 2.46] [ret_conf 0.6
5] [ret_conf 8.71] [ret_conf 4.99] [ret_conf 1.56] [ret_conf 6.08] [ret_conf 5.5
0] final-0: 9.25 crash -0.74 (self -0.12)
final-1: 9.10 (crash -0.54 (self -0.17))
final-2: 9.09 (crash -1.10 (self -0.17))
final-3: 9.08 (crash -0.76 (self -0.13))
final-4: 9.06 (crash -0.61 (self -0.14))
final-5: 9.04 (crash -0.61 (self -0.13))
final-6: 9.03 (crash -1.24 (self -0.17))
final-7: 8.94 (crash -1.19 (self -0.14))
final-8: 7.82 (crash -1.44 (self -0.50))
final-9: 7.72 (crash -1.37 (self -0.38))
C:\> CD ..
C:\>

```

Figure 23 : Affinité de composé 95 par le Surflex.

Dans le but de développer de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de la Cox-2, plusieurs groupements fonctionnels présentant la capacité d'engager des liaisons hydrogène avec le site actif de l'enzyme ont été introduits sur différentes positions de la molécule de départ (Naproxen) .

Le composé 95 est un composé qui a présenté une affinité ( $9,25 \text{ M}^{-1}$ ) supérieure à celle du Naproxen  $8,71 \text{ M}^{-1}$  et du composé 94  $9,02 \text{ M}^{-1}$ .

Les résultats indiquent que la substitution par un carboxyle (COOH) en position C1 et un NH<sub>2</sub> en position C5 simultanément a bien amélioré l'affinité du Naproxen, par rapport au composé 94 et contrairement aux autres fonctions chimiques où une baisse de l'affinité est observée.

Enfin, il faut souligner l'importance de la combinaison de la fonction carboxyle (COOH) en position C1 et la fonction amine (NH<sub>2</sub>) en position C5.

La liste des affinités des composés mono et bi-substitués testés sera retrouvée dans l'annexe 2.

### 2.3. Les composés similaires

Dans le but de retrouver d'autres molécules ayant une meilleure activité inhibitrice que le Naproxen, Nous avons effectué le docking moléculaire en utilisant 72 similaires de ce dernier.

Les meilleures affinités d'interaction sont celles des similaires 9 et 33 (voir figures 24 et 25) avec  $7,62 \text{ M}^{-1}$  et  $7,26 \text{ M}^{-1}$  respectivement; donc il n'y a pas eu d'amélioration du score mais ils s'en rapprochent et peuvent être considérés comme des inhibiteurs moyennement efficaces.

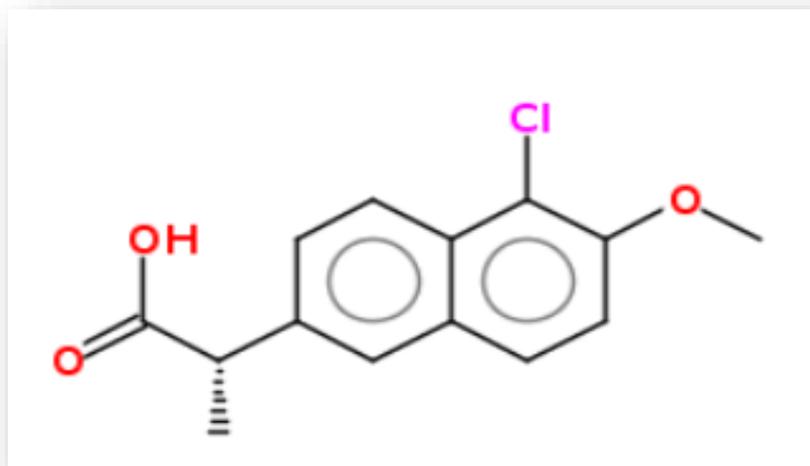


Figure 24 : La structure du similaire N° 9 CID: 13075209

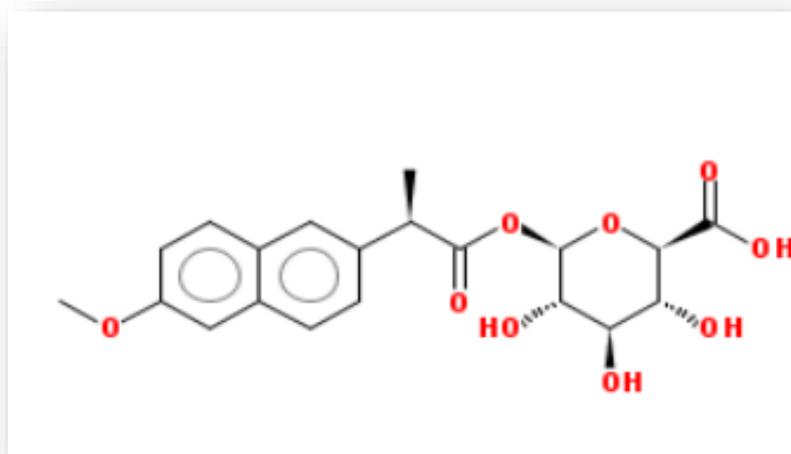


Figure 25 : La structure du similaire N° 33 CID: 46782448

La liste des affinités des similaires testés sera retrouvée dans l'annexe3.

#### 2.4. Conclusion

D'après les résultats obtenus, nous concluons que :

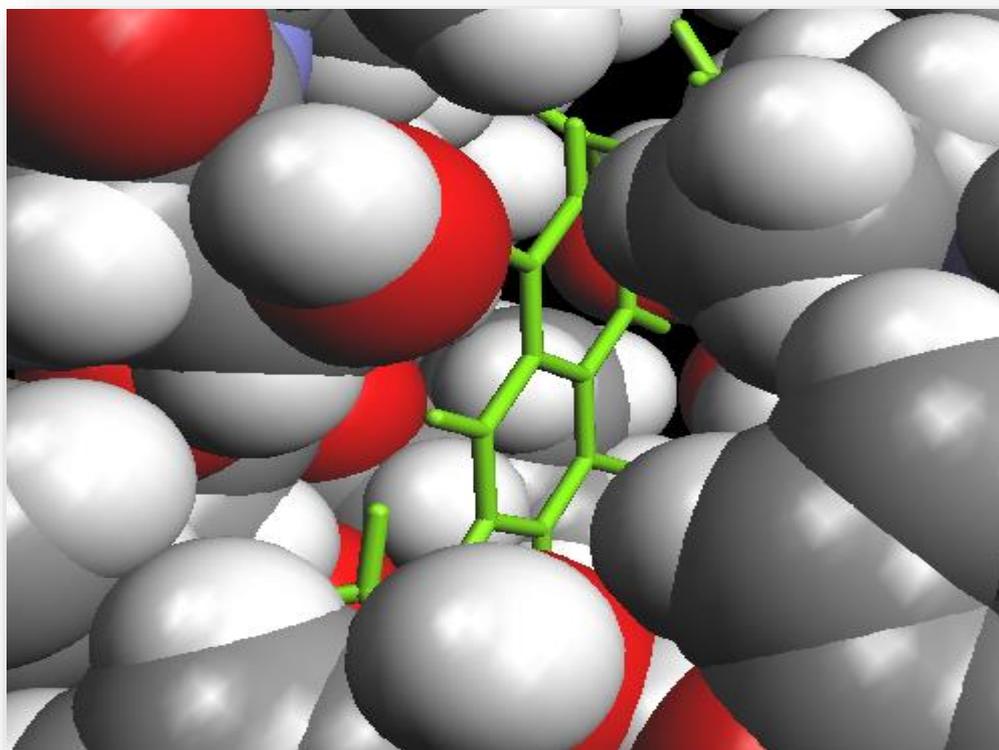
- ✓ Les meilleurs résultats d'affinité et donc le meilleur effet inhibiteur est observé lors des bi- substitutions (le composé N° 94 avec une affinité de  $9.02M^{-1}$  et le composé N°95 avec une affinité de  $9.25M^{-1}$ )
- ✓ Une mono substitution et la similarité n'améliorent pas obligatoirement l'affinité.
- ✓ Les composés, ayant une meilleure affinité que la molécule initiale, obtenus

lors des substitutions sont retenus et leurs propriétés pharmacologiques déterminées avant d'être proposés comme des inhibiteurs théoriques potentiels de Cox-2

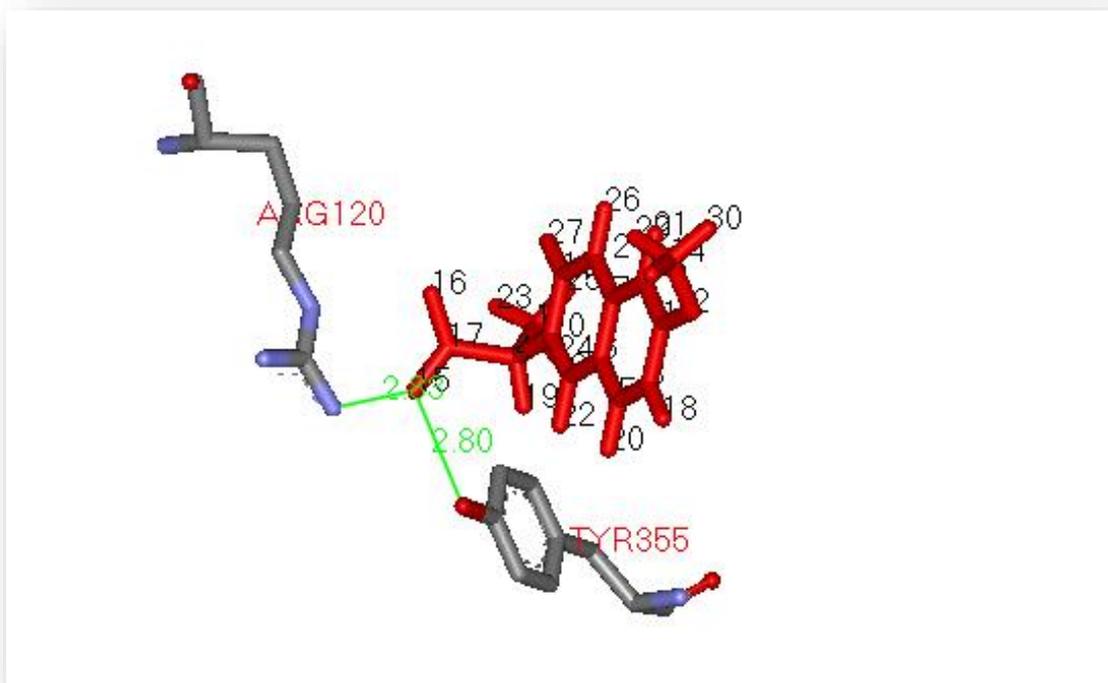
### **3. ETUDE DES INTERACTIONS ENTRE LE NAPROXEN ET LA CYCLO-OXYGENASE 2**

Afin d'étudier le mode d'interaction de l'inhibiteur avec le site actif de l'enzyme Cox-2 par le docking moléculaire, nous avons utilisé le programme Surflex.

L'analyse visuelle montre que le Naproxen est bien placé dans la cavité du site actif de cyclo-oxygenase-2 (voir figure 26).



**Figure 26: Illustration du positionnement de l'inhibiteur Naproxen dans le site actif de Cox-2.**



**Figure 27 :Représentation des liaisons hydrogène formées par le Naproxen et le site actif de Cox-2**

Le complexe formé entre le Naproxen et le site actif de la Cox-2 est stabilisé par deux liaisons hydrogène :

La première liaison hydrogène formée entre l'atome oxygène (O15) de l'inhibiteur (Naproxen) et la fonction hydroxyle (117OH) de résidu Tyr 355 avec une distance égale à 2,80 Å

La deuxième formée entre l'oxygène (O15) de l'inhibiteur et la fonction amine (55NH<sub>2</sub>) de résidu Arg 120 séparés par une distance de 2,83 Å .(voir figure 27)

Le Naproxen est aussi stabilisé par plusieurs interactions hydrophobiques formées par différents résidus tels que :Phe 518, Leu 534, Val 523, Met 113 etc.....

#### **4. ETUDE DES INTERACTIONS DES COMPLEXES COX2-DERIVES SUBSTITUES**

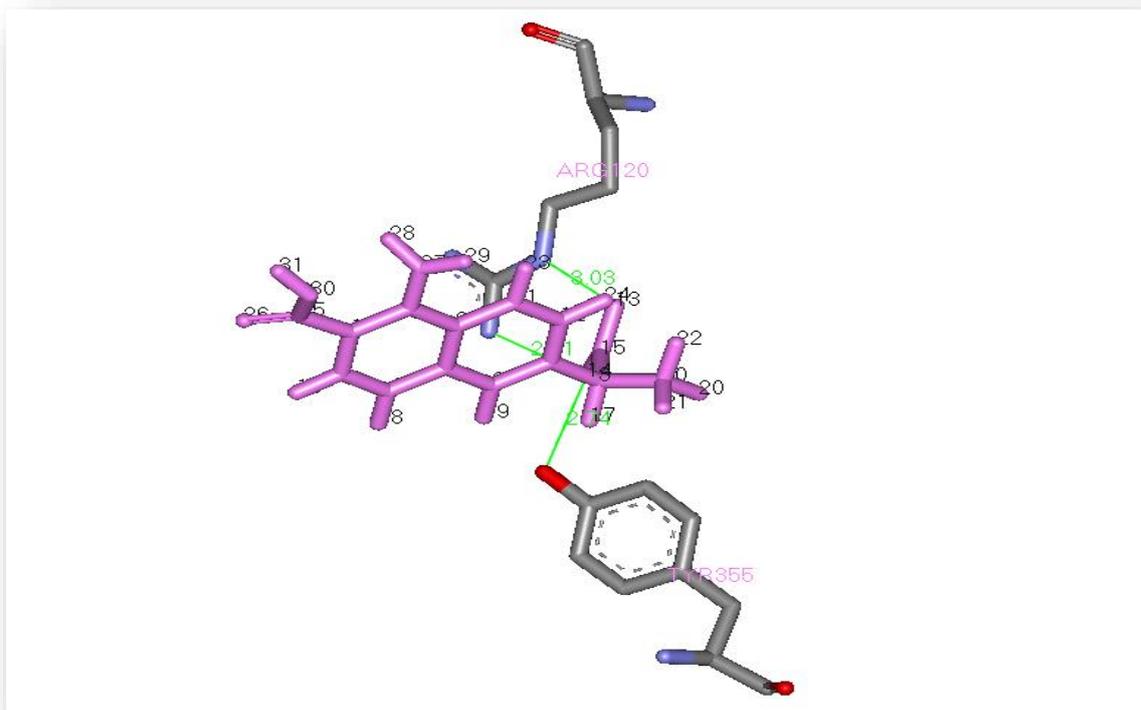
La visualisation des interactions entre le composé 94 et le site actif de la Cox-2 montre la présence de trois ponts hydrogène :

Le premier formé entre l'atome oxygène (O14) du composé 94 et la fonction hydroxyle (109OH) du résidu Tyr 355 avec une distance de 2,74 Å.

Le deuxième pont hydrogène a lieu entre l'oxygène (O14) du composé 94 et la fonction amine (45NH<sub>2</sub>) de résidu Arg 120 avec une distance de 2,91 Å .

Le dernier pont hydrogène formé entre l'atome oxygène (O13) du composé 94 et le (52NH) de résidu Arg 120 séparé par une distance de 3,03 Å (voir figure 28).

Enfin le composé 94 est stabilisé par des liaisons hydrophobiques formées par plusieurs résidus :Phe518,Val 116, Leu 531,Trp387 etc.....



**Figure 28 :Représentation des liaisons hydrogène formées par le composé 94 et le site actif de Cox-2**

Le docking moléculaire avec Surflex de ce composé au sein du site actif de la Cox-2 donne la meilleure affinité d'interaction soit ( $9.25 \text{ M}^{-1}$ ).

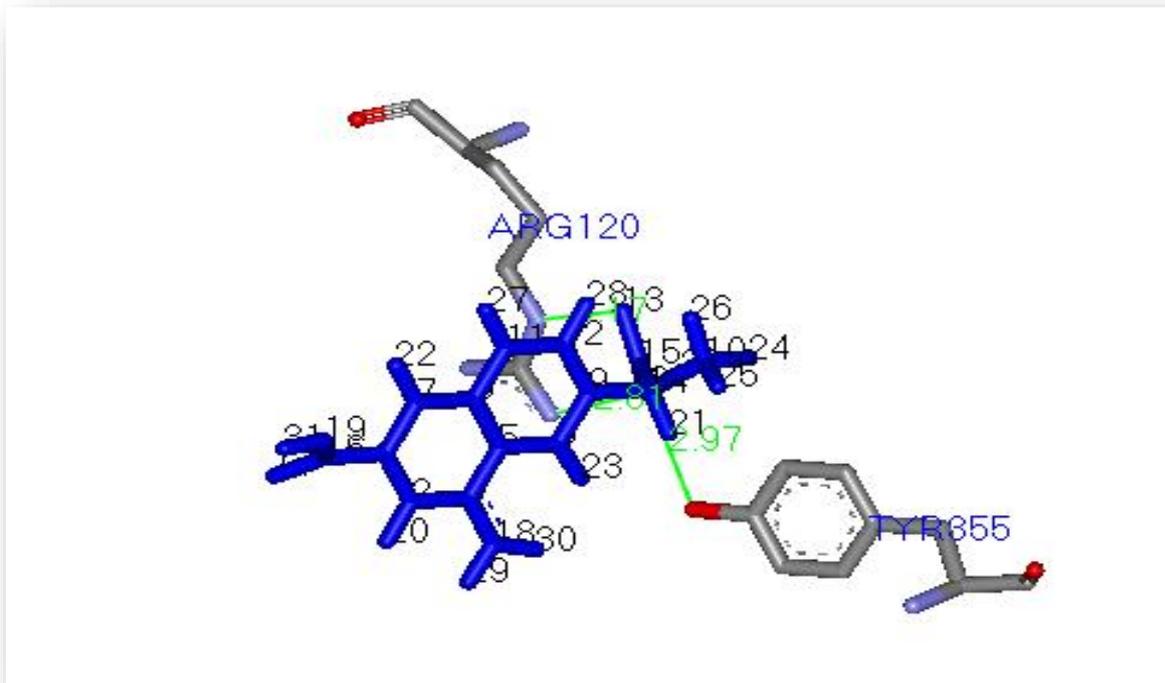
En effet, le complexe Cox-2-composé 95 est considéré comme celui le plus stable obtenu dans ce travail. L'analyse visuelle montre que ce complexe est stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobiques entre l'inhibiteur et plusieurs résidus tels que : 518 Phe, 113 Met, 387 Trp, 385 Tyr, 89 Val etc.....

On note également la présence de trois liaisons hydrogène :

La première est formée entre l'atome oxygène (O13) du composé 95 et le (52NH) du résidu Arg120, séparés par une distance de 2.17 Å.

La deuxième liaison hydrogène a eu lieu entre l'atome oxygène (O14) du composé 95 et la fonction amine (55NH<sub>2</sub>) du résidu Arg 120, avec une distance de 2.31 Å.

La troisième liaison hydrogène est formée entre l'atome oxygène (O14) du composé 95 et la fonction hydroxyle (117OH) du résidu Tyr 355, avec une distance de 2.97 Å. (voir figure 29)



**Figure 29 :Représentation des liaisons hydrogène formées par le composé 95 et le site actif de Cox-2**

- **Conclusion**

Dans le cas de l'inhibiteur de départ Naproxen le complexe enzyme-inhibiteur donne une affinité de  $8,71M^{-1}$ . Il forme deux liaisons hydrogène avec les résidus de l'enzyme Tyr 355 et Arg 120 respectivement.

L'affinité a été légèrement améliorée pour les composés suivants : le composé 94 avec  $9,02M^{-1}$  et le composé 95 avec  $9,25M^{-1}$

Cette amélioration de l'interaction entre la Cox-2 et le composé 95 peut être attribuée à la formation d'une nouvelle liaison hydrogène entre l'atome O13 de l'inhibiteur d'une part et le 52NH du résidu Arg120 d'autre part, ce résultat montrant le rôle essentiel de cette substitution dans l'inhibition de Cox-2.

Les bi substitutions donnent, en général, de meilleurs résultats certainement dus à une augmentation de nombre des liaisons hydrogènes pour certains composés.

Les 2 composés bi substitués sont bien placés dans la cavité du site actif de Cox-2.

## 5. APPLICATION DE LA REGLE DE LIPINSKI SUR LES DIFFERENTS COMPOSES

### ❖ Application de la règle de Lipinski sur le Naproxen :

**Tableau 07: Les propriétés pharmacocinétiques de Naproxen**

Ligand	PM (g/mol)	Log P	n OH,NH	n O,N	n rotb
<b>Naproxen</b>	230.26	3.38	1	3	3

**PM** : Poids moléculaire .

**Log P** : Coefficient de partition calculé.

**nOH,NH** : nombre de donneurs de ponts Hydrogène.

**nO,N** : nombre d'accepteurs de ponts Hydrogène.

**nrotb** : nombre des liaisons rotables.

Nous remarquons que l'inhibiteur utilisé dans cette étude répond parfaitement à la règle de Lipinski.

### ❖ Application de la règle de Lipinski sur les meilleurs composés monosubstitués et les similaires de Naproxen :

Chaque médicament potentiel doit se conformer à plusieurs critères de base, tels que son faible coût de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, métabolisme, d'excrétion et de toxicité (filtre ADME/Tox). Cette méthode est basée essentiellement sur la règle de 5 de Lipinski.

Le tableau suivant présente les résultats d'application de la règle de Lipinski sur les meilleurs composés monosubstitués et les similaires de Naproxen présentant des affinités proches de celle de ce dernier :

**Tableau 08 : Table d'application de la règle de Lipinski sur les meilleurs composés monosubstitués et similarités de Naproxen**

	Ligand	Poids (g/mol)	Log P	Donneur d'H	Accepteu r d'H	Nb de liaisons Rotables
<b>Meilleurs composés monosubstitués</b>	Composé 23	243,26	2,14	3	4	3
	Composé 45	244,29	3,28	1	3	3
<b>Meilleurs similaires</b>	Similaire N°9	264,71	3,98	1	3	3
	Similaire N°33	406,39	0,91	4	9	6

Nous constatons que tous les composés étudiés répondent parfaitement à la règle de 5 de Lipinski.

❖ **Application de la règle de Lipinski sur les 2 composés bisubstitués présentant des affinités d'interactions supérieures à celle de Naproxen**

Les résultats obtenus par l'application des critères de la règle de Lipinski sur les 2 composés présentant une affinité supérieure à celle de Naproxen sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 09 : Table d'application de la règle de Lipinski sur les 2 meilleurs composés bisubstitués de Naproxen.**

Ligand	Poids moléculaire (g/mol)	Log P	Donneur d'H	Accepteur d'H	Nb de liaisons rotables
<b>Composé94</b>	259.26	2.82	4	5	3
<b>Composé95</b>	259.26	2.64	4	5	3

Selon Lipinski, tous les composés ne validant pas au moins trois de ces conditions sont susceptibles de poser des problèmes d'absorption par voie orale.

Les résultats montrent que les deux molécules étudiées sont en parfait accord avec la règle de Lipinski.

Ces molécules présentant une meilleure affinité à l'enzyme, donc une activité biologique intéressante et sans problèmes d'absorption par voie orale, peuvent être proposées comme de nouveaux inhibiteurs potentiels de la Cox-2, cependant, des tests *in vitro* et *in vivo* sont indispensables pour valider ces molécule en tant qu'inhibiteurs de l'enzyme.

CONCLUSION

Le processus de découverte de nouveaux médicaments extrêmement long(12-14 ans) et couteux environ ( 1milliard de dollar) dans le passé , l'activité biologique d'un grand nombre de composé est testé *in vitro* sur des cibles thérapeutiques valider afin d'identifier des composés promoteurs (des touches) qui seront par la suite optimiser et tester *in vivo*, c'est ce qu'on appelle « **criblage virtuel à haute débit** » (**HTS**) qui consiste à simuler à prédire *in silico* l'activité biologique des grandes chimio-thèques vis-à-vis de la cible étudiée .

Le criblage virtuel permet d'ajuster le nombre des tests *in vitro*, ce qui plus rapide. Actuellement il existe un bon nombre de médicament mis sur le marché grâce à ce dernier. Les différentes approches pour la conception d'un médicament peuvent différer au niveau de la méthodologie pour parvenir à un produit acceptable et commercialisable.

L'objectif primordial de notre travail a été l'évaluation de deux programmes d'arrimage moléculaire qui permettent de simuler les interactions entre les protéines et les ligands. Arguslab et Surfex afin et contribuer au développement *in silico* de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la Cox-2.

Ces programmes ont été développés pour aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique (médicament) , d'où notre second objectif. Il s'agit de calculs d'interaction entre des ligands jouant le rôle d'inhibiteurs et de récepteurs protéiques de types enzymatiques.

Ils ont été utilisés pour étudier l'inhibition d'une cible enzymatique inflammatoire parmi les Plus attractives ces dernières années, la Cox-2, enzyme produite par l'organisme lors des provocations inflammatoires responsables de plusieurs cancers qui touchent des centaines de millions de personnes à travers le monde et entraînent des millions de décès chaque année.

Des travaux expérimentaux récents, montrent que le Naproxen est un inhibiteur de la cyclooxygénase-2 . Dans cette optique, à partir de modifications structurales variées, nous avons cherché à développer une nouvelle molécule plus active .

Dans ce contexte, nous avons utilisé ces deux programmes ; l'Arguslab est moins fiable en modélisation moléculaire car les valeurs de RMSD qu'il donne sont en général supérieures à 2Å.

Le programme Surfex, peut être considéré suffisamment performant puisqu'il reproduit assez bien les résultats expérimentaux avec plus de 87,25% de résultats positifs pour le RMSD.

Dans la première partie, nous avons testé la performance des deux programmes utilisés dans cette étude selon le test **RMSD** , **coefficient de corrélation** entre l'activité biologique (IC50) des molécules étudiées et l'affinités ( score de docking moléculaire ) et **l'analyse visuelle** .

Le premier test a été réalisé sur 204 complexes (protéine-ligand) tiré de la PDB. En effet **87.25%** pour le surflex et **33.33%**pour l'Arguslab.

Le deuxième test de fiabilité a été réalisé par le programme Surfex montre une bonne corrélation positive avec **r =0,82401**entre l'affinité d'interaction obtenue par le docking moléculaire et l'activité biologique (IC50) de 25 complexes.

Le troisième test permet de vérifier visuellement les résultats du RMSD qui montre une bonne superposition des ligands simulés et expérimentaux.

Relativement aux autres programmes, **Ms-Viewerlite4.2** met beaucoup plus en évidence les liaisons H, en effet ce sont les plus restrictives et les plus importantes parmi les liaisons faibles.

Dans une première étude on a choisi le complexe **3NT1** pour poursuivre notre travail son ligand, le **NPS**, étant le meilleur inhibiteur de la Cyclo-oxygénase 2, il possède une affinité de  $8.71 \text{ M}^{-1}$ .

Dans la deuxième partie nous nous sommes consacrés à la recherche de nouveaux inhibiteurs de la Cox-2, en utilisant une approche très utilisée dans le domaine de la conception rationnelle des médicaments : **la mono substitution ; la bi substitution et les similaires.**

L'étude de la modélisation réalisée sur Naproxen montre que l'affinité peut être augmentée de manière significative par un choix judicieux des fragments à substituer.

Une amélioration de l'affinité des deux composés **94** et **95** résultant de la bi substitution du **Naproxen** est observée.

En effet le remplacement du radical **OCH<sub>3</sub>** en position **C<sub>1</sub>** par un groupement **COOH** et l'addition d'un **NH<sub>2</sub>** en position **C<sub>2</sub>** ; aussi que la combinaison de la fonction carboxyle (COOH) en position **C<sub>1</sub>** et la fonction amine (NH<sub>2</sub>) en position **C<sub>5</sub>** augmentent et améliorent légèrement l'affinité du Naproxen qui passe de  $8.71 \text{ M}^{-1}$  à  $9.02 \text{ M}^{-1}$  puis à  $9.25 \text{ M}^{-1}$ .

L'utilisation des similaires (72 similaires) du Naproxen n'a pas pu améliorer l'affinité de ce dernier.

L'analyse visuelle montre que le Naproxen est bien placé dans la cavité du site actif de cyclo-oxygénase-2 et stabilisé par **deux liaisons hydrogène ; la première** liaison hydrogène formée entre l'atome d'oxygène (O15) de l'inhibiteur (Naproxen) et la fonction hydroxyle (117 OH) de résidu Tyr 355 avec une distance égale  $2,80 \text{ \AA}$  ; **la deuxième** formée entre l'oxygène (O15) de l'inhibiteur et la fonction amine (55 NH<sub>2</sub>) de résidu Arg 120 séparé par une distance de  $2,83 \text{ \AA}$ .

Enfin, il est important de noter que les différents inhibiteurs proposés par cette étude sont, en général, conformes aux critères imposés par la règle de Lipinski.

A la lumière des résultats obtenus dans ce travail, qui consiste en l'élucidation de l'inhibition de la Cox-2 par les méthodes de modélisation moléculaire dans le but de découvrir de nouveaux anti inflammatoire ; nous proposons les composés 94 et 95 comme nouveaux inhibiteurs potentiels de l'enzyme, cependant, des tests *in vitro* et *in vivo* sont indispensables pour valider ces molécules en tant qu'inhibiteurs de la Cox-2.

RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Grosdidier A. "Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives", Thèse de Doctorat, Université Joseph Fourier, Grenoble. (2007).
- [2] Rajyalakshmi S. Gaddipati C. "Dual and selective lipid inhibitors of cyclo-oxygenases and lipoxygenase: molecular docking study", Med Chem. Res, (23), p.3389–3402. (2014).
- [3] Copeland R.A., Williams J.M., Giannaras J., Nurnberg S., Covington M., Pinto D.,...and Traskos J.M. "Mechanism of selective inhibition of the inducible isoform of prostaglandin G/H synthase". Prod. Nat. Acad. Sci U S A, 91(23): p.11202-11206.
- [4] McNeal JE. "Normal histology of the prostate". Am. J. Surg. Pathol, 12(8): p. 619-633. (1988).
- [5] Bassaid I. "Cancer de prostate localement avancé". Thèse de doctorat. Faculté de médecine. Univ-AbouBakrBelkaid. Tlemcen. Algérie. (2013).
- [6] Eccles, S. A. and Welch D. R. "Metastasis: recent discoveries and novel treatment strategies". Lancet 369(9574): p.1742-57. (2007).
- [7] Haute Autorité de santé (HAS). "Guide du médecin sur le cancer de la prostate". Site internet : HAS. Saint-Denis La Plaine (France) ; (2012).  
<https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-10/11igm>
- [8] Jacqueline S. "Le cancer de la prostate, des symptômes au traitement". Article pris de BELAGE. Daté le : 11-02-2016. © Publications Senior Inc. (2013).
- [9] Foye W. "Principles of medicinal chemistry", Third edition, Lea & Febiger, p.95. (1989).
- [10] Collaboration avec des professionnels de la santé et de la médecine, sous la direction du docteur Jacques Allard Santé médecine.net [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=cancer-prostate-pm-prevention-du-cancer-de-la-prostate>> consulté [ le 20.04.2017].
- [11] Chandrasekharan NV., Dai H., Roos KL., Evanson NK., Tomsik J., Elton TS and Simmons DL. "COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression". Proc Natl Acad Sci U S A. Oct 15;99(21):13926-31. (2002).
- [12] Xie W.L., Chipman J.G., Robertson D.L., Erikson R.L., Simmons D.L. "Expression of a mitogen responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 88: p.2692-2696. (1991).

- [13]Raz, A., Carmi P. &Pazerini G. “Cancer”. Res. 48, p. 645-649. (1988).
- [14]Boothe D.M. “The pathogenesis and pharmacologic control of inflammation”. Veterinary Medicine. 84: p. 856-866.(1989).
- [15]Hla T., Nelson K., “Human cyclooxygenase-2 cDNA”. PNAS; 89 (16) : p.7384-7388.; doi:10.1073/pnas.89.16.7384.(1992).
- [16]Kurumbail RG., Kiefer JR., Marnett LJ. “ Cyclooxygenase enzymes: catalysis and inhibition” ; CurrOpinStructBiol; 11: p.752-760.( 2001).
- [17]Hinz B., Brune K. “Cyclooxygenase-2-10 years later”. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 300: 367-375. (2002).
- [18]Picot D., Loll P.J., Garavito R.M.; “X-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H2 synthase-1”. Nature Journal. 367: p.243-249. (1994.)
- [19]Rome L.H. andù, Lands W.E.M.; “ Structural requirements for time-dependent inhibition of prostaglandin biosynthesis by anti-inflammatory drugs”: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 72 : p. 4863-4865. (1975).
- [20]Girgis H.K. Anti-inflammatoires nonStéroïdiens : unevieilleclasseinnovante pour le traitement du traumatismecrânien. Thèse de doctoratd’université :Pharmacologie. Paris :Université Paris Descartes. France.164p. (2012).
- [21]Lorens O., Perez J., Palomer A., Mauleon D. “Differential binding mode of Diverse cyclooxygenase inhibitors”. Journal of Molecular Graphics and Modeling. 20: p.359–371.(2002).
- [22]Lipsky P.E., Brooks P., Crofford L.J. “Unresolved Issues in the Role of Cyclooxygenase-2 in Normal Physiologic Processes and Disease”. Archives of Internal Medicine. 160: p. 913 – 920.(2000).
- [23]Hong C.H., Hur S.K., Oh O.J., Kim S.S.- Evaluation of natural products on inhibition of inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) in cultured mouse macrophage cells. *Journal of Ethnopharmacology*,. 83 (1) :p.153-159.(2002).
- [24] Jansen C.M., Grubben J.H., Cardon D. “Ressources végétales de l’Afrique tropicale 3”. Colorants et tanins. *PROTA*. p. 238.(2005).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [25]Goel A., Kunnumakkara A.B., Aggarwal B.B. “La curcumine comme (Curcumine) de la cuisine à la clinique”. *BiochemPharmacol* . 75 :p. 787-809.(2008).
- [26]WillcoxJ.K., Ash S.L., Catignani G.L.“ Antioxidants and prevention of chronic disease” . *Crit Rev. Food Sci. Nutr.* 44(4): p.275-95. (2004).
- [27]Chaieb K., Zmantar T., Ksouri R., Hajlaoui H., Mahdouani K., Abdelly C. “Antioxidant properties of the essential oil of Eugenia”. p. 58- 63.(2005).
- [28]Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. “Biological effects of essential oils - Areview”.*Food and Chemical Toxicology.* 46 :p. 446-475.(2008).
- [29] Cao Y. and Prescott S.M. “Many actions of cyclooxygenase-2 in cellular dynamics and in cancer”. *J. CellPhysiol*, 190(3): p.279-286. (2002).
- [30]Green G.A. “UnderstandingNSAIDs: fromaspirin to COX-2”. *Clin Cornerstone*, 3(5): p. 50-60. (2001).
- [31]National Center for Biotechnology Information.PubChemBioAssayDatabase; AID=2299, Source=ScrippsResearch Institute Molecular Screening Center, [en ligne] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/assay/assay.cgi?aid=2299> consulté[ le02/03/2017]
- [32]Anti-Inflammatory Agents, Non-Steroidal; Cyclooxygenase Inhibitors; Gout Suppressants.National Library of Medicine's Medical Subject Headings online file (MeSH, 1999).
- [33] Traitement de cancer de prostate [en ligne ]<http://niger-gouv.org/medicaments/0093-0147-naproxen.html>. Consulté le (02.04.2017).
- [34]American Society of Health System Pharmacists; AHFS Drug Information. Bethesda, MD. p. 2169-2170.(2009).
- [35]<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00519646/document>. Consulté[ le 06.04.2017].
- [36]SobolewskiC. “Effetsd’inhibiteurs de la cyclooxygénase-2 sur la proliférationet la survie des cellules cancéreuseshématopoïétiques”. Thèse de doctorat.EcoleDoctorale Biologie, Santé et Environnement.Univ. Henri Poincaré.France. 23-24p. (2011).
- [37]Halim M. (Coordonnateurmodélisationet structure de protéines). Institut de BiologieIntégrative et des Systèmes(IBIS).Univ. Laval. Canada. (2014).
- <http://www.ibis.ulaval.ca/>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [38]Cavinet L. Alonso. "Parallel Management of Large Dynamic Shared Memory Space: a Hierarchical FEM Application". Seventh International Workshop On Solving Irregularly Structure Problems In Parallel, (2000).
- [39]Lengauer T., Rarey M. "Computational methods for biomolecular docking". *Current Opinion in Structural Biology*. 6 (3): p. 402–6. (Jun 1996).
- [40]<http://wiki.ubuntu.com/kmezhoud/Bioinformatics?action=AttachFile&do=get&target=docking.pdf>.
- [41]Anastassova M., Mégard C., Burkhardt J., "Prototype evaluation and user-needs analysis in the early design of emerging technologies ", 12th International Conference on Human Computer Interaction, Beijing, China, (2007).
- [42]Kerrouch L., "Etude in silico de l'inhibition de la dihydroorotatedeshydrogenase de plasmodium falciporum dans le cas du paludisme. Mémoire de Master. Univ. constantine1. Algérie. 31p. (2011).
- [43]Warren G. L., Andrews C.W., Capelli A. M., Clarke B., LaLonde J., Lambert M.H.,...and Head M. S., " A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions. *Journal of Medicinal Chemistry*. 49: 5912-5931.(2006).
- [44]Halperin I, Ma B., Wolfson H., Nussinov R., "Principles of Docking: An Overview of Search Algorithms and a Guide to Scoring Functions. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*. 47: p. 409-443. (2002).
- [45]Chikhi A.W. Calculs et modélisations des interactions peptide de formylase – substances antibactériennes à l'aide des techniques de « docking » (arrimage) moléculaire. Thèse Doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université Mentouri . Constantine. Algérie. (2007).
- [46]Marechal, Y. "The hydrogen bond and the water molecule". Elsevier Science & Technology . (2007).
- [47] Duhovny D., Nussinov R., Wolfson, H.J. " Efficient unbound docking of rigid molecules", (2002).
- [48]Docking : principes et méthodes [en ligne]  
<https://wikiubuntu.com/kmezhoud/bioinformatics?action=attachfile&target=docking.pdf>  
Consulté le:[24-03-2017].
- [49]Taylor R.D., Jewsbury P.J., Essex J.W. "A review of protein-small molecule docking methods". *J. Comput Aided Mol. Des.* 16: p.151-166. (2002).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[50] Giroud C. "Etude du mécanisme des NO synthases: importance du réseau de liaisons hydrogène dans l'environnement et la réactivité de l'hème". Thèse de Doctorat, Univ. Descartes, Paris. (2007).

[51] Manunta A., Tirillini B., and Fraternali D. "Secretory tissue and essential oil composition of *Bupleurum fruticosum*" L., J. Essent. Oil Res., 4(5): p. 461–466. (1992).

[52] Darley-Usmar V., Wiseman H. and Halliwell B. "Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance". FEBS Letters. 369: p. 131-135. (1995).

[53] Kollman P.A., Massova I., Reyes C., Kuhn B., Huo S. and Cheatham T.E. "Calculating structures and free energies of complex molecules: combining molecular mechanics and continuum models Acc". Chem. Res, 33: p. 889-897. (2000).

[54] Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., .. Bourne P.E; "The Protein Data bank". Nucl. Ac. Res. 28: p. 235- 242. (2000).

[55] National Center For Biotechnology Information. ( NCBI ) . Pubchem [en ligne]  
] Date de création 2004.

<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.

[56] Kramer B., Rarey M., Lengauer T. "Evaluation of the FLEXX Incremental Construction Algorithm for Protein–Ligand Docking". Proteins: Structure, Function, and Genetics. 37: p. 228-241. (1999).

[57] Kellenberger E., Rodrigo J., Muller P., Rognan D. "Comparative Evaluation of Eight Docking Tools for Docking and Virtual Screening Accuracy". Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics. 57: 225-242. (2004).

[58] Fox W. ; " Statistiques Sociales". 3<sup>ème</sup> éd. France: De Boeck. 374 p, (1999).

[59] Christopher A. Lipinski and all, "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings". Advanced Drug Delivery Reviews. 23: p. 3-25. (1997).

[60] Teniou. S. ; "Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I des cellules cancéreuses. Thèse de magistère. Univ. Mentouri Constantine. 71p. (2012).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[61] Kuntz J.M., Blaney S.J.; Oatley R. , Langridg, T.E., Ferrin A. "Geometric approach to macromolecule-ligand interactions. J Mol Biol.161 : 269-288.(1982).

[62] Boucherit H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase et de mycobacterium tuberculosis par diverses molécules . Thèse de Magistère .Univ Mentouri Constantine .Algérie.110p.(2012).

[63] Mokrani.E . "Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique". Thèse de Magistère. Univ. Mentouri.Constantine.122p. (2012).

[64] Lipinski C.A., Lombardo F, Dominy B.W., Feeney P.J. "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings". Adv. Drug Deliv. Rev. 46 (1-3): 3–26.(Mars 2001).

[65] Lipinski C.A.; "Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution". Drug Discovery Today: Technologies. 1 (4): 337–341.(Déc.2004).

# ANNEXES

## ANNEXE 1

Liste de 204 complexes et leur RMSD utilisés pour tester les programmes Arguslab et Surfex.

NUMERO	CODE SUIVANT DE PDB	AFFINITE (M <sup>-1</sup> )	RMSD(Å) Surfex	RMSD (Å) ARGUSLAB
1	5LP1	1.28	2.326	8.799
2	5FYO	1.16	1.851	2.485
3	5FYR	5.18	1.651	1.896
4	5LZ4	2.29	1.408	2.004
5	5LZ5	2.86	1.486	9.353
6	5LZ7	1.39	1.268	8.567
7	3ZWO	0.21	1.853	1.820
8	3Q7D	0.76	1.375	1.989
9	4RRW	1.39	1.942	5.459
10	4RRX	0.94	1.941	2.509
11	4RRY	1.03	1.676	1.784
12	4RRZ	1.39	1.942	5.459
13	4RSO	0.21	0.517	3.382
14	4TOY	1.74	1.184	4.712
15	4M10	0.91	1.246	3.294
16	4AUP	4.31	1.250	1.749
17	4KF3	1.65	6.885	6.329
18	1A4Q	0.16	1.509	4.745
19	1JNK	1.61	0.241	7.007
20	1N8Q	0.26	1.539	4.190
21	5LUD	0.21	1.900	2.199
22	5KDV	1.59	1.518	2.276
23	2CJ4	1.60	5.596	8.222
24	3NNU	1.92	0.551	2.628
25	5UCR	2.05	1.044	6.654
26	1G27	0.02	1.660	5.631
27	1R5G	0.48	1.215	2.915
28	1XOE	0.46	1.561	6.060
29	2OBJ	1.62	7.346	4.398
30	2QTB	1.75	1.341	8.650
31	3CCC	0.49	1.441	3.161
32	3CHR	1.69	0.155	1.237
33	3CHS	0.13	1.587	2.050
34	3D4L	3.10	1.752	9.389
35	3FMM	1.50	1.569	3.553
36	3GCP	2.02	4.438	7.588
37	3HL7	0.68	1.194	5.377
38	3HRB	0.91	1.753	3.075

39	3KWF	0.52	1.134	2.465
40	3RDE	0.61	1.580	9.908
41	3NT1	8.71	0.427	3.011
42	2AA6	0.66	1.637	1.508
43	2EW5	1.19	1.607	4.359
44	1W1C	4.79	1.010	2.034
45	2W1G	3.91	1.975	8.439
46	2VPP	0.43	1.192	5.285
47	2W4I	1.42	1.050	6.388
48	3ITI	1.27	1.736	5.248
49	3LCS	0.86	1.761	5.461
50	3DP1	0.72	1.820	8.947
51	1WUT	1.13	5.994	10.546
52	3QMO	0.80	1.927	4.913
53	4E1G	0.52	1.736	10.410
54	4MM	0.19	0.492	0.890
55	4OTY	1.74	1.184	4.712
56	4PH9	0.44	1.664	8.232
57	5MAE	1.45	1.794	1.391
58	5EF4	0.91	1.799	3.122
59	3MU6	0.37	1.944	10.470
60	3QJ7	0.76	2.000	4.414
61	2WFB	3.17	0.651	1.889
62	2CHX	0.48	1.311	7.186
63	3DPD	0.18	1.888	6.630
64	2CHW	1.64	1.377	6.227
65	2CHZ	0.32	0.731	7.275
66	2F83	0.81	7.526	10.085
67	3PHH	0.88	1.995	2.444
68	3DOO	4.35	1.221	0.992
69	5KIR	3.91	3.081	6.851
70	3Q7J	1.17	1.318	7.286
71	4S3G	0.73	0.805	4.712
72	3ZWO	0.21	1.853	1.204
73	5B4P	1.92	8.501	5.192
74	5J4U	1.65	3.768	11.768
75	5L2A	9.56	9.619	3.264
76	1T8I	4.31	1.414	10.438
77	1K4T	3.03	1.858	8.876
78	1SC7	3.84	1.879	9.844
79	1LT8	4.31	1.096	8.726
80	1SEU	3.34	1.407	6.912
81	1ACJ	1.93	1.177	3.747
82	1DX6	1.68	1.627	8.242
83	1 <sup>E</sup> 3Q	0.17	1.130	7.626
84	1EVE	2.92	1.599	2.479
85	1VOT	1.27	2.207	3.908

86	1U65	1.36	1.272	5.491
87	2ACK	0.91	1.083	4.488
88	1ACL	0.73	1.374	1.867
89	1GA2	1.14	0.977	2.441
90	1G27	0.02	1.660	5.631
91	2B5J	1.59	1.218	5.960
92	2BAN	1.26	1.303	4.269
93	2BE2	1.96	1.140	2.033
94	2I5J	2.89	1.276	9.457
95	3DLE	2.67	1.717	4.212
96	3DLG	2.84	1.524	2.442
97	3DRP	2.87	1.043	7.339
98	3FR5	0.80	1.822	2.234
99	3FR4	1.34	1.898	2.315
100	3FR2	0.75	1.004	5.508
101	1ZAF	0.73	1.293	6.780
102	4ELE	0.30	1.152	11.451
103	2C2S	1.49	1.542	3.198
104	3C6T	2.94	1.356	1.882
105	3C6U	3.56	1.210	3.370
106	3ONB	1.09	0.531	1.677
107	3ONC	2.04	0.559	1.783
108	1BQM	1.06	1.391	5.175
109	3M8Q	2.18	1.355	11.676
110	3M8P	1.78	1.601	5.400
111	3DRS	3.25	0.344	3.229
112	3CHK	1.62	0.739	1.231
113	4R2F	1.93	1.936	2.537
114	2RIY	1	1.866	6.214
115	2RJ6	0.65	1.641	2.024
116	2I39	0.44	1.942	2.205
117	5PQZ	1.28	0.620	2.898
118	5PR1	1.26	0.086	2.639
119	1PO3	1.50	1.008	5.030
120	4A6K	2.38	1.798	4.270
121	5EAB	1.02	1.863	6.442
122	5EAE	1.63	1.456	6.003
123	4Z4L	3.85	1.180	4.112
124	4RVK	0.92	3.290	8.378
125	4RT7	0.84	1.703	1.761
126	5VE7	1.93	1.064	5.338
127	5WZ2	0.43	1.161	8.951
128	5HCA	0.19	0.058	1.963
129	4NLO	0.43	1.815	2.487
130	5UFO	0.62	0.453	10.342
131	2PZA	1.07	3.437	5.581
132	1XBO	0.49	0.060	1.815

133	2P7G	0.15	1.609	5.876
134	27Z	0.18	2.011	7.807
135	2RAO	1.14	1.902	11.604
136	2NO3	0.81	1.883	7.141
137	2GMX	0.29	1.931	8.234
138	2GO1	0.39	0.078	7.234
139	2FIE	0.82	1.009	11.306
140	2FIX	2.85	0.392	8.069
141	1QXK	1.92	1.002	4.096
142	5L4J	1.69	3.401	6.140
143	5IT1	0.20	0.118	5.509
144	5J4U	1.65	0.768	1.686
145	5T28	1.27	1.954	8.280
146	5TYH	0.25	1.262	5.385
147	5USQ	1.80	1.925	1.397
148	5AUT	0.97	0.416	1.378
149	3VZC	1.41	0.062	3.903
150	2E2R	0.73	2.229	5.200
151	1BGO	3.93	0.919	1.462
152	1LKA	2.27	0.851	1.740
153	1OIR	4.70	2.737	0.691
154	1OIT	4.31	1.868	1.825
155	1VQZ	4.54	1.272	1.560
156	1XF1	1.83	1.384	1.900
157	1OHA	10.64	0.801	1.650
158	1NDW	7.16	0.734	1.521
159	1H4P	3.74	1.267	1.980
160	1BDG	4.54	1.157	0.614
161	1WXD	3.03	1.497	1.032
162	1PPN	2.32	0.532	0.790
163	2J77	3.12	2.927	1.398
164	2J78	0.34	3.116	3.332
165	2JAL	2.98	2.796	1.541
166	2CBU	2.97	2.753	1.550
167	2D5C	5.89	1.082	1.921
168	2EV9	6.21	0.823	1.817
169	2HK9	5.20	1.345	1.840
170	3AHM	3.64	1.002	1.479
171	2ERV	3.10	0.707	1.760
172	3FNB	4.16	2.920	1.670
173	4CEV	3.67	1.969	1.012
174	4DHK	2.13	1.650	1.356
175	4F66	8.80	0.920	1.530
176	4KSI	2.72	1.843	1.910
177	4KXB	3.20	3.535	1.800
178	4MLM	6.19	0.592	1.264
179	4NU4	4.40	1.418	1.965

<b>180</b>	1R5G	6.47	1,782	2.345
<b>181</b>	1YW9	4.69	0,938	1.155
<b>182</b>	1X70	4.59	0,940	1.321
<b>183</b>	1G2A	5.91	1,380	1.876
<b>184</b>	1G27	2.40	2,650	3.432
<b>185</b>	1S17	2.69	2,173	2.243
<b>186</b>	1XOE	6.19	0,640	1.987
<b>187</b>	3CHR	10.08	1,550	1.780
<b>188</b>	3CHS	7.26	2,581	2.432
<b>189</b>	3FMQ	2.57	1,264	1.554
<b>190</b>	3FMR	3.78	0,736	1.121
<b>191</b>	4FIK	4.02	2,503	2.654
<b>192</b>	3KWF	10.02	0,475	1.675
<b>193</b>	3D4I	11.17	0,372	1.220
<b>194</b>	3E3U	7.68	0,882	1.347
<b>195</b>	3FMM	6.72	0,483	1.653
<b>196</b>	2WIH	8.31	0,409	1.340
<b>197</b>	3HL7	4.99	0,835	2.654
<b>198</b>	3HRB	5.91	0,783	2.987
<b>199</b>	3HV8	11.02	0,636	1.423
<b>200</b>	3GCP	10.06	0,877	1.200
<b>201</b>	3CCC	4.04	0,955	1.678
<b>202</b>	2FJP	10.46	0,405	0.968
<b>203</b>	2QBJ	8.39	0,364	1.541
<b>204</b>	2NNU	10.71	0,689	1.668

## ANNEXE 2

- L'affinité des composés mono substitués.

composé	Affinité (M <sup>-1</sup> )
1	6.85
2	6.80
3	5.60
4	5.38
5	7.24
6	4.76
7	4.52
8	5.56
9	6.94
10	5.74
11	5.22
12	5.56
13	2.79
14	4.88
15	4.78
16	5.83
17	5.98
18	4.58
19	6.08
20	4.13
21	5.50
22	7.15
23	7.39
24	7.22
25	5.13
26	6.40
27	5.63
28	3.79
29	6.36
30	4.46
31	5.49
32	6.25
33	6.18
34	3.54
35	4.96
36	6.28

37	4.57
38	6.66
39	5.33
40	6.73
41	6.12
42	5.83
43	4.49
44	4.24
45	7.47
46	6.61
47	4.41
48	6.89
49	4.86
50	6.15
51	4.54

- L'affinité des composés bi substitués.

composé	Affinité (M <sup>-1</sup> )
52	7.16
53	6.92
54	6.31
55	5.94
56	6.92
57	6.88
58	7.52
59	7.62
60	5.56
61	7.37
62	6.19
63	3.65
64	4.23
65	3.46
66	6.16
67	5.82
68	4.23
69	7.31
70	4.51

*ANNEXES*

---

<b>71</b>	4.08
<b>72</b>	4.64
<b>73</b>	7.33
<b>74</b>	6.83
<b>75</b>	4.99
<b>76</b>	4.48
<b>77</b>	4.67
<b>78</b>	4.48
<b>79</b>	5.92
<b>80</b>	5.82
<b>81</b>	7.59
<b>82</b>	7.63
<b>83</b>	7.27
<b>84</b>	7.57
<b>85</b>	7.50
<b>86</b>	3.97
<b>87</b>	7.64
<b>88</b>	5.89
<b>89</b>	8.54
<b>90</b>	3.44
<b>91</b>	2.25
<b>92</b>	3.51
<b>93</b>	2.85
<b>94</b>	<b>9.02</b>
<b>95</b>	<b>9.25</b>
<b>96</b>	8.64
<b>97</b>	6.26
<b>98</b>	5.93
<b>99</b>	4.98
<b>100</b>	4.87
<b>101</b>	6.02
<b>102</b>	4.50
<b>103</b>	4.47
<b>104</b>	4.29
<b>105</b>	2.28
<b>106</b>	6.70
<b>107</b>	6.01
<b>108</b>	6.10
<b>109</b>	4.17
<b>110</b>	3.80

---

<b>111</b>	4.21
<b>112</b>	6.37
<b>113</b>	6.05
<b>114</b>	4.77
<b>115</b>	4.35
<b>116</b>	6.53
<b>117</b>	3.93
<b>118</b>	7.75
<b>119</b>	7.66
<b>120</b>	8.21
<b>121</b>	3.86
<b>122</b>	6.74
<b>123</b>	6.94
<b>124</b>	3.23
<b>125</b>	4.14
<b>126</b>	4.86
<b>127</b>	4.36
<b>128</b>	4.24
<b>129</b>	4.94
<b>130</b>	4.85
<b>131</b>	7.64
<b>132</b>	7.97
<b>133</b>	8.20
<b>134</b>	7.24
<b>135</b>	8.52
<b>136</b>	4.39
<b>137</b>	4.50
<b>138</b>	5.25
<b>139</b>	6.60
<b>140</b>	5.92
<b>141</b>	4.50
<b>142</b>	6.65
<b>143</b>	4.08
<b>144</b>	4.49
<b>145</b>	5.75
<b>146</b>	5.82
<b>147</b>	6.48
<b>148</b>	5.79
<b>149</b>	3.93
<b>150</b>	6.85

---

<b>151</b>	2.14
<b>152</b>	7.74
<b>153</b>	6.11
<b>154</b>	6.40
<b>155</b>	5.54
<b>156</b>	5.72
<b>157</b>	6.04
<b>158</b>	7.66
<b>159</b>	5.60
<b>160</b>	6.09
<b>161</b>	3.55
<b>162</b>	5.07
<b>163</b>	5.55
<b>164</b>	3.10
<b>165</b>	6.67
<b>166</b>	4.31
<b>167</b>	3.33
<b>168</b>	6.19
<b>169</b>	4.72
<b>170</b>	3.83
<b>171</b>	5.59
<b>172</b>	6.70
<b>173</b>	5.76
<b>174</b>	4.18
<b>175</b>	7.18
<b>176</b>	6.55
<b>177</b>	7.00
<b>178</b>	7.67
<b>179</b>	4.91
<b>180</b>	3.11
<b>181</b>	3.93
<b>182</b>	3.46
<b>183</b>	4.41
<b>184</b>	6.54
<b>185</b>	7.15
<b>186</b>	7.76
<b>187</b>	6.33
<b>188</b>	7.03
<b>189</b>	4.45

## ANNEXE 3

- L'affinité des similaires de Naproxen.

composé	CODE SUIVANT DE PUBCHEM	Affinité (M <sup>-1</sup> )
1	CID: 156391	6.61
2	CID: 23681059	6.61
3	CID: 1302	6.09
4	CID: 9899603	4.71
5	CID: 169118	5.82
6	CID: 988464	2.42
7	CID: 25170420	3.19
8	CID: 711615	5.35
9	CID: 13075209	7.62
10	CID: 181715	4.42
11	CID: 71771710	6.19
12	CID: 92131904	2.75
13	CID: 575523	3.92
14	CID: 5491692	6.11
15	CID: 5492450	3.88
16	CID: 604035	0.62
17	CID: 71750939	5.39
18	CID: 6429924	0.05
19	CID: 71750937	4.17
20	CID: 527326	5.07
21	CID: 288634	3.96
22	CID: 71315405	3.97
23	CID: 44147054	4.77
24	CID: 13393711	3.94
25	CID: 46781184	6.87
26	CID: 24795900	6.61
27	CID: 23675324	4.64
28	CID: 4504000	4.88
29	CID: 9837916	4.61
30	CID: 71750935	5.82
31	CID: 90472512	4.64
32	CID: 529084	6.61
33	CID: 46782448	7.26
34	CID: 46782447	-8.95
35	CID: 13393710	4.41

---

<b>36</b>	CID: 162920	-8.41
<b>37</b>	CID: 6426145	4.24
<b>38</b>	CID: 15688749	5.07
<b>39</b>	CID: 23690939	3.87
<b>40</b>	CID: 11789931	3.76
<b>41</b>	CID: 76968825	5.42
<b>42</b>	CID: 607344	7.62
<b>43</b>	CID: 91997289	6.61
<b>44</b>	CID: 86658638	5.44
<b>45</b>	CID: 1301	1.92
<b>46</b>	CID: 100918861	6.60
<b>47</b>	CID: 100918860	6.09
<b>48</b>	CID: 185019	5.11
<b>49</b>	CID: 77098502	6.62
<b>50</b>	CID: 86599386	5.07
<b>51</b>	CID: 44208596	3.28
<b>52</b>	CID: 101408926	5.46
<b>53</b>	CID: 101926219	4.09
<b>54</b>	CID: 46782450	6.41
<b>55</b>	CID: 10198223	3.36
<b>56</b>	CID: 71750936	-13.76
<b>57</b>	CID: 11010189	4.41
<b>58</b>	CID: 390923	5.32
<b>59</b>	CID: 101652289	3.06
<b>60</b>	CID: 101652288	1.32
<b>61</b>	CID: 101651474	4.60
<b>62</b>	CID: 16115709	2.34
<b>63</b>	CID: 78786	4.17
<b>64</b>	CID: 71749620	4.42
<b>65</b>	CID: 86623029	6.61
<b>66</b>	CID: 71315404	1.61
<b>67</b>	CID: 102600742	4.58
<b>68</b>	CID: 11209638	4.77
<b>69</b>	CID: 71433811	-8.32
<b>70</b>	CID: 118797671	4.26
<b>71</b>	CID: 49849423	6.42
<b>72</b>	CID: 77506	4.26

## ANNEXE 4

- La liste des acides aminés entouré le site actif de la Cox-2

359 Leu	384 Leu	525 Leu	531 Leu	534 Leu
113 Met	522 Met	381 Phe	518 Phe	529 Phe
528 Phe	119 Ser	353 Ser	530 Ser	587 Trp
387 Trp	348 Tyr	355 Tyr	385 Tyr	89 Val
116 Val	349 Val	523 Val	352 Leu	117 Leu
93 Leu	345 Ile	524 Gly	513 Arg	120 Arg
527 Ala				

## RÉSUMÉS

Pour contourner les limites du criblage expérimental, une nouvelle approche alternative basée principalement sur des techniques informatiques a été envisagée c'est le criblage virtuel par docking moléculaire.

L'arrimage ou « docking » moléculaire est une des méthodes communément utilisée en pharmaco-chimie pour découvrir et mettre au point de nouveaux médicaments par criblage de milliers de composés pour une protéine cible donnée .

Le programme de docking moléculaire Surflex a été choisi et utilisé dans le but de concevoir *in silico* de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la cyclooxygénase-2 (Cox-2) cible thérapeutique impliquée dans diverses pathologies inflammatoires notamment le cancer de la prostate .

Le Naproxen, décrit récemment par la littérature comme inhibiteur de la cyclo-oxygénase2 a été utilisé comme structure de départ pour réaliser des mono et des bi substitutions ; nous avons également réalisé un criblage virtuel d'une collection de 72 composés issus de la PubChem (similaires de Naproxen). Il n'ya eu aucune amélioration de l'affinité dans ce cas.

A l'issue de ce criblage, deux nouveaux inhibiteurs théoriquement plus sélectifs et affins envers la Cox-2 ont été découverts et présentent une légère amélioration de l'affinité de 8,71 M<sup>-1</sup> à 9,02 M<sup>-1</sup> par l'introduction d'un groupement COOH en position **C1** et un NH<sub>2</sub> en position **C2** pour le composé 94 ; et jusqu'à 9,25 M<sup>-1</sup> par l'introduction d'un COOH en position **C1** et un NH<sub>2</sub> en position **C5** pour le composé 95.

L'étude des propriétés pharmacocinétiques de ces molécules proposées montre qu'elles s'inscrivent parfaitement dans la marge des critères imposés par la règle de Lipinski.

L'approche *in silico* par **Surflex** est donc une méthode fiable pouvant contribuer de manière efficace au développement de nouveaux inhibiteurs d'une enzyme donnée.

Cependant il faudrait la compléter par des études *in vitro* et *in vivo* .

**Mots clés :** Docking moléculaire, Surflex, Affinité, Interaction protéine-ligand, cyclo-oxygénase2, Naproxen.

To circumvent the limits of the experimental screening, a new alternative approach based mainly on computer techniques was envisaged, it is the virtual screening by molecular docking.

Molecular docking is one of the commonly used methods in pharmaco-chemistry to discover and develop new drugs by screening thousands of compounds for a given target protein.

The Surflex molecular docking program was chosen and used to design in silico new and more potent inhibitors of Cyclo-oxygenase2 (Cox-2) therapeutic target involved in various inflammatory pathologies including prostate cancer.

Naproxen, recently described in the literature as a Cyclooxygenase-2 inhibitor, was used as a starting structure to produce mono and bi substitutions; We also carried out a virtual screening of a collection of 72 compounds from PubChem (similar to Naproxen). This technique showed that it did not improve the interaction affinity of Naproxen.

At the end of this screening of new theoretically more selective inhibitors and affinities towards Cox-2 were discovered showing a slight affinity improvement of  $8.71 \text{ M}^{-1}$  to  $9.02 \text{ M}^{-1}$  by introducing a COOH group in the **C<sub>1</sub>** position and an NH<sub>2</sub> in the **C<sub>2</sub>** position for the compound 94, and up to  $9.25 \text{ M}^{-1}$  by the introduction of a COOH at position **C<sub>1</sub>** and a NH<sub>2</sub> at the **C<sub>5</sub>** for the compound 95.

The study of the pharmacokinetic properties of these proposed molecules shows that they fit perfectly within the margin of the criteria imposed by the Lipinski rule.

The in silico approach by Surflex is therefore a reliable method that can contribute effectively to the development of new inhibitors of a given enzyme. However, it should be supplemented by in vitro and in vivo studies.

**Key words:** Molecular docking, Surflex, Affinity, protein-ligand interaction, Cyclooxygenase2, Naproxen.

العديد من تقنيات الاعلام الالي الحديثة ساهمت بشكل كبير في تفادي حدود التجارب العلمية من بينها تقنية التنبؤ أو الرص الجزيئي  
تقنية الرص الجزيئي من بين الطرق المستعملة بكثرة في ميدان الكيمياء الصيدلانية و ذلك بتطوير الملايين من الجزيئات لاكتشاف ادوية جديدة و اعادة تشكيل التفاعلات بروتين - رابطة.

برنامج الرص الجزيئي سرفلكس استعمل في انتاج مثبطات جديدة اكثر خاصية تجاه انزيم الأكدسة الحلقية-2 المسبب لسرطان البروستات .

أثبتت الدراسات المرجعية ان نابروكسين من بين مثبطات انزيمات الأكدسة الحلقية تم استعماله لدراسة تثبيط انزيم الأكدسة الحلقية-2 و ذلك بإحداث استبدالات احادية و ثنائية على مستوى بنيته . في هذه الدراسة تم ايضا دراسة مركبات مختلفة ناتجة من المؤلفات التي تم استخراجها من موقع PubChem (72 مركب) . هذه الاخيرة لم تساهم تحسين نتائج مقارنة لفعالية نابروكسين اتجاه انزيم الأكدسة الحلقية-2 .

نتائج الرص الجزيئي بينت نظريا ان هناك مثبطات جديدة احسن لمقاومة الالتهابات الحادة التي يسببها انزيم الأكدسة الحلقية-2 و ذلك بإدخال الوظيفة الكربوكسيلية COOH في الموضع  $C_1$  و الوظيفة الامينية  $NH_2$  في الموضع  $C_2$  بالنسبة للمركب 94 اعطت طاقة ارتباط ( $9.02 M^{-1}$ ) اكبر من طاقة ارتباط المثبط NPS ( $8.71 M^{-1}$ ) و ابقاء الوظيفة الكربوكسيلية في الموضع  $C_1$  و ادخال الوظيفة الامينية في الموضع  $C_5$  بالنسبة للمركب 95 اعطت طاقة ارتباط اكبر تقدر ( $9.25 M^{-1}$ ).

من دراسة الخصائص الدوائية لهذه الجزيئات المقترحة تظهر أنها تتناسب تماما مع مجموعة من المتطلبات التي تفرضها سيادة ليبينسكي.

الدراسات المقارنة بواسطة برنامج سرفلكس طريقة مثلى تساهم بشكل اكبر في تطوير مثبطات جديدة لمختلف الانزيمات ومع ذلك يجب أن يكون كاملا من قبل في التجارب المختبرية والدراسات المجرأة .

**الكلمات المفتاحية:** الرص الجزيئي , سرفلكس , فعالية, تفاعلات بروتين- رابطة , انزيم الأكدسة الحلقية-2 , نابروكسين

Présenté par :

Dirigé par : Pr CHIKHIA

MEGUENANI ABIR

MEBARKIA DOUNIA

Soutenu : Le 28 Juin 2017

## Thème

### Inhibition *in silico* de la Cyclo-oxygenase 2 pour combattre le Cancer de prostate

#### Résumé :

Pour contourner les limites du criblage expérimental, une nouvelle approche alternative basée principalement sur des techniques informatiques a été envisagée c'est le criblage virtuel par docking moléculaire.

L'arrimage ou « docking » moléculaire est une des méthodes communément utilisée en pharmaco-chimie pour découvrir et mettre au point de nouveaux médicaments par criblage de milliers de composés pour une protéine cible donnée .

Le programme de docking moléculaire Surflex a été choisi et utilisé dans le but de concevoir *in silico* de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la cyclooxygénase-2 (Cox-2) cible thérapeutique impliquée dans diverses pathologies inflammatoires notamment le cancer de la prostate .

Le Naproxen, décrit récemment par la littérature comme inhibiteur de la cyclo-oxygénase2 a été utilisé comme structure de départ pour réaliser des mono et des bi substitutions ; nous avons également réalisé un criblage virtuel d'une collection de 72 composés issus de la PubChem (similaires de Naproxen). Il n'y a eu aucune amélioration de l'affinité dans ce cas.

A l'issue de ce criblage, deux nouveaux inhibiteurs théoriquement plus sélectifs et affins envers la Cox-2 ont été découverts et présentent une légère amélioration de l'affinité de 8,71 M<sup>-1</sup> à 9,02 M<sup>-1</sup> par l'introduction d'un groupement COOH en position C1 et un NH<sub>2</sub> en position C2 pour le composé 94 ; et jusqu'à 9,25 M<sup>-1</sup> par l'introduction d'un COOH en position C1 et un NH<sub>2</sub> en position C5 pour le composé 95.

L'étude des propriétés pharmacocinétiques de ces molécules proposées montre qu'elles s'inscrivent parfaitement dans la marge des critères imposés par la règle de Lipinski.

L'approche *in silico* par Surflex est donc une méthode fiable pouvant contribuer de manière efficace au développement de nouveaux inhibiteurs d'une enzyme donnée.

Cependant il faudrait la compléter par des études *in vitro* et *in vivo* .

**Mots clés :** Docking moléculaire, Surflex, Affinité, Interaction protéine-ligand, cyclo-oxygenase2, Naproxen.

#### Devant le jury:

**Président :** BENSEGUENI A.    **Professeur à Université Frères Mentouri Constantine 1.**  
**Rapporteur :** CHIKHI A.    **Professeur à Université Frères Mentouri Constantine 1.**  
**Examineur :** MOKRANI E.H. **Maître assistant A à l'Université Frères Mentouri Constantine 1.**