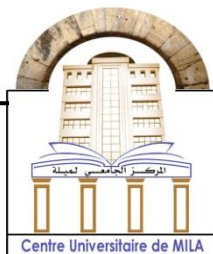


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Application d'une approche de criblage virtuel pour
la découverte de nouveaux agents antibactériens**

Présenté par :

- BAYOU Insaf
- KOURTELI Besma

Devant le jury :

KADJOUDJ Nadia

BOUCHERIT Hanane

MERZOUG Amina

M.A.B

M.C.B

M.C.A

Présidente

Promotrice

Examinatrice

Année Universitaire : 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Louange à Dieu, Seigneur des mondes, et prières et paix soient sur le dernier des prophètes et messagers, le Messager de Dieu, Mahomet, ainsi que sur sa famille et ses compagnons. Nous remercions Dieu Tout-Puissant pour ce qu'Il nous a accordé de Sa grâce. Il a créé toutes les conditions pour nous et nous a facilité l'accomplissement de ce travail. Loué soit-Il en premier et en dernier pour tout.

Tout d'abord, nous tenons à adresser nos sincères remerciements à notre encadrante, **Dr. BOUCHERIT Hanane**, pour ses précieux conseils et orientations tout au long de ce travail. Son professionnalisme a été précieux dans la réalisation de notre étude, car chaque fois que quelque chose était difficile qu'elle nous traçait le chemin. Nous la remercions également pour ses encouragements constants. Dieu vous bénisse.

Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait pour avoir pris le temps d'examiner et d'évaluer ce mémoire.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à:

Dr. MERZOUG Amina, Maître de conférence A au centre universitaire Abdel Hafid Boussouf - Mila, et à **Dr. KADJOU DJ Nadia**, Maître de conférence B au centre universitaire Abdel Hafid Boussouf - Mila.

Nous les remercions pour l'intérêt et les précieux conseils et remarques qu'ils ont portés à ce travail.

BESMA ET INSAF



Dédicace



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

«وآخر دعوانهم أن الحمد لله رب العالمين» صدق الله العظيم

Et ici, nous avons atteint les dernières pages de notre livre de carrière, qui s'estompe et se plie de jour en jour avec des souvenirs inoubliables, ce fut un long et difficile voyage plein d'échecs et de succès, fier de ma lutte pour mes rêves que j'ai poursuivis, et voici le Jour Promis, le jour où j'ai mis le chapeau drapeau et la remise des diplômes, Un jour où les émotions se mélangent entre pleurs et joie. J'ai enfin pu obtenir le titre de diplômé. Dieu soit loué, qui m'a donné ce savoir et m'a aidé à le compléter.

Je dédie ce succès à l'homme qui a décoré mon nom des titres les plus merveilleux, à celui qui m'a soutenu sans limites, à celui qui m'a appris que le succès ne vient qu'avec la patience et la persévérance, à celui qui m'a inculqué une bonne morale et qui a été le premier soutien de mon parcours et de qui j'ai tiré ma force et mon estime de soi..... A la lumière qui a éclairé mon chemin et à la lampe qui ne s'éteint jamais dans mon cœur, mon refuge après Dieu, mon cher père **kamel**, qu'il repose dans sa tombe, j'espère que mes sentiments t'atteignent et que tu es fier de moi. Tu as prouvé que tu es le meilleur éducateur et le meilleur professeur.

À la femme qui a fait de moi une fille ambitieuse, à celle dont l'appel a atténué toutes les difficultés que j'ai rencontrées, au cœur aimant et à la bougie qui était la mienne dans les nuits sombres, à celle qui a fait le paradis sous ses pieds, au grand être humain qui a toujours voulu reconnaître son œil pour me voir un tel jour mon premier professeur et ma force quand la vie m'épuisait, à ma chère mère **NADIA** la lumière de ma vie, que Dieu vous garde.

Je voudrais également adresser mes remerciements à ceux qui m'ont soutenu sans relâche, à ceux qui m'ont aidé dans les affaires de ma vie et la sécurité de mes jours, cher frère **Soufiane**, merci pour vos conseils continus après la mort de mon père. Merci de pouvoir me comprendre et de me guider sur le bon chemin. Mes mots ne suffisent pas et n'expriment pas à quel point je suis reconnaissant et reconnaissant, et c'est le moins que je puisse offrir. que Dieu vous garde et vous benisse.

*Je tiens à remercier particulièrement , à la première personne qui a attendu ces moments pour être fière de moi, à mon soutien et partenaire de vie, à la personne qui est éternelle au milieu de mon cœur, à mon aide après Dieu et mon côté ferme qui ne plie pas, à mon mari **Aymen**, merci d'être à mes côtés en paroles et en actes. Que Dieu vous protège pour moi.*

*Et je n'oublie jamais les étoiles qui éclairent toujours mon chemin, celles qui inspirent ma réussite, les créatrices de mes forces, de mes meilleurs et de mes plus brillants, Ma sœur **Zina** et la femme de mon frère **loubna***

J'adresse également mes salutations à toute ma famille, à mes connaissances et à tous ceux qui m'ont aidé, m'ont donné une idée et ont participé à faire de ce jour un jour spécial pour moi. A tous mes amis, ma deuxième famille, avec qui j'ai passé le les plus beaux moments et les plus beaux jours. Je vous remercie du fond du cœur.

*J'adresse mes sincères remerciements à ma encadrante **Dr. BOUCHERIT Hanane**, pour ses efforts avec nous auprès de nous, ses encouragements, ses précieux conseils et la confiance Vous l'avez mis en nous. J'espère que Dieu vous accordera ce que vous désirez, car les mots ne sont pas suffisantes pour remercier votre grande patience et vos précieux conseils scientifiques, qui ont grandement contribué à l'aboutissement de ce travail.*

*Je n'oublierai jamais la plus belle coïncidence et le meilleur des mille choix pour ma collègue et sœur dans ce travail **insaf** ,C'est ainsi que les mots courent et que les phrases se bousculent. Cinq années de douce amitié nous sont écoulées et nous sommes devenues sœurs et plus.Finalement, le jour promis est arrivé et nous l'avons atteint malgré toutes les difficultés que nous avons rencontrées. Que Dieu vous protège.*

En conclusion : j'espère que Dieu Tout-Puissant me fera bénéficier de ce qu'Il m'a enseigné, m'apprendra ce que je ne sais pas, et accroître mes connaissances.

BESMA



Dédicace

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Je remercie Dieu tout puissant de je avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail, Louange à Dieu qui m'a apporté ce grand jour, après un long voyage de travail acharné et de diligence, de nuits éveillées et après des déceptions et des tentatives sans fin.. J'ai l'honneur de dédie ce travail à mes chers parents **EL HADI** et **HAFIZA**.*

Ma très chère mère Tes prières et tes prières ont été pour moi d'un grand soutien au cours de ce long parcours Tu m'as toujours donné de ton temps, de ton énergie, de ton cœur et de ton amour sachant que tout ce que je pourrais faire ou dire ne pourrait égaler ce que tu m'as donné et fait pour moi Qu'Allah, te garde, te procure santé, bonheur et longue vie pour que tu demeures le flambeau illuminant mon chemin...

A mon cher père A celui qui m'a tout donné sans compter, à celui qui m'a soutenu toute ma vie, à celui à qui je dois ce que je suis et ce que je serai Puisse Allah, te protéger de tout mal, et accorder une longue et heureuse vie, afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude À :

*Mes beaux-frères **SALAH EL-DINE**, **ABD EL- RAOUF**, ont toujours été mon soutien,*

Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

*Ma chère sœur **ISRAA**. Je suis reconnaissant de vous avoir dans ma vie. je t'aime.*

*Mon beau et gentil encadrant, le maître de conférences **Boucherit Hanane** pour tous ses précieux conseils, pour son écoute active, sa disponibilité. En effet, Commencer ce travaille et finir en si peu de temps, n'a pas était une tâche facile, et je n'aurais pas tant réussi si je n'avais pas reçu ses conseils.*

*Ma cousine **Safaa** et **Mohammed** qui m'ont beaucoup aidé.*

Je tiens également à remercier :

Ma famille élargie, ma grand-mère, mes tantes et mes oncles. Pour vos encouragements et vos encouragements

Mes professeurs tout au long de mon parcours académique.

Mes chers amis pour les moments inoubliables qu'on a vécus ensemble durant ces années. Bonne chance pour vous aussi.. Et tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

*Je remercie également mon binôme ma chère **BESMA** qui a partagé ce travail avec moi, on a passé des moments agréables et des autres aussi incroyables mais dieu merci, notre amitié était et sera au-dessus de tous les obstacles.*

Insaf

Thème : Application d'une approche de criblage virtuel pour la découverte de nouveaux agents antibactériens

Résumé

La découverte des antibiotiques a fait naître l'espoir qu'il serait un jour possible de juguler l'ensemble des maladies infectieuses. Cependant, l'utilisation excessive des antibiotiques conduit à l'augmentation du nombre de bactéries multirésistantes est devenue une menace sanitaire essentielle au niveau mondial. Ceci rend nécessaire le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques, basées notamment sur la recherche de nouvelles molécules capables d'agir comme nouveaux agents antibactériens. Au cours de ce travail, nous nous sommes appuyés sur le traitement des infections bactériennes basé sur l'inhibition de la 1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate réducto-isomérase (DXR), une enzyme essentielle de la voie non-mévalonique de synthèse des isoprénoides, chez la plupart des microorganismes pathogènes. L'objectif principal de cette recherche est d'acquérir des compétences en modélisation moléculaire, dont la plus importante est le criblage virtuel qui est basé sur le docking moléculaire par Surflex-dock afin de contribuer au développement *in silico* de nouveaux inhibiteurs plus puissants et plus sélectifs de la DXR de *Mycobacterium tuberculosis*.

Nos résultats montrent que le programme Surflex-dock est assez performant pour contribué à la mise au point des nouvelles molécules à activité thérapeutique avec 94,05 % des valeurs de RMSD calculées sont inférieures ou égale à 2 Å. Ce test a été suivi d'une analyse visuelle de la superposition des ligands Co-cristallisés. Ces tests nous permettent de considérer Surflex-dock comme un programme de docking hautement performant. Le docking moléculaire d'une collection de 236 similaires de l'inhibiteur 6JB issus de la chimiothèque PubChem, fait ressortir les composés CID14555675, CID49801563, CID113304440 et CID60701454 comme meilleurs inhibiteurs de la DXR avec des affinités égale à $8,73 \text{ M}^{-1}$, $8,99 \text{ M}^{-1}$, $8,20 \text{ M}^{-1}$ et 8.64 M^{-1} respectivement. Enfin, l'application de filtrage ADME-Tox nous renseigne de façon positive sur les propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques des inhibiteurs proposés.

Mots clés : Agents antibactériens, Docking moléculaire, Surflex-dock, DXR, RMSD, Filtrage ADME-Tox

Theme: Application of a virtual screening approach for the discovery of new antibacterial agents

Summary

The discovery of antibiotics gave rise to hope that it would one day be possible to control all infectious diseases. However, the excessive use of antibiotics leading to the increase in the number of multi-drug resistant bacteria has become a key health threat globally. This makes it necessary to develop new therapeutic strategies, based in particular on the search for new molecules capable of acting as new antibacterial agents. During this work, we relied on the treatment of bacterial infections based on the inhibition of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase (DXR), an essential enzyme of the non-mevalonic pathway of synthesis of isoprenoids, in most pathogenic microorganisms. The main objective of this research is to acquire skills in molecular modeling, the most important of which is virtual screening which is based on molecular docking by Surflex-dock in order to contribute to the *in silico* development of new, more powerful and more selective inhibitors of DXR of *Mycobacterium tuberculosis*.

Our results show that the Surflex-dock program is efficient enough to contribute to the development of new molecules with therapeutic activity with 94.05% of the calculated RMSD values being less than or equal to 2Å. This test was followed by a visual analysis of the superposition of Co-crystallized ligands. These tests allow us to consider Surflex-dock as a high-performance docking program. Molecular docking of a collection of 236 similar 6JB inhibitors from the PubChem chemical library highlights the compounds CID14555675, CID49801563, CID113304440 and CID60701454 as the best DXR inhibitors with affinities equal to 8.73 M⁻¹, 8.99 M⁻¹, 8.20 M⁻¹ and 8.64 M⁻¹ respectively. Finally, the ADME-Tox filtering application provides us with positive information on the physicochemical, pharmacokinetic and toxicological properties of the proposed inhibitors.

Keywords: Antibacterial agents, Molecular docking, Surflex-dock, DXR, RMSD, ADME-Tox filtration

الموضوع: تطبيق أسلوب الفحص الافتراضي لاكتشاف مضادات جديدة للبكتيريا.

الملخص

وقد أدى اكتشاف المضادات الحيوية إلى زيادة الأمل في أنه سيكون من الممكن في يوم من الأيام السيطرة على جميع الأمراض المعدية. ومع ذلك، فإن الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية الذي يؤدي إلى زيادة عدد البكتيريا المقاومة للأدوية المتعددة أصبح يشكل تهديدا صحيا رئيسيا على مستوى العالم. وهذا يجعل من الضروري تطوير استراتيجيات علاجية جديدة، تعتمد بشكل خاص على البحث عن جزيئات جديدة قادرة على العمل كعوامل مضادة للجراثيم جديدة. خلال هذا العمل، اعتمدنا على علاج الالتهابات البكتيرية على أساس تثبيط 1- désoxy-D-xylulose 5-phosphate réducto-isomérase (DXR)، وهو إنزيم أساسي للمسار غير الميفالوني لتخليق الأيزوبرنويدات، في معظم حالات الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض. الهدف الرئيسي من هذا البحث هو اكتساب مهارات في النمذجة الجزيئية، وأهمها الفحص الافتراضي الذي يعتمد على الالتحام الجزيئي بواسطة Surflex-dock من أجل المساهمة في تطوير مثبطات جديدة أكثر قوة وأكثر انتقائية لـ DXR الخاص ببكتيريا *Mycobacterium tuberculosis*.

تظهر نتائجنا أن برنامج Surflex-dock فعال بما يكفي للمساهمة في تطوير جزيئات جديدة ذات نشاط علاجي حيث تكون 94.05% من قيم RMSD المحسوبة أقل من أو تساوي 2 Å وأعقب هذا الاختبار تحليل مرئي لتراكب المركبات المتبلورة. تسمح لنا هذه الاختبارات باعتبار Surflex-dock برنامج إرساء عالي الأداء. يسلط الالتحام الجزيئي لمجموعة مكونة من 236 مركب مماثل لـ JB6 من مكتبة PubChem الكيميائية الضوء على المركبات CID49801563، CID14555675، CID113304440 و CID60701454 كأفضل مثبطات DXR ذات ارتباطات تساوي 8.64 M^{-1} ، 8.73 M^{-1} ، 8.20 M^{-1} و 8.99 M^{-1} على التوالي. أخيرًا، يوفر لنا تطبيق ترشيح ADME-Tox معلومات إيجابية عن الخواص الفيزيائية والكيميائية والحركية الدوائية والسمية للمثبطات المقترحة.

الكلمات المفتاحية: العوامل المضادة للبكتيريا، الالتحام الجزيئي، Surflex-dock، DXR، RMSD، ترشيح-ADME

Tox

Table des matières

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Summary	
ملخص	
Table des matières	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des graphes	
Glossaire	
Liste des abréviations	
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I. LES INFECTIONS BACTERIENNES	3
I. Les maladies infectieuses	3
II. Les antibiotiques	3
III. Classification des antibiotiques et leurs mécanismes d'action	4
III.1. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi	4
III.2. Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique	4
III.3. Antibiotiques actifs sur la synthèse des protéines	4
III.4. Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques	5
IV. La résistance bactérienne aux antibiotiques	5
V. Les bactéries multi-résistantes	7
V.I. La découverte des nouveaux agents antimicrobiens	8
VI. Exemple d'une maladie infectieuse « Tuberculose »	9
VI.1. Définition	9
VI.2. <i>Mycobactéries tuberculosis</i>	9
VI.3. La transmission	10
VI.4. Symptômes	11
VI.5. Traitement	11
VI.6. Les nouveaux antituberculeux	12
CHAPITRE II. La 1-déoxy-D-xylulose 5-phosphate réductoisomérase	13
I.1. Isoprénoïdes	13

I.2. Voies mévalonique et non mévalonique	14
I.3. Voie de biosynthèse des isoprénoïdes comme cible thérapeutique	16
II. La 1-déoxy-D-xylulose-5-phosphate réductoisomérase (DXR).....	16
II.1. Définition.....	16
II.2. Mécanisme d'action	17
II.3. Structure.....	17
III. Inhibiteurs de la DXR.....	19
III.1. Fosmidomycine	19
III.2. FR-900098.....	19
III.3. Mode d'inhibition de la fosmidomycine	20
III.4. Analogues de la fosmidomycine	21
CHAPITRE III. LE CRIBLAGE VIRTUEL.....	23
I. Généralités.....	23
II. Criblage virtuel	24
II.1. Définition.....	24
II.2. Les outils criblage virtuel	24
II.3. Méthodes de criblage virtuel	27
III. Docking moléculaire.....	29
III.1. Définition.....	29
III.2. Principe générale de docking moléculaire.....	30
III.3. Types de docking moléculaire.....	30
III.4. Étapes impliquées dans le docking moléculaire.....	31
III.5. Le programme de docking Surflex-dock.....	32
CHAPITRE IV. MATERIEL ET METHODES	36
I. Matériel	36
I.1. Micro-ordinateurs.....	36
I.2. Les bases de données	36
I.3. Programmes utilisés.....	38
I.4. Les Serveurs.....	42
II. Méthodes.....	44
II.1. Test de fiabilité de programme Surflex-dock.....	44
II.2. Réalisation du docking moléculaire par Surflex-dock.....	45
III. Prédiction de la similarité médicamenteuse.....	47
III.1. Filtrage ADEM-TOX	48

III.2. Propriétés physico-chimiques	48
III.3. Propriétés pharmacocinétiques.....	49
III.4. La toxicité.....	51
CHAPITRE V. RESULTATS ET DISCUSSIONS	53
I. Tests de fiabilité du programme de docking Surflex-dock.....	53
I.1. La précision du positionnement des composées (RMSD)	53
I.2. Analyse visuelle	58
I.3. Conclusion	62
II. Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de la DXR par diverses molécules provenant de la PDB	62
II.1.Choix du complexe.....	62
II.2.Les acides aminés de site actif de l'enzyme DXR.....	63
II.3.Docking moléculaire des inhibiteurs provenant de la PDB.....	64
II.4.Etude des interactions 4A03-inhibiteur 6JB.....	67
III. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la DXR.....	70
III.1. Inhibition de la DXR par les similaires de l'inhibiteur 6JB	70
III.2. Molécules sélectionnées comme candidats	72
IV. Etude des interactions de quatre similaires sélectionnés	73
IV.1. Analyse visuelle 4A03-CID14555675	73
IV.2. Analyse visuelle 4A03-CID49801563	75
IV.3.Interaction de complexe 4A03-CID113304440	77
IV.4.Interaction de complexe 4A03-CID60701454	79
V. Prédiction de la similarité médicamenteuse.....	80
V.1. Propriétés physico-chimiques	80
V.2. Propriétés pharmacocinétiques.....	81
V.3.La toxicité.....	83
CONCLUSION	85
Références bibliographiques.....	87

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I.1	Les principaux BMR communautaires et hospitaliers.	8
III. 1	Différents logiciels de docking moléculaire.	26
V.1	Les résultats des calculs des 168 complexes protéine-ligand utilisés pour tester la fiabilité de programme Surflex-dock.	54
V.2	Valeurs de RMSD 35 complexes DXR inhibiteur étudiés.	58
V.3	Valeurs de RMSD des trois complexes de la DXR choisis.	59
V.4	Les caractéristiques de l'enzyme DXR.	63
V.5	Les scores des 19 inhibiteurs obtenus suite au docking moléculaire avec Surflex-dock	64
V.6	Liaisons hydrogène établies par le composé 6JB avec le site actif de la DXR.	68
V.7	Résultats de docking avec le logiciel Surflex-dock dans le site actif de la 4A03.	70
V.8	Données chimiques et structurales des composés sélectionnés comme candidats.	72
V.9	Les liaisons hydrogène établies par l'inhibiteur CID14555675 avec le site actif de la DXR.	74
V. 10	Les liaisons hydrogène établies par composé CID49801563	76
V. 11	Les ponts H formés par le composé CID-113304440 et les résidus du site actif de la DXR.	78
V.12	Les six liaisons formées par l'inhibiteur CID60701454.	79
V.13	Critères de la règle de Lipinski pour les inhibiteurs choisis	80
V.14	Propriétés pharmacocinétiques des inhibiteurs choisis.	82
V. 15	Le profil de toxicité relative des composés étudiés.	83

Liste des figures

Liste des figures

Figure	Titre	Page
I.1	Principaux modes d'action des antibiotiques et familles associées.	5
I. 2	Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques.	7
I. 3	Structure de Mycobactéries tuberculosis.	10
I. 4	Mode de transmission du M. tuberculosis.	11
II. 1	Structure dérivée par de l'isoprène.	13
II. 2	Représentation des étapes de la voie mévalonique.	15
II. 3	Représentation des étapes de la voie non mévalonique.	16
II. 4	Réarrangement et réduction du DXP en MEP catalysés par IspC.	17
II. 5	Structure cristalline du monomère de DXR d' E. coli avec DXP et NADPH.	18
II. 6	Structure de la fosmidomycine (à gauche) et de son analogue méthylé, le FR900098 (à droite), isolés respectivement à partir de la souche de Streptomyces lavendulae et de Streptomyces rubellomurinus. La fonction phosphonate est entourée en bleu, la chaîne carbonée en orange et la fonction hydroxamate en vert.	20
II. 7	Analogie structurale entre la fosmidomycine et le substrat DXP.	20
II. 8	Mécanisme du slow, thigh-binding inhibitor	21
II. 9	Relation structure activité des analogues de la fosmidomycine.	21
II. 10	Présentation des trois groupes d'analogues de la fosmidomycine.	22
III.1	Etapes du processus de recherche et développement des médicaments	24
III.2	Classification des méthodes de criblage virtuel	27
III. 3	Méthodes pour obtenir la structure 3D d'une cible biologique d'intérêt	28
III. 4	Représentation schématique du docking moléculaire	29
III.5	Étapes typiques d'un docking	32
III. 6	Les différents domaines d'application du docking moléculaire dans la recherche de médicaments	35

IV. 1	Site internet de la base des données PDB.	37
IV. 2	Interface graphique de la chimiothèque PubChem	38
IV. 3	Programme Surflex-dock	39
IV. 4	Conversion de fichiers par le programme Open Babel	40
IV. 5	Visualisation par le logiciel Viewerlite	41
IV. 6	Visualisation par le logiciel Biovia Discovery Studio	42
IV. 7	Interface graphique du serveur SwissADME.	43
IV. 8	Interface graphique de serveur PreADMET	43
IV. 9	Génération de protocole : Protomol.mol2 pour le code 4A03 comparé à la pose native de l'inhibiteur de référence (vert).	46
IV. 10	Capture d'écran des résultats du docking obtenus par le logiciel Surflex-dock	47
IV. 11	Résultat du calcul le RMSD par le programme Surflex-dock	47
IV. 12	Déroulement d'un test d'Ames	52
V.1	Superposition du ligand 34F du complexe 2Y1D simulé par Surflex-dock (coloré en rose) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en vert).	60
V.2	Superposition du ligand FM6 du complexe 3zhy simulé par Surflex-dock (couleur rose) vis-à-vis de la conformation expérimentale (couleur vert).	60
V.3	Superposition du ligand R77 du complexe 4y6p simulé par Surflex-dock (coloré en rose) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en vert).	61
V.4	Structure 2D et 3D du ligand R77.	62
V.5	La structure 3D de l'enzyme DXR et son site actif par Biovia Discovery Visualizer	64
V.6	Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction de l'inhibiteur 6JB avec le site actif de la 4A03.	68
V. 7	Représentation des liaisons hydrogène formées par l'inhibiteur 6JB dans le site actif de la 4A03.	69
V. 8	Représentation des interactions hydrophobiques formées avec l'inhibiteur 6JB dans le site actif de la DXR.	69
V. 9	Représentation des interactions hydrogènes formées entre le composé CID14555675 et le site actif de la DXR.	74

V.10	Analyse visuelle des liaisons hydrophobes entre le composé CID14555675 et le site actif de la DXR.	75
V.11	Représentation des liaisons hydrogène formées entre le composé CID49801563 et le site actif de la DXR	76
V. 12	Représentation des interactions hydrophobiques formées entre le composé CID49801563 et le site actif de la DXR.	77
V.13	Représentation des liaisons hydrophobes formées par CID113304440	77
V.14	Représentation des liaisons hydrogène formées par l'inhibiteur CID113304440	78
V. 15	Représentation des liaisons hydrogène formées par l'inhibiteur CID60701454	79
V. 16	Représentation des interactions hydrophobiques formées par l'inhibiteur CID60701454	80

Liste des graphes

Liste des graphes

Graphe	Titre	Page
V.1	Résultats en % du test RMSD à deux intervalles.	57
V.2	Résultats en % obtenu par Surflex-dock à des différents intervalles de RMSD.	57

GLOSSAIRE

Glossaire

Agents anti-infectieux : constituent une catégorie vitale d'ingrédients pharmaceutiques actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies infectieuses.

Amphipathique : une molécule (en général organique) portant à la fois un groupement hydrophile (pouvant se lier à l'eau) et un groupement hydrophobe (qui n'aime pas l'eau).

Antibiotiques : sont des médicaments qui agissent soit en empêchant la croissance des bactéries (bactéricides), soit en les tuant (antibiotiques bactéricides). Ils peuvent être naturels ou synthétiques.

Bactérie à Gram négatif : est une bactérie avec des parois cellulaires épaisses. Sont mises en évidence par une technique de coloration appelée coloration de Gram. Les bactéries à gram négatif apparaissent alors roses au microscope.

Bactérie à Gram positif : est une bactérie qui conserve la couleur violet de cristal lorsqu'elle est décolorée à l'alcool ; elle se colore en violet foncé

Bactéries multi résistantes aux antibiotiques : sont des bactéries qui conjuguent plusieurs mécanismes de résistance à plusieurs familles d'antibiotiques, ce qui limite les possibilités thérapeutiques en cas d'infection.

Chimiothèque : est une banque de données de molécules. C'est une collection de molécules (existantes ou non) dont les structures et éventuellement les propriétés sont archivées sous un format électronique. La plupart des chimiothèques couramment utilisées existent à la fois physiquement (molécules disponibles en poudre) et électroniquement.

Criblage à haut débit (*high-throughput screening*, HTS) : consiste à tester de façon systématique un grand nombre de molécules, le plus souvent chimiques, dans un test *in vitro* visant à évaluer l'engagement d'une ou plusieurs cibles dont l'activité est supposée être en lien avec une maladie définie.

Drogue : la ressemblance médicamenteuse est un concept qualitatif utilisé dans la conception de médicaments pour déterminer dans quelle mesure une substance est « médicamenteuse » par rapport à des facteurs tels que la biodisponibilité. Il est estimé à partir de la structure moléculaire avant même que la substance ne soit synthétisée et testée.

Hit : l'identification ou découverte des hits est un processus utilisé dans la découverte de médicaments pour identifier les composés qui ont le potentiel de se lier à une protéine cible spécifique et de moduler son activité de la manière souhaitée.

Homodimère : est une protéine composée de deux chaînes polypeptidiques identiques dans l'ordre, le nombre et la nature de leurs résidus acides aminés.

In silico : est un néologisme d'inspiration latine désignant une recherche ou un essai effectué au moyen de calculs complexes informatisés ou de modèles informatiques

Infections : pénétration et prolifération dans le corps d'un micro-organisme invisible à l'œil nu (bactérie, virus), susceptible de provoquer un problème de santé.

Inhibiteur : est un composé dont l'action est d'inhiber une réaction chimique, c'est-à-dire qu'il agit de manière plus ou moins importante sur la vitesse de réaction.

Inhibition compétitive : phénomène dans lequel une molécule de substrat est empêchée de se lier au site actif d'une enzyme par une molécule dont la structure est très similaire à celle du substrat. Ainsi, la molécule inhibitrice et le substrat sur lequel l'enzyme agit « sont en compétition » pour le même site de liaison.

Inhibition non compétitive : est un type d'inhibition enzymatique où l'inhibiteur réduit l'activité de l'enzyme et se lie également bien à l'enzyme, qu'il ait déjà lié ou non le substrat.

Interaction électrostatique : est l'une des interactions fondamentales simplifiée qui permet l'étude des phénomènes électriques pour des charges immobiles.

Ligand : est un atome, un ion ou une molécule, généralement une petite molécule qui se lie à un site de liaison.

Peptidoglycane : molécule constituée d'un peptide (polypeptide) et d'une chaîne polysidique (glycosaminoglycane) liée par son extrémité réductrice à un des radicaux d'acide aminé.

Relations quantitatives/qualitatives structure-activité (QSAR) : un ensemble de méthodes grâce auxquelles les effets de différents composés sont associés à leur structure moléculaire. Elles permettent de prédire les effets nocifs ou bénéfiques probables d'un composé chimique donné, en le comparant avec d'autres composés qui présentent des structures similaires.

Liste des abréviations

Liste des abréviations

2D : Bidimensionnelle

3D : Tridimensionnel

Å : Angström

ADME-Tox : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité

BHE : Perméabilité de la barrière hémato-encéphalique

BMR : Bactéries multi-résistantes

CYP450: Cytochrome P450

DMAPP: Diphosphate de diméthylallyle

DXP: 1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate

DXR : 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate réductoisomérase

FDA: Food and Drug Administration

GI: *Absorption Gastro-Intestinal*

HERG: *Human Ether-à-go-go-Related Gene*

IC₅₀ : Concentration de l'inhibiteur causant 50% d'inhibition

IPP : Diphosphate d'isopentényle

Log P : Le coefficient de partition Octanol /Eau

M. tuberculosis : *Mycobactéries tuberculosis*

MEP: Méthylérythritol phosphate

OMS : Organisation mondiale de la Santé

ONU : Organisation des Nations Unies

PDB : *Protein Data Bank*

RAM : Résistance aux antimicrobiens

RMSD: *Root Mean Square Deviation*

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La découverte des antibiotiques a longtemps fait croire que la bataille contre les infections d'origine bactérienne était gagnée. Malheureusement, le génie adaptatif des bactéries leur a permis de développer des résistances, favorisées par le mésusage des antibiotiques et les bactéries ont progressivement accumulé dans leur matériel génétique les gènes conduisant à la multirésistance (Birgand et Lucet, 2013). Cette situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier et le nombre de bactéries résistantes est sans cesse d'augmentation et nous assistons de plus en plus à l'émergence de nouvelles résistances (Mazari, 2010).

Dans ce contexte, la découverte de la voie non-mévalonique (MEP) qui est responsable de la biosynthèse des précurseurs des isoprénalides chez la plupart des bactéries, les protozoaires et les plantes leur absence de cette voie chez les mammifères et plus particulièrement chez l'humain, fait des enzymes de cette voie des cibles potentielles pour la mise au point de nouveaux agents anti-infectieux (Pouyez, 2014). Dans notre mémoire, nous avons étudié la deuxième enzyme de cette voie, la 1-déoxy D-xylulose-5-phosphate réductoisomérase (DXR) qui catalyse le réarrangement du DXP en MEP en présence d'un cation divalent et du cofacteur NADPH. L'étude de l'inhibition de cette enzyme chez la bactérie *Mycobacterium tuberculosis*, est sans doute l'une des plus étudiées pour la lutte de la tuberculose (Pouyez, 2014).

Au fil des années, le traitement des maladies infectieuses en général et de la tuberculose en particulier nécessite la découverte des nouveaux médicaments. Aujourd'hui, et grâce aux progrès dans le domaine de la modélisation moléculaire qui s'appuie sur des méthodes et des techniques informatiques dont la plus importante est le criblage virtuel qui est basé sur le docking moléculaire, nous avons remarqué la découverte de nouveaux médicaments pour traiter diverses maladies infectieuses.

Le criblage virtuel est une stratégie informatique utilisée pour la recherche et le développement de nouveaux médicaments grâce à l'identification de petites molécules actives contre une certaine cible biologique à partir d'une vaste bibliothèque chimique. Les méthodes de criblage virtuel peuvent être divisées en deux grandes catégories : le criblage virtuel basé sur la structure de la cible et le criblage virtuel basé sur le ligand (Andrea et Elena, 2020). L'une des méthodes de criblage virtuel les plus utilisées est le docking moléculaire.

Ce dernier est un processus qui implique une combinaison de molécules où une molécule se lie à d'autres molécules pour former un complexe lié avec des besoins énergétiques minimaux. Cela implique non seulement la liaison à la cible, mais implique également l'identification de la conformation correcte du ligand dans la liaison à la cible et identifie la force entre la cible et le ligand. Au cours de ces dernières années, les méthodes de docking moléculaire ont bien progressés dans divers domaines tel que la médecine la pharmacie et la biologie (Poudyal, 2021).

L'objectif principal de cette recherche est l'utilisation d'une approche de criblage *in silico* qui s'appuie sur la technique de docking moléculaire pour découvrir des nouveaux agents antibactériens et de nouveaux inhibiteurs de la cible thérapeutique DXR, afin de lutter contre la bactérie *Mycobacterium tuberculosis* responsable de la tuberculose.

Ce travail comprend cinq chapitres divisé dans deux grandes parties : partie théorique et partie pratique.

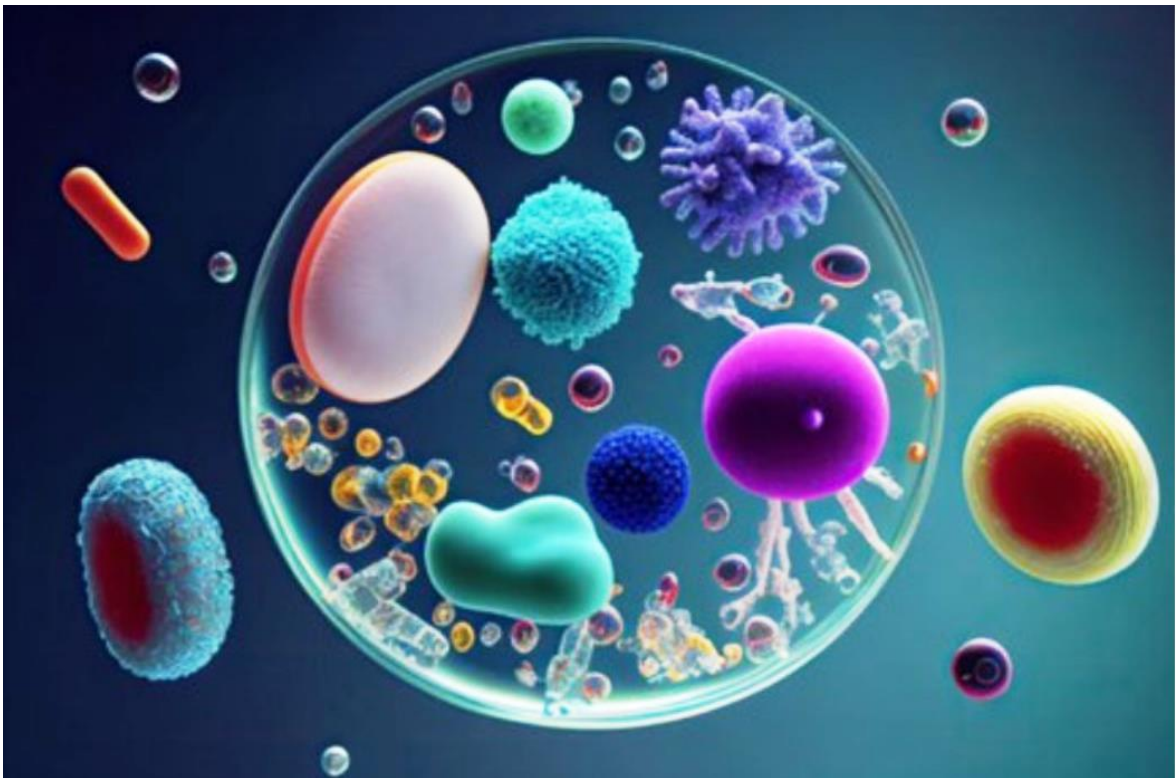
- La partie théorique est composée de trois chapitres :

Dans le premier chapitre, nous avons présenté un aperçu des maladies infectieuses, notamment de la tuberculose, ainsi que les mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. Dans le deuxième chapitre, nous avons donné une description détaillée de notre cible enzymatique la 1-déoxy-D-xylulose-5-Phosphate réductoisomérase (DXR) et la manière dont elle se lie et interagit avec ses inhibiteurs en particulier la fosmidomycine. Le troisième chapitre, abordé la technique de criblage virtuel qui dépend du processus de docking moléculaire. Ce dernier est considéré comme parmi les méthodes les plus utilisés et les plus rapides pour découvrir et développer des nouveaux candidats médicaments.

- La partie pratique est constituée de deux chapitres :

Le premier chapitre est consacré au matériel et méthodes, où nous avons présenté divers programmes, notamment Surflex-dock et autres serveurs qui nous ont utilisés dans ce travail. Dans le second chapitre, nous avons exposé les résultats les plus importants qui ont été discutés et analysés par rapport aux recherches précédentes. Suivi d'une conclusion générale et quelques prescriptives.

Chapitre I
Les infections bactériennes



CHAPITRE I. LES INFECTIONS BACTERIENNES

I. Les maladies infectieuses

Les maladies infectieuses sont les maladies les plus fréquentes, plus de tiers des malades hospitalisés reçoivent au moins un antibiotique. On distingue les maladies bactériennes dues aux bactéries et les maladies virales dues aux virus. Les infections peuvent être également d'origine fongique ou parasitaire (Gervais et Willoquet, 2017).

Les bactéries pathogènes sont des bactéries capables d'induire une pathologie chez le sujet infecté. L'organisation mondiale de la Santé (OMS) a lancé en 2017 un cri d'alerte sur le fait que « les "superbactéries" résistantes aux antibiotiques mettent en échec la médecine moderne et menacent de nous renvoyer un siècle en arrière ». Ainsi, l'une des dix plus grandes menaces pour la santé publique, est la résistance aux antimicrobiens (OMS, 2019).

L'être humain peut être infecté par une bactérie de manière endogène, à partir de ses flores bactériennes (commensales ou colonisatrices), ou de manière exogène, en interagissant avec son environnement (air, surfaces, eau, sol, alimentation, etc.) ou d'autres êtres vivants (plantes, insectes, mammifères,...etc.) notamment une personne porteuse d'une bactérie pathogène (Levin et *al*, 2001).

Les infections bactériennes sont associées à une morbidité et une mortalité importante. Le spectre de ces infections et de leur gravité est très large, allant de la simple folliculite bactérienne à la gravissime méningococcémie. La gravité des infections dépend également de la situation des défenses immunitaires de l'hôte. Si certaines infections peuvent guérir sans intervention médicale, comme les cystites, d'autres nécessitent une prise en charge rapide et adaptée. A ce titre, les antibiotiques sont le principal traitement des infections bactériennes (ECDC, 2019).

II. Les antibiotiques

La découverte des antibiotiques a été une des grandes avancées médicales des 20^{ème} siècles par Alexander Fleming, qui a observé les effets de la pénicilline en 1928. Associés à la vaccination, ils ont notamment contribué à réduire les grandes épidémies, en particulier dans les pays occidentaux, ils sont le principal traitement des infections bactériennes (Salam, 2022). Ces molécules permettent de bloquer la croissance des bactéries ou de les détruire.

Dans le premier cas elles sont appelés bactériostatiques, dans le deuxième cas bactéricides. Les antibiotiques peuvent être des produits de synthèse, mais la plupart sont produits de façon naturelle par des microorganismes pour réguler leur croissance, ou lorsqu'ils sont soumis à des conditions particulières.

Les propriétés bactériostatiques ou bactéricides des antibiotiques proviennent de leur capacité à bloquer une étape d'un mécanisme essentiel à la multiplication ou à la survie des bactéries. Pour cela, ils visent une cible spécifique de la cellule bactérienne, présentant ainsi une toxicité sélective, c'est-à-dire, qu'aux doses utilisées, ils n'affectent que certaines bactéries et non pas l'hôte infecté (Walsh, 2003 ; Waglechner et Wright, 2017).

III. Classification des antibiotiques et leurs mécanismes d'action

Le mécanisme d'action des antibiotiques est le support de leur toxicité sélective ; c'est ce qui les différencie des antiseptiques. Ils interviennent généralement soit au niveau de la paroi bactérienne, de la membrane cytoplasmique, de la synthèse des protéines ou des acides nucléiques (Koné, 2007). Les mécanismes d'action des antibiotiques sont résumés dans la figure I.1 ci-dessous.

III.1. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi

La paroi bactérienne est une coque qui protège les bactéries de la pression osmotique de l'environnement. Le squelette de cette paroi est une macromolécule (le peptidoglycane). Les différences de structure de la paroi expliquent les différences de sensibilité des bactéries vis-à-vis des antibiotiques agissant à ce niveau. La destruction de la paroi entraîne la formation de sphéroblastes qui sont des bactéries dépourvues de paroi, incapables de se développer dans un milieu hypertonique (Koné, 2007).

III.2. Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique

Grâce à leur caractère amphipathique ces antibiotiques pénètrent dans la cellule bactérienne puis ils s'insèrent parmi les phospholipides de la paroi perturbant par la suite la perméabilité membranaire.

III.3. Antibiotiques actifs sur la synthèse des protéines

Les ribosomes des cellules procaryotes sont constitués de protéines différentes des cellules eucaryotes (sous unités lourdes et légères). Ces antibiotiques peuvent :

- Empêchent la fixation d'un nouvel acide aminé sur la chaîne .
- Empêchent ou perturbent la liaison de certains acides aminés entraînant une erreur de lecture .
- Altèrent l'ADN nucléaire ou gênent sa réplication (Koné, 2007).

III.4. Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques

Ils perturbent la synthèse des acides nucléiques (ADN, ARN) entraînant ainsi une modification du message génétique. Mais contrairement aux peptidoglycanes, l'ADN et l'ARN ne sont pas propres au monde bactérien. Ces antibiotiques qui agissent sur eux sont toxiques pour toutes les cellules (bactérienne ou non) (Koné, 2007).

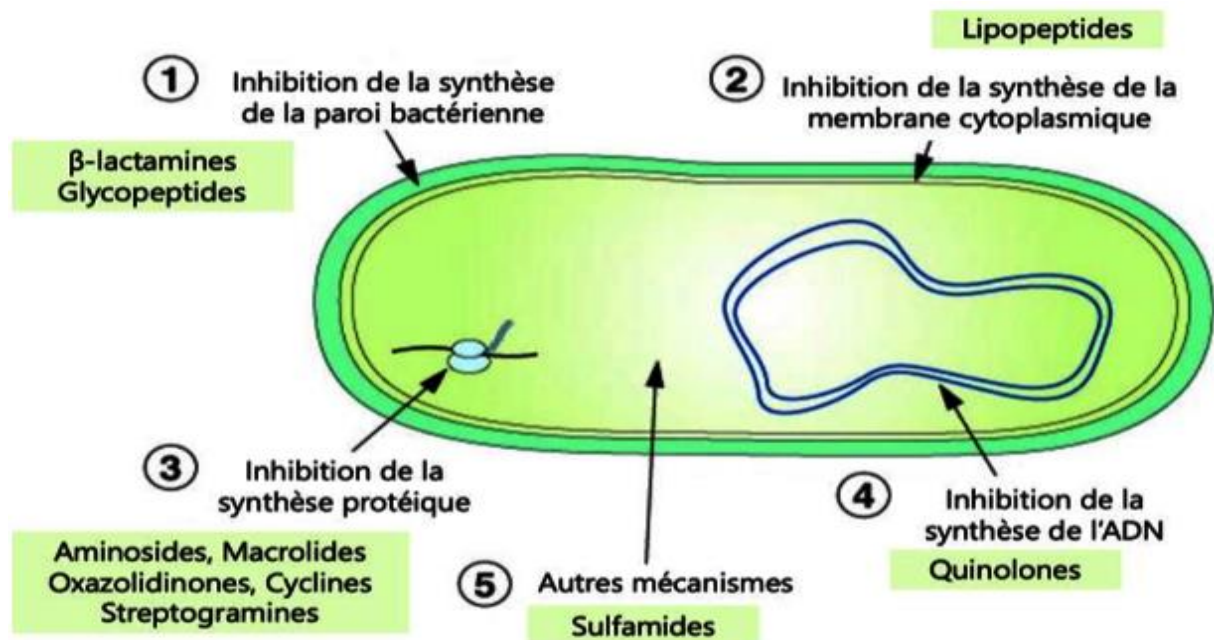


Figure I.1. Principaux modes d'action des antibiotiques et familles associées (Salam, 2022).

IV. La résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance des bactéries aux antibiotiques est un phénomène mondial, en développement continu, qui représente un enjeu majeur de santé publique car peut conduire à des échecs de traitement et une morbi-mortalité accrue (OMS, 2015 ; Murray et al, 2022).

Une bactérie est dite résistante à un antibiotique lorsque les taux nécessaires à inhiber sa croissance *in vitro* sont supérieurs aux taux qui peuvent être couramment atteints *in vivo*. On parle alors de résistance bactérienne quand un micro-organisme s'adapte au milieu et réussit à modifier son métabolisme pour continuer à se développer en présence de l'antibiotique qui

devrait le détruire (Yalcouyé, 2020). C'est-à-dire que c'est l'absence d'effet d'un antibiotique pour lequel l'espèce bactérienne est naturellement sensible, pour laquelle on attend un effet thérapeutique lors d'un traitement à dose habituelle par voie générale (Walsh, 2003 ; Waglechner et Wright, 2017).

IV.1. Les types et les mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques

Deux types de résistances sont à distinguer :

IV.1.1. La résistance innée ou naturelle

Toutes les bactéries d'une même espèce sont résistantes à un antibiotique. Cette résistance provient d'une spécificité de la bactérie qui empêche l'antibiotique de jouer son rôle (inaccessibilité de la cible, dégradation de l'antibiotique avant atteinte de la cible,...etc.) (Levy et Marshall, 2004).

IV.1.2. La résistance acquise

Elle apparaît lorsque certaines bactéries d'une espèce donnée acquièrent une résistance à un antibiotique alors qu'initialement, elles étaient sensibles à cet antibiotique. Les bactéries sont en perpétuelle évolution afin de s'adapter à leur environnement. Par utilisation répétée d'un même antibiotique, des modifications ou des acquisitions génétiques vont faire que la bactérie va intégrer cet antibiotique comme faisant partie de son environnement, et ainsi s'adapter en conséquence. Ces bactéries, devenues résistantes à l'antibiotique en question, vont pouvoir transmettre leur patrimoine génétique de manière verticale (descendance), mais également de manière horizontale (plasmides) (Levy et Marshall, 2004). Les résistances acquises peuvent conduire à (Salam, 2022) :

- Inactiver l'antibiotique.
- Modifier sa cible d'action produire des protéines alternatives à la cible d'action ;
- Limiter son entrée dans la bactérie.
- Expulser l'antibiotique hors de la bactérie par efflux.

De nombreux mécanismes entrent en jeu dans ce phénomène. Concernant les bactéries résistantes aux antibiotiques, plusieurs processus ont été mis en évidence (figure I .2). Dans certains cas, la structure de la cible de l'antibiotique est modifiée, réduisant l'affinité de l'antibiotique avec celle-ci. Dans d'autres, c'est la surexpression du gène de la molécule cible, augmentant sa production, qui permet de dépasser la capacité d'action de l'antibiotique et de

maintenir suffisamment d'activité pour se développer. Certains mécanismes de résistance impliquent une diminution de l'accès à la cible bactérienne, par la réduction de la perméabilité membranaire (modification de la structure des porines ou réduction de leur nombre par exemple), ou par la production de pompes à efflux qui larguent l'antibiotique hors de la bactérie. Enfin, certaines bactéries agissent directement sur les antibiotiques, en les inhibant à l'aide d'une enzyme, comme les bêta-lactames ou les carbapénemases (Courvalin, 2008 ; Davies, 2010).

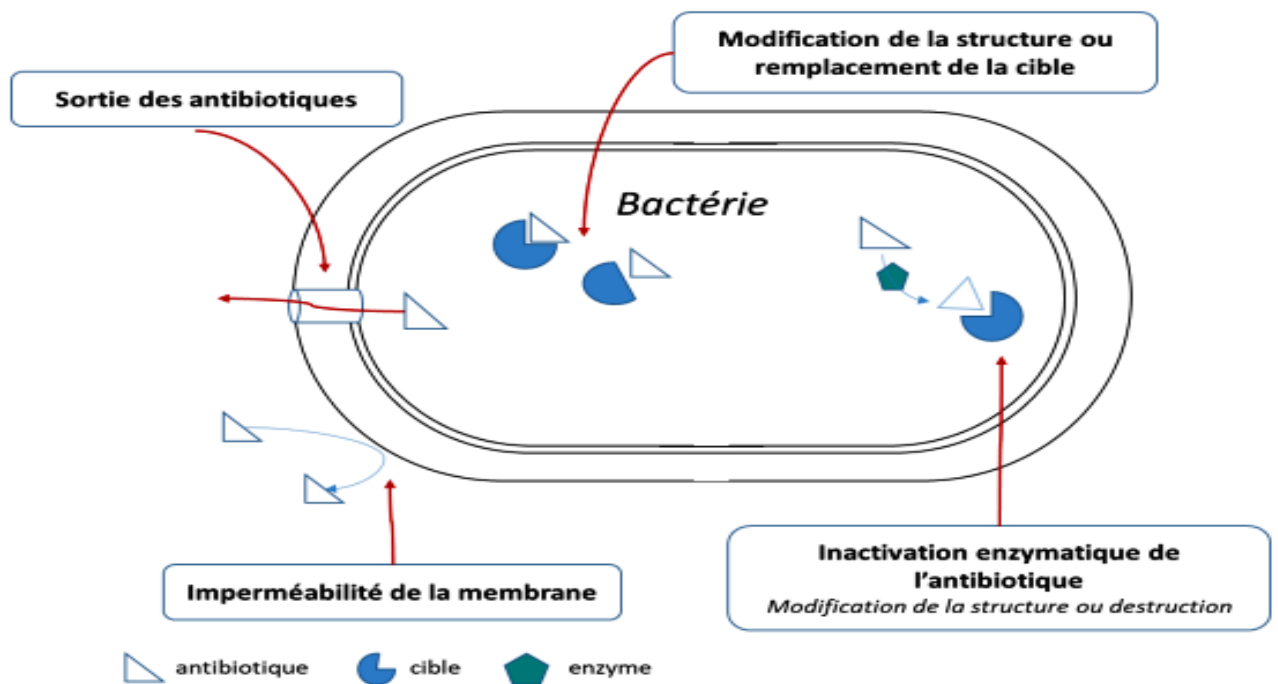


Figure I. 2. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques (Marion, 2020).

V. Les bactéries multi-résistantes

Les bactéries sont dites multi-résistantes (BMR) lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistances naturelles et acquises, elles ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique (Sylvie, 2009 ; Brissot et al, 2019). Selon l'« *European Center for Disease prevention and Control* », les bactéries multirésistantes de type BMR se définissent comme résistantes à au moins trois familles différentes d'antibiotiques (ECDC, 2019). Les principaux BMR communautaires et hospitaliers sont présentés dans le tableau I.1 ci-dessous :

Tableau I.1. Les principaux BMR communautaires et hospitaliers.

Origine hospitaliers	Origine communautaire
- <i>Entérobactéries</i> productrices de β-lactamase à spectre élargi (BLSE). - <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la Méricilline (SARM). - <i>Acinetobacter baumannii</i> multirésistant (ABMR). - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirésistant (PAMR). - <i>Entérocoques</i> résistants à la vancomycine (ERV).	- <i>Streptococcus pneumoniae</i>. - SARM d'origine communautaire. - <i>Mycobacterium tuberculosis</i>.

V.1. La découverte des nouveaux agents antimicrobiens

Au cours des dernières décennies, l'émergence d'agents pathogènes résistants aux antibiotiques s'est accélérée, entraînant des infections potentiellement mortelles qui ne répondent pas au traitement antibiotique disponible. Inévitablement, plus les antibiotiques sont utilisés, plus les bactéries développent de résistance, ce qui rend les médicaments moins efficaces et amène les autorités de santé publique du monde à signaler la résistance aux antibiotiques comme une menace urgente et croissante pour la santé publique. La résistance aux antimicrobiens (RAM) est actuellement responsable de plus de 700 000 décès par an dans le monde. La mortalité due à la RAM devrait augmenter de façon exponentielle pour dépasser 10 millions de décès par an d'ici 2050. Le coût économique mondial d'une telle augmentation de la mortalité et de la morbidité est estimé à 100 000 milliards de dollars (Boucherit, 2020).

Depuis 2000, seules cinq nouvelles classes d'antibiotiques ont été commercialisées, mais aucune d'entre elles ne cible les bactéries gram-négatives mortelles et très résistantes. Le nombre total de brevets antibiotiques déposés a diminué de 34,8% entre 2007 et 2012 (Boucherit, 2020).

La meilleure démarche pour lutter contre cette résistance est la découverte et le développement de nouvelles classes chimiques d'agents antibactériens (Boucherit, 2020). De ce fait, plusieurs scientifiques à la recherche des agents antimicrobiens commencent à porter

une attention particulière à la 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate réductoisomérase (DXR) bactérienne, cible enzymatique utilisée dans notre travail de recherche.

VI.Exemple d'une maladie infectieuse « Tuberculose »

VI.1.Définition

La tuberculose est une maladie contagieuse et inoculable, commune aux êtres humains et aux animaux, due à une bactérie, le *Mycobacterium tuberculosis* (Moussa S.B, 2012) appartenant au genre *Mycobacterium*, famille des Mycobacteriaceae, ordre des Actinomycètes (Grosset, 1990) ou bacille de KOCH (Moussa, 2012).

La bactérie *Mycobacterium tuberculosis* tue plus de gens que n'importe quel autre organisme infectieux. La tuberculose est responsable de 25% de tous les décès évitables dans les pays en voie de développement, l'OMS a déclaré en 1993 la tuberculose comme une urgence mondiale en reconnaissant l'importance croissante de la tuberculose comme problème de santé publique (Moussa, 2012).

La tuberculose constitue donc un risque sanitaire majeur et fait l'objet d'une attention particulière des gouvernements et organisations telles que L'ONU (Organisation des Nations Unies) ou L'OMS qui chaque année rédige un rapport sur la lutte contre la tuberculose dans le monde. Ce rapport s'inscrit dans la stratégie mondiale de lutte contre la tuberculose conjointement menée par L'ONU et ses objectifs de développement durable (ODD) avec pour même but de mettre fin à l'épidémie mondiale de tuberculose d'ici 2035 (Victor, 2021).

VI.2.Mycobactéries tuberculosis

Les mycobactéries sont des bacilles aérobies stricts ou micro aérophiles, immobiles, non sporulés (Grosset, 1990). Les mycobactéries se caractérisent par une paroi très particulière au sein du monde bactérien qui leur confère, entre autres, des propriétés tinctoriales spécifiques, l'acido-alcool-résistance et une résistance à de nombreux antibiotiques (Konno et al, 1957).

En microscopie optique, *M. tuberculosis* est un bacille fin, légèrement incurvé, de 2 à 5 microns de long sur 0,2 à 0,3 microns de large. Il se distingue des autres espèces bactériennes par ses exigences de culture et sa lenteur de croissance (Konno, 1957).

Ces dernières années, les mécanismes de résistance de *M. tuberculosis* ont été décrits pour la plupart des antituberculeux. La résistance acquise des mycobactéries aux antibiotiques est toujours liée à des mutations de gènes chromosomiques et n'est pas transférable d'une souche à l'autre. Chez les souches résistantes à plusieurs antibiotiques, chacune des résistances est acquise indépendamment des autres (Canetti et Grosset, 1961 ; Lirzin et Djurovic, 1971).



Figure I. 3. Structure de *Mycobactéries tuberculosis* (Sanchari, 2019).

VI.3.La Transmission

La transmission est interhumaine, essentiellement aérienne par inhalation de gouttelettes dites de Flügge (figure I.4). Les particules aérosolisées de l'ordre du micromètre peuvent, suite à une exposition prolongée et répétitive, se déposer dans les voies respiratoires d'un patient. Plusieurs facteurs chez le patient source favorisent cette aérosolisation : l'importance de l'inoculum, l'existence de cavernes, la toux, les manœuvres d'expiration forcées...etc. (Churchyard et al, 2017).

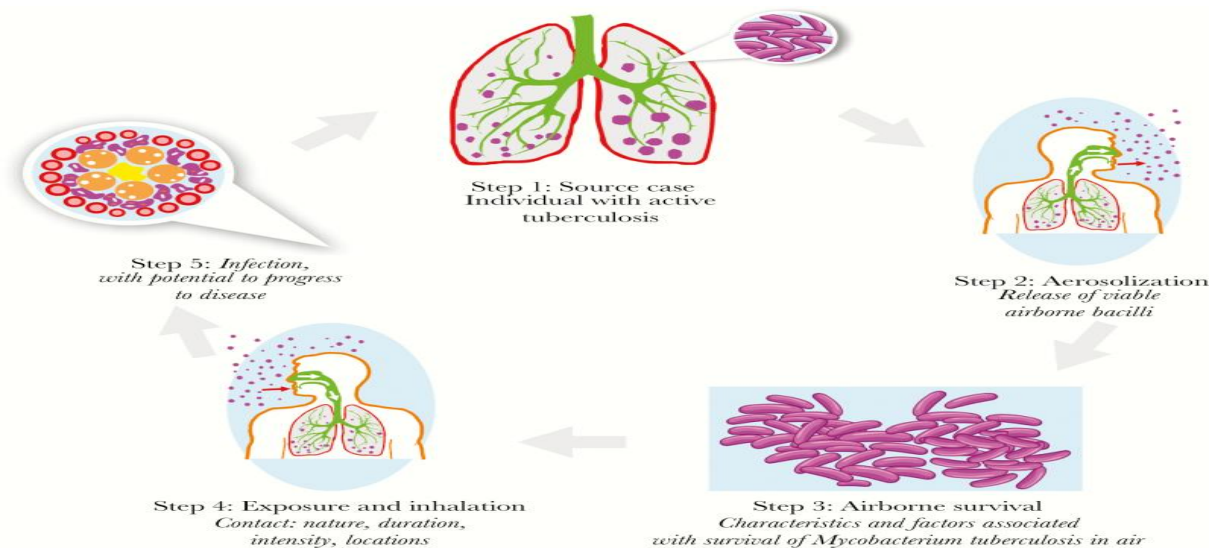


Figure I. 4. Mode de transmission du *M. tuberculosis* (Churchyard et al, 2017).

VI.4.Symptômes

Les personnes atteintes d'une infection tuberculeuse latente ne se sentent pas malades et ne sont pas contagieuses. Une part infime des personnes infectées par la tuberculose développeront la maladie et les symptômes de la maladie. Les bébés et les enfants sont plus à risque (OMS, 2023).

Symptômes courants de la tuberculose :

- Toux prolongée (parfois avec du sang) .
- Douleur thoracique.
- Asthénie.
- Fatigue intense .
- Amaigrissement .
- Fièvre .
- Sueurs nocturnes .

Les patients présenteront des symptômes variables selon la partie du corps où la tuberculose devient active. Bien que la tuberculose affecte généralement les poumons, elle touche également les reins, le cerveau, la colonne vertébrale et la peau (OMS, 2023).

VI.5.Traitement

La durée du traitement de la tuberculose ne doit jamais être inférieure à 6 mois, celui-ci doit comporter au moins trois antibiotiques en traitement d'attaque, en disposant si possible

des données de l'antibiogramme (Carole, 2018). Le schéma de traitement par des médicaments antituberculeux habituel est le suivant :

❖ **Quadrithérapie pendant 2 mois**

- Rifampicine
- Isoniazide
- Pyrazinamide
- Ethambutol (dans les cas graves)

❖ **Bithérapie pendant 4 mois**

- Rifampicine
- Isoniazide

Une surveillance à la fois clinique et biologique est réalisée et comprend notamment :

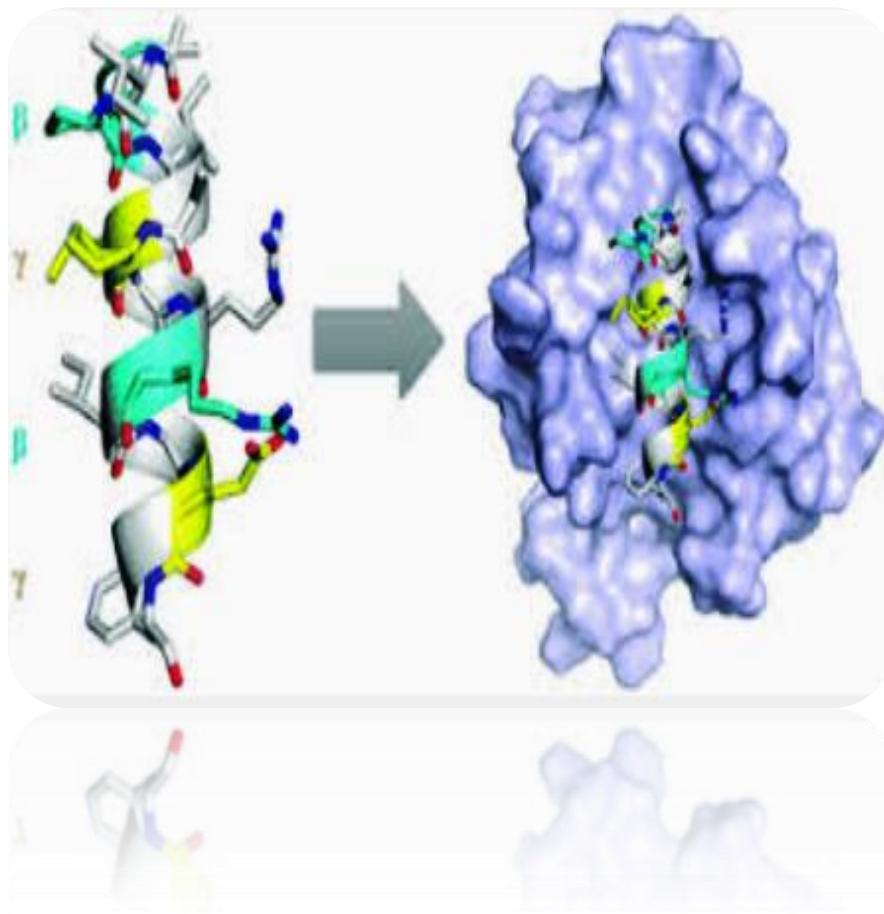
- Un examen clinique régulier.
- Des radiographies du thorax.
- Un bilan hépatique mensuel.
- Un bilan de la fonction rénale.
- Un examen ophtalmologique pendant la durée du traitement par éthambutol.
- Un examen bactériologique.

VI.6. Les nouveaux antituberculeux

Les traitements antituberculeux actuels sont obligatoirement basés sur une multi thérapie sur plusieurs mois (CMIT, 2016). Aujourd'hui, de nombreux agents antituberculeux sont en développement. Certains sont des dérivés de familles déjà connues, comme les fluoroquinolones et les rifamycines, d'autres appartiennent à de nouvelles familles, comme les diarylquinolines, les dérivés nitroimidazolés. Ces composés permettent d'envisager une simplification du traitement de la tuberculose à bacilles sensibles. De plus, les nouvelles classes d'antituberculeux peuvent également avoir une activité sur les bacilles multi résistants. Au total, de nombreuses molécules sont en développement dont certaines déjà en phase 3. Cependant, la longueur des essais thérapeutiques dans la tuberculose fait que des modifications du traitement standard, si elles se justifient, n'interviendront pas avant plusieurs années (Boucherit, 2012).

Chapitre II

La 1-déoxy-D-xylulose 5-phosphate réductoisomérase



CHAPITRE II. La 1-déoxy-D-xylulose 5-phosphate réductoisomérase

I. Isoprénoïdes

I.1. Isoprénoïdes

Les isoprénoïdes forment une famille de produits naturels parmi les plus diverses avec plus de 50000 composés connus. Ils sont présents dans tous les organismes vivants. Ils ont de nombreux rôles biologiques, allant du transport d'électrons, à la biosynthèse des membranes cellulaires. Malgré la diversité des isoprénoïdes, ils sont synthétisés à partir de deux précurseurs le diphosphate d'isopentényle (IPP) et le diphosphate de diméthylallyle (DMAPP). Deux voies de biosynthèse existent pour la formation de ces molécules: la voie du mévalonate et la voie du méthylérythritol phosphate (MEP), découverte plus récemment (Baatarkhuu, 2017). Cette dernière voie de synthèse est utilisée par les micro-organismes dont des pathogènes comme *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie responsable de la tuberculose), *Vibrio cholerae* (bactérie responsable du choléra) et *Plasmodium falciparum* (parasite responsable de la malaria). Elle est cependant absente chez l'humain et, par conséquent, est une cible de choix pour le développement d'un nouveau médicament antibactérien ou antiparasitaire (Baatarkhuu, 2017).

L'élément constitutif de base de tous les isoprénoides est le diphosphate d'isopentényle, une unité en 5 carbones. Qui est l'équivalent biologique du 2-méthylbuta-1,3-diène plus connu sous le nom d'isoprène (Ruzicka, 1953 ; Ruzicka, 1959).

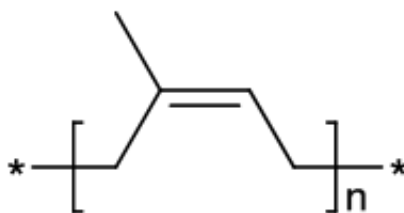


Figure II. 1. Structure dérivée par de l'isoprène (Berthelot, 2012).

Les isoprénoïdes sont des oligomères synthétisés par les organismes, résultant de condensations successives de deux précurseurs isoprènes qui sont l'isopentényl diphosphate (IPP) et son isomère, le diméthylallyl diphosphate (DMAPP). L'enzyme isopentényl diphosphate isomérase (IDI) catalyse de manière réversible l'isomérisation de l'IPP en DMAPP. Ces deux molécules se condensent afin de former le géranyl diphosphate (GPP,

C10), précurseur des monoterpènes. Une autre condensation peut se faire entre le GPP et une autre molécule d'IPP pour donner le farnésyl diphosphate (FPP, C₁₅), précurseur des sesquiterpènes. Enfin une condensation supplémentaire entre le FPP et une molécule d'IPP mène à la formation du géranylgeranyl diphosphate (GGPP, C₂₀), précurseur des diterpènes et des caroténoïdes (Berthelot, 2012). Ces trois composés peuvent alors générer la plupart des isoprénoïde (Kellogg et poulter, 1997).

I.2. Voies mévalonique et non mévalonique

Les deux précurseurs IPP et DMAPP proviennent de deux voies différentes, la voie mévalonique et la voie non mévalonique, appelée aussi voie du 2-C-méthyl-érythritol 4-phosphate (MEP). La voie mévalonique a été la première découverte dans les Années 1950 chez les plantes et les animaux (Amdur et al, 1957 ; Banthorpe et al, 1972). Pendant longtemps, cette voie semblait être la seule voie de synthèse de l'IPP et du DMAPP jusqu'à la mise en évidence de son absence chez la plupart des bactéries (Zhou et white, 1991). Cela a ensuite permis la découverte de la voie du MEP, où les précurseurs IPP et DMAPP sont synthétisés à partir du D-glycéraldéhyde-3-Phosphate et du pyruvate (Rohmer et al, 1993).

I.2.1. La voie mévalonique

Débute par la condensation de deux molécules d'acétyl-CoA catalysée par une acétoacétyl-CoA thiolase pour donner l'acétoacétyl-CoA. La deuxième étape est une addition aldolique d'une autre molécule d'acétyl-CoA menant au 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA (HMG-CoA) catalysée par la HMG-CoA synthase. Ensuite, le HMG-CoA est réduit en mévalonate par la HMG-CoA Réductase en présence du cofacteur nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH). Le mévalonate est alors phosphorylé deux fois par des kinases, la mévalonate kinase et la phosphomévalonate kinase, en présence d'adénosine Triphosphate (ATP) menant au diphosphomévalonate. Ce dernier est transformé en IPP avec consommation d'ATP et libération d'une molécule de CO₂. Finalement, L'isopentényl diphosphate isomérase permet l'isomérisation de l'IPP en DMAPP (Miziorko, 2011).

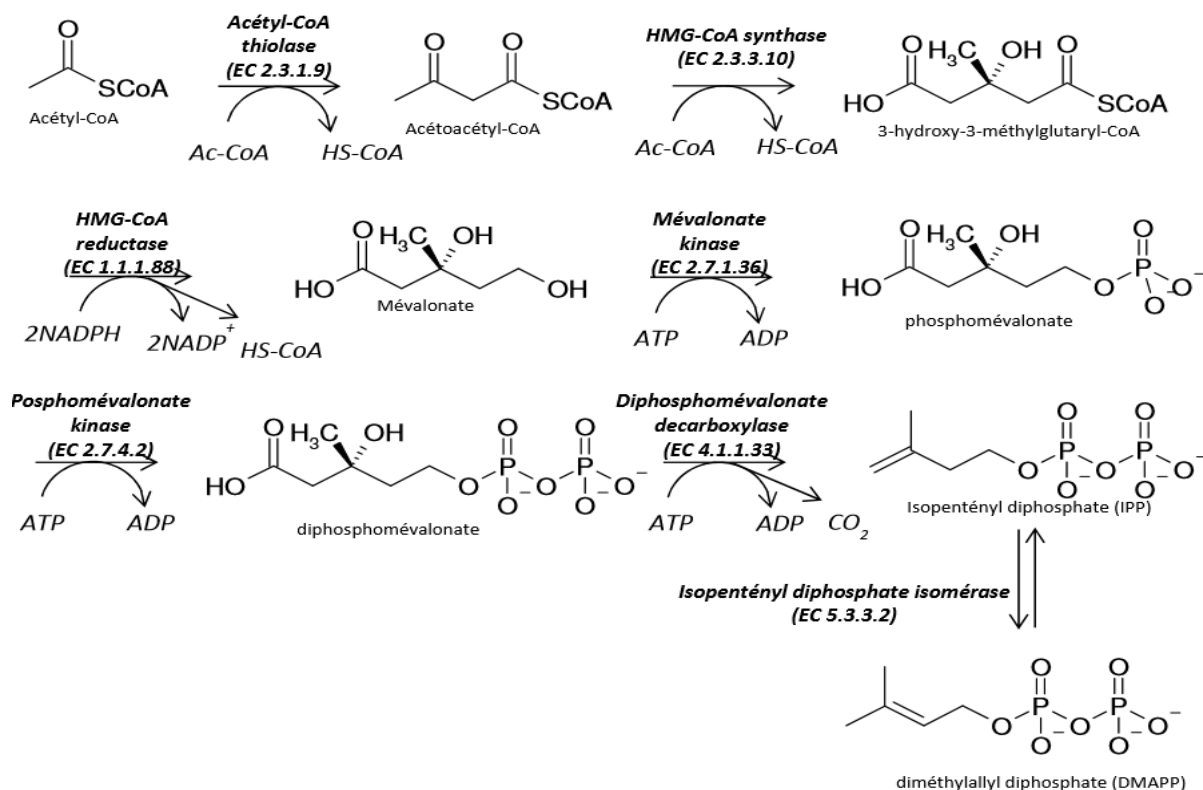


Figure II. 2. Représentation des étapes de la voie mévalonique (Miziorko, 2011).

I.2.2. La voie non mévalonique

Commence par la condensation du pyruvate avec le D-glycéraldéhyde 3-phosphate par la 1-déoxy-D-xylulose-5-phosphate Synthase (DXS) pour donner le 1-déoxy-D-xylulose-5-phosphate (DXP). Celui-ci est Converti en 2-C-méthyl-D-érythritol 4-phosphate par la 1-déoxy-D-xylulose-5-Phosphate réductoisomérase (DXR), aussi appelée MEP synthase, en présence de NADPH. Le MEP réagit avec le cytidine triphosphate (CTP) pour former le 4-Déphosphocytidyl-2-C-méthyl-D-érythritol (CDP-ME), cette réaction est catalysée par le CDP-ME synthase. Ensuite une phosphorylation du CDP-ME par la CDP-ME kinase donne en présence d'ATP le CDP-méthyl-D-érythritol 2-phosphate (CDP-ME-2P). Ce dernier se fait cycliser en 2-C-méthyl-D-érythritol 2,4-cyclodiphosphate (MECDP) avec libération de cytidine monophosphate (CMP) par la MECDP synthase. Le diphosphate cyclique subit ensuite une réaction de réduction suivie par une réaction d'élimination pour donner le 1-hydroxy-2-méthyl-E-butényl-4-diphosphate (HMBPP), Grâce à la HMBPP synthase. Enfin, la HMBPP réductase mène à la production de l'IPP Et du DMAPP, don 't l'isomérisation peut se faire grâce à l'isopentényl diphosphate isomérase (IDI) (Eisenreich et *al*, 2004).

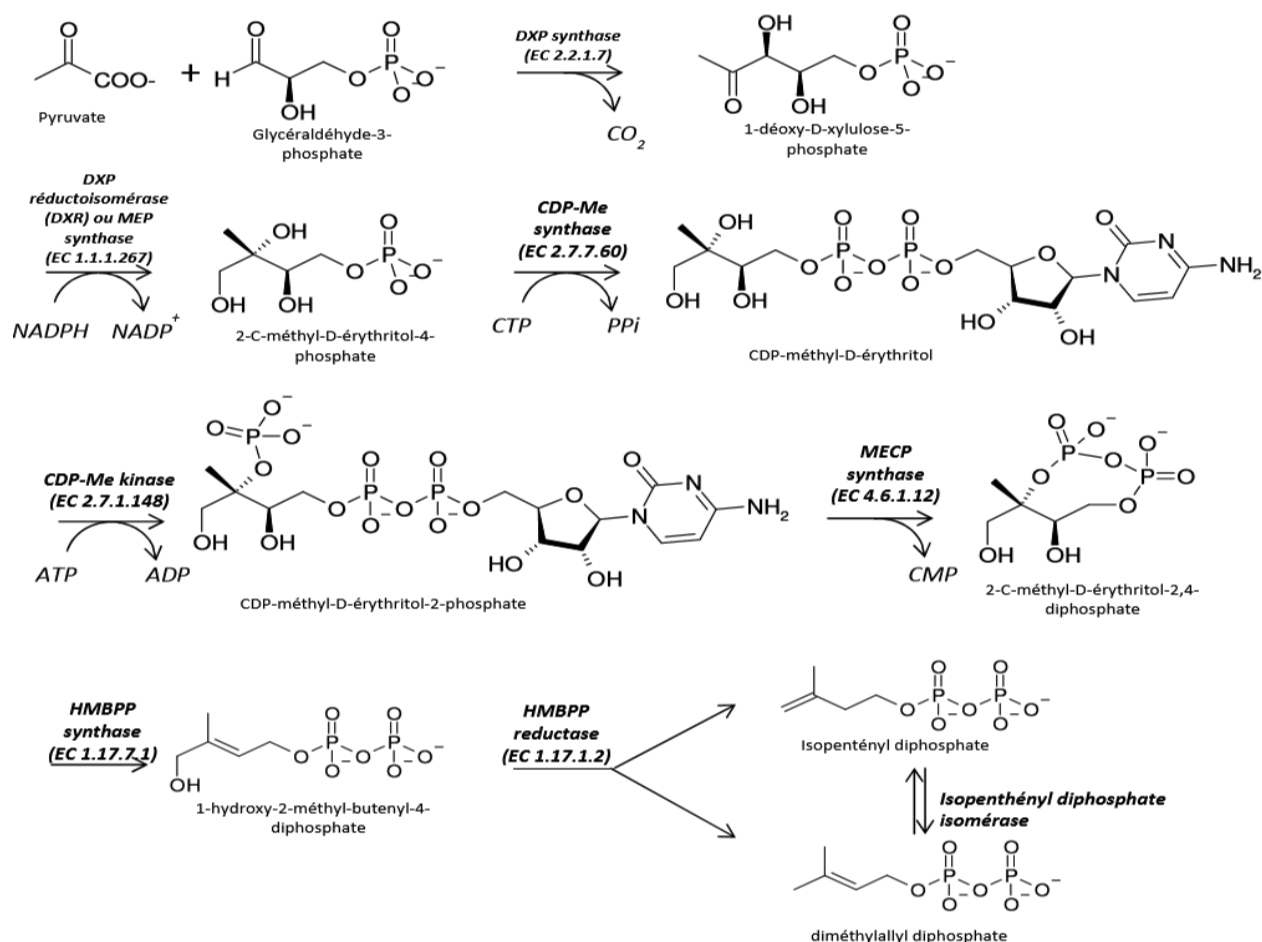


Figure II. 3. Représentation des étapes de la voie non mévalonique (Eisenreich et al, 2004).

I.3. Voie de biosynthèse des isoprénoïdes comme cible thérapeutique

L'absence de la voie non mévalonique chez les animaux et chez les être humain en particulier, fait des enzymes de cette voie des cibles particulièrement intéressantes pour la mise au point d'agents anti-infectieux (Rohdich, 2005) et des nouveaux médicaments. En effet, la voie non mévalonique est essentielle pour la plupart des pathogènes. Lors de cette recherche, nous allons plus particulièrement nous intéresser à la deuxième enzyme de la voie, la 1-déoxy-D-xylulose-5-phosphate réductoisomérase (DXR).

II. La 1-déoxy-D-xylulose-5-phosphate réductoisomérase (DXR)

II.1. Définition

La 1-déoxy-D-xylulose 5-phosphate isomère-réductase (DXR). Connue aussi sous le nom d'ispC ou yaeM (Takahashi et al, 1998) est une réductoisomérase (EC 1.1.1.267) (Wong et Cox, 2007, Munos et al, 2009) catalysant le réarrangement du 1-déoxy-D-xylulose 5-

phosphate (DXP) en 2-C-méthyl-D-érythritol 4-phosphate (MEP) (Hoeffler et *al*, 2002). Spécifiée par le gène *yaem* (Takahashi et *al*, 1998 et Kuzuyama et *al*, 2000). Cette enzyme nécessite la présence d'un cation divalent tel que du Mg^{2+} ou du Mn^{2+} , un cofacteur le NADPH agissant comme donneur d'hydrure, la présence d'un groupement 5-phosphate sur le substrat pour que ce dernier se lie au site actif de l'enzyme (Kuzuyama et *al*, 2000).

La DXR est plus particulièrement étudiée dans le cadre de la mise au point d'agents anti-infectieux contre la tuberculose et contre la malaria qui l'une des principales cause de mortalité mondiale (Greenwood et *al*, 2008).

II.2. Mécanisme d'action

Deux mécanismes ont été envisagés pour le réarrangement de DXP en aldéhyde, soit un réarrangement de type α -cétole soit une réaction de type rétro-aldolisation/aldolisation (Wong et *al*, 2007).

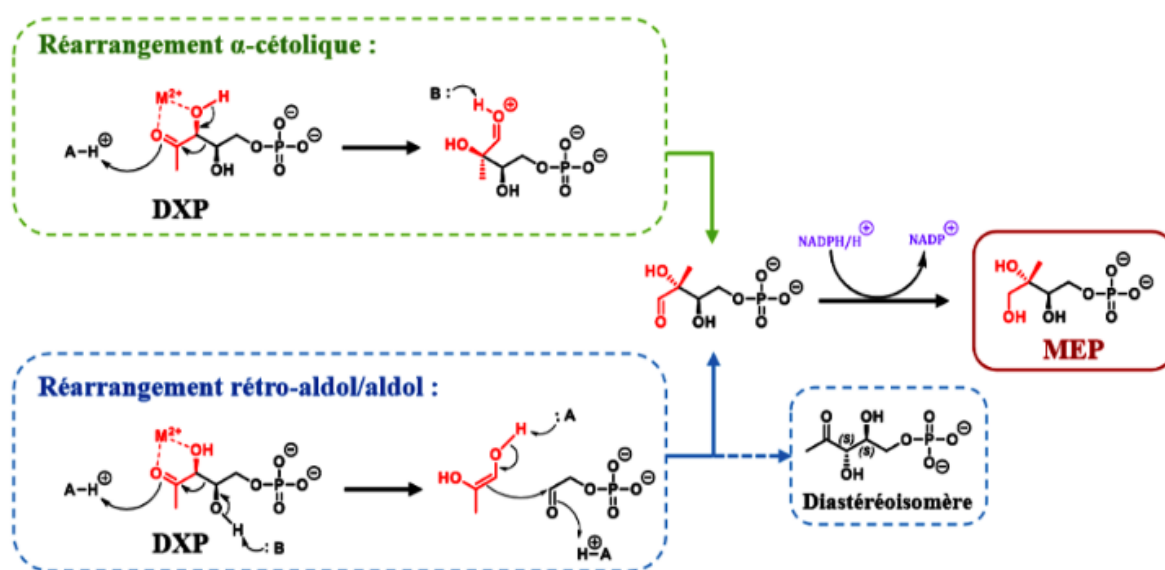


Figure II. 4. Réarrangement et réduction du DXP en MEP catalysés par IspC (Wong et *al*, 2007).

II.3. Structure

La DXR est un homodimère de 96 x 60 Å où chaque dimère peut être décrit comme formant un sillon en forme de V avec une boucle flexible. Chaque monomère de 39 à 45 kDa (selon l'espèce) peut être divisé en trois domaines :

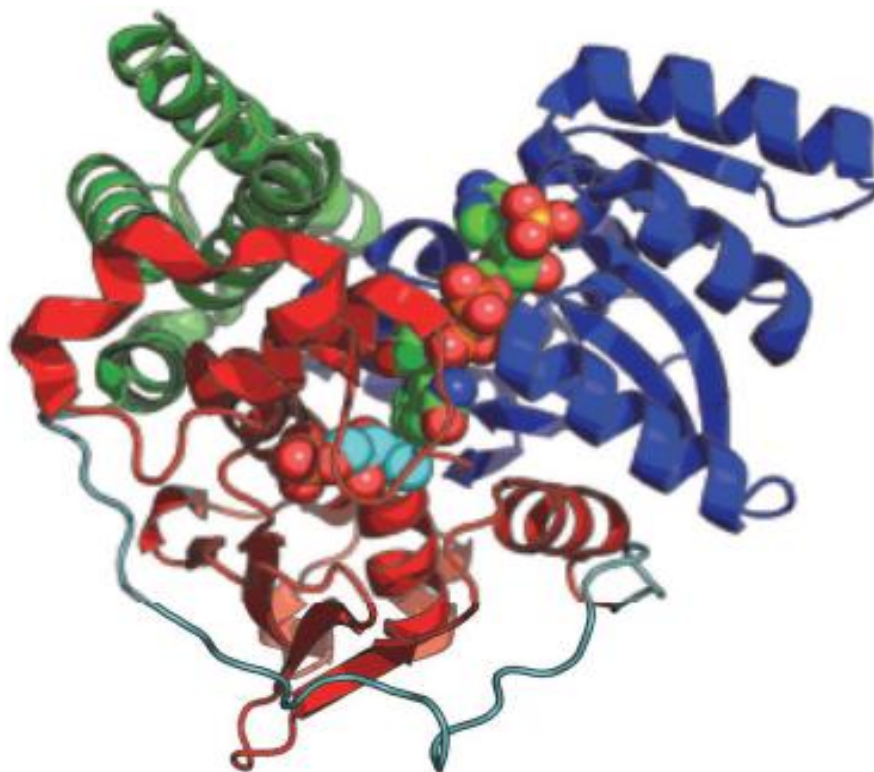


Figure II. 5. Structure cristalline du monomère de DXR d' E. coli avec DXP et NADPH
(Steinbacher et *al*, 2003)

- Le domaine N-terminal, représenté en bleu, correspondant aux résidus 1 à 150 est composé de sept feuillets-fi antiparallèles et de sept hélices- α . Il constitue un des bras du V et sert de site de fixation au NADPH.
- Le domaine C-terminal, représenté en vert, correspondant des résidus 312 à 398 est composé de quatre hélices- α . Il a un rôle structural car il sert de support au site catalytique.
- Le domaine central ou intermédiaire, représenté en rouge, s'étend des résidus 150 à 285 est composé d'hélices- α et de sept feuillets-fi. Il assure la connexion entre les deux extrémités de la protéine et à l'association des deux monomères pour former homodimère. Il est également le siège du site catalytique c'est à dire que l'on y retrouve les sites de liaison du cation divalent et du phosphate ainsi que la boucle catalytique (résidus 206-216). Cette dernière joue un rôle essentiel car elle change de conformation lors de la fixation du substrat ou de l'inhibiteur. En effet, lorsqu'il n'y a pas de substrat la boucle est ouverte, elle se ferme lorsque le substrat entre ce qui permet le rapprochement entre le NADPH et le substrat pour permettre la réaction de réduction (Steinbacher et *al*, 2003).

III. Inhibiteurs de la DXR

III.1. Fosmidomycine

La fosmidomycine (figure II.6) est un antibiotique découvert par les laboratoires de recherche Fujisawa (Pouyez, 2014) qui possède une activité antimicrobienne contre les bactéries Gram-négatives et quelques bactéries Gram-positive. La découverte que la fosmidomycine et son congénère acétyle FR900098, deux produits naturels extraits de l'espèce *Streptomyces*, inhibent la DXR, a ouvert des opportunités thérapeutiques intéressantes (Kuzuyama et *al*, 1998 ; Zeidler et *al*, 1998). De plus, sa faible toxicité envers les animaux ainsi que son efficacité sur des souris infectées lui ont permis de passer au stade de tests cliniques. La fosmidomycine inhibe la conversion catalysée par la DXR du 1-déoxy-D-xylulose-5-phosphate (DXP) en 2C-méthyl-D-érythritol-4-phosphate (MEP), en imitant le mode de liaison du DXP à cette enzyme (Umeda et *al*, 2011 ; Steinbacher et *al*, 2003).

Certaines bactéries ne sont cependant pas sensibles à la fosmidomycine, car cet agent a besoin d'un transporteur, le glycérol 3-phosphate (GlpT) pour pénétrer dans la cellule. Or les mycobactéries ne possèdent pas ce transporteur, ce qui implique une résistance innée de ces bactéries envers la fosmidomycine (Brown et parish, 2008). De plus, certaines bactéries ont développé une résistance acquise à la fosmidomycine, en incorporant dans leur membrane plasmique des pompes à efflux rejetant l'antibiotique dans le milieu extracellulaire (Fujisaki et *al*, 1996 ; Messiaen et *al*, 2011).

III.2. FR-900098

Le FR-900098 (figure II.6) est un analogue de type méthylcétone de la fosmidomycine. Tous deux inhibent de manière dose dépendante la DXR du *Plasmodium falciparum*, le parasite responsable du paludisme (Jomaa et *al*, 1999). Ils sont donc de puissants antipaludéens potentiels (Shigi et *al*, 1989).

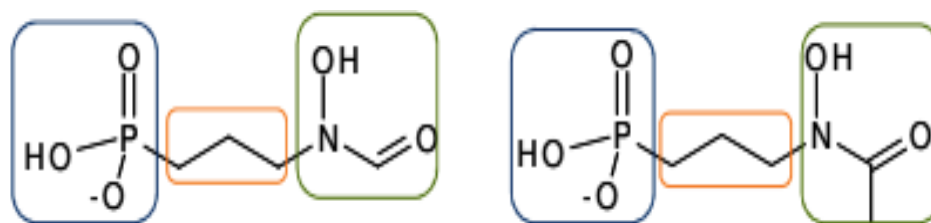


Figure II. 6. Structure de la fosmidomycine (à gauche) et de son analogue méthylé, le FR900098 (à droite), isolés respectivement à partir de la souche de *Streptomyces lavendulae* et de *Streptomyces rubellomurinus*. La fonction phosphonate est entourée en bleu, la chaîne carbonée en orange et la fonction hydroxamate en vert (Pouyez, 2014).

La fosmidomycine et le FR900098 ont une action inhibitrice de par leur ressemblance au substrat DXP, la figure II. 7 ci-dessous montre cette analogie structurale (Mac Sweeney, 2005).

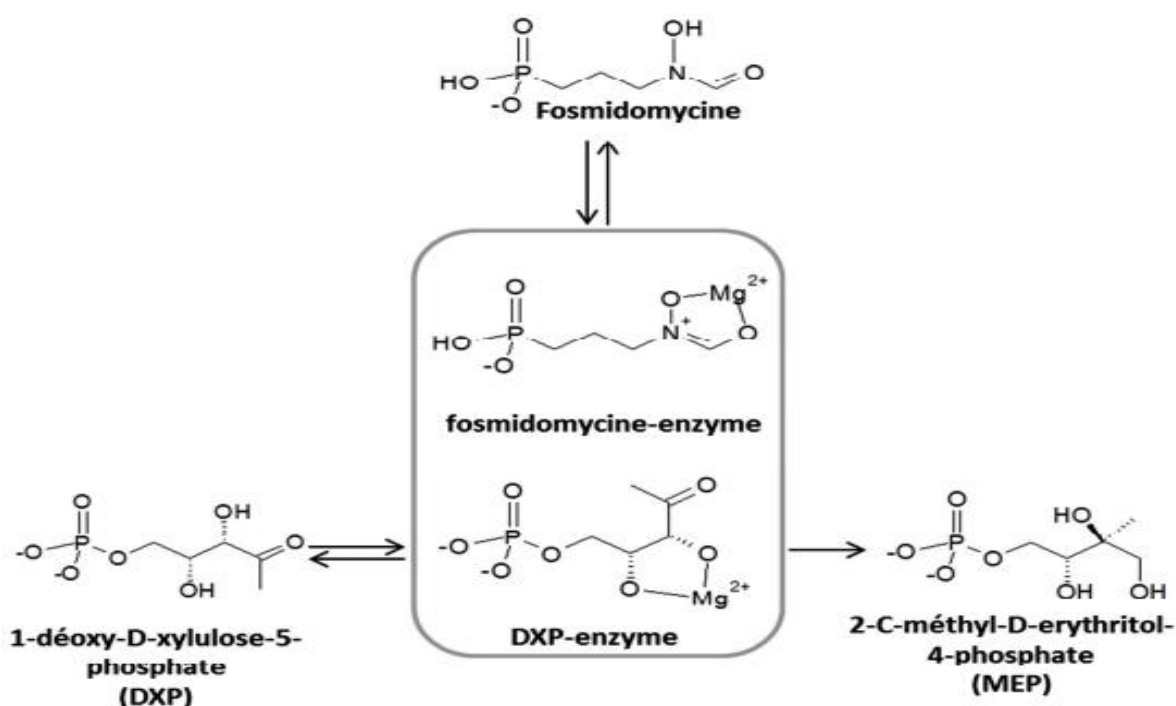


Figure II. 7. Analogie structurale entre la fosmidomycine et le substrat DXP (Mac Sweeney, 2005).

III.3. Mode d'inhibition de la fosmidomycine

Le mode d'inhibition de la fosmidomycine est de type slow tight-binding inhibitor (Koppisch, 2002). La figure II.8 suivante représente ce type particulier d'inhibition qui se déroule en deux étapes. L'étape initiale correspond à l'inhibition de la DXR par la

fosmidomycine de manière compétitive avec le DXP. Une deuxième étape correspond à une inhibition non compétitive, plus lente, où il y a une conversion dépendante du temps vers un état plus étroitement lié. Par conséquent, deux constantes d'inhibition peuvent être déterminées (K_i et K_i^*).

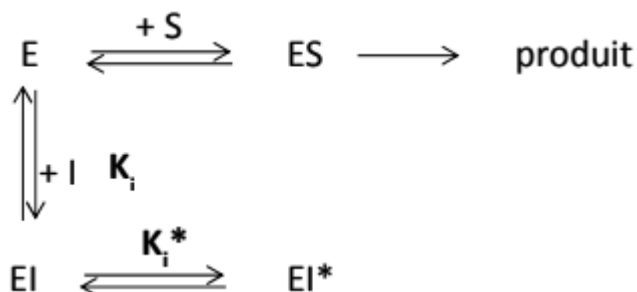


Figure II. 8. Mécanisme du slow, tight-binding inhibitor (Koppisch, 2002).

III.4. Analogues de la fosmidomycine

Grâce à leur capacité d'inhiber la DXR de différentes espèces pathogènes pour l'homme, la fosmidomycine et son analogue méthylé le FR900098, apparaissent comme des composés prometteurs dans le traitement de malaria. Néanmoins, ces inhibiteurs doivent être optimisés afin d'améliorer leur biodisponibilité. De nombreuses modifications ont déjà été réalisées à partir de la fosmidomycine et du FR900098. La figure II. 9 reprend les principales informations venant de la rationalisation de tests d'inhibition de ces composés sur la DXR.

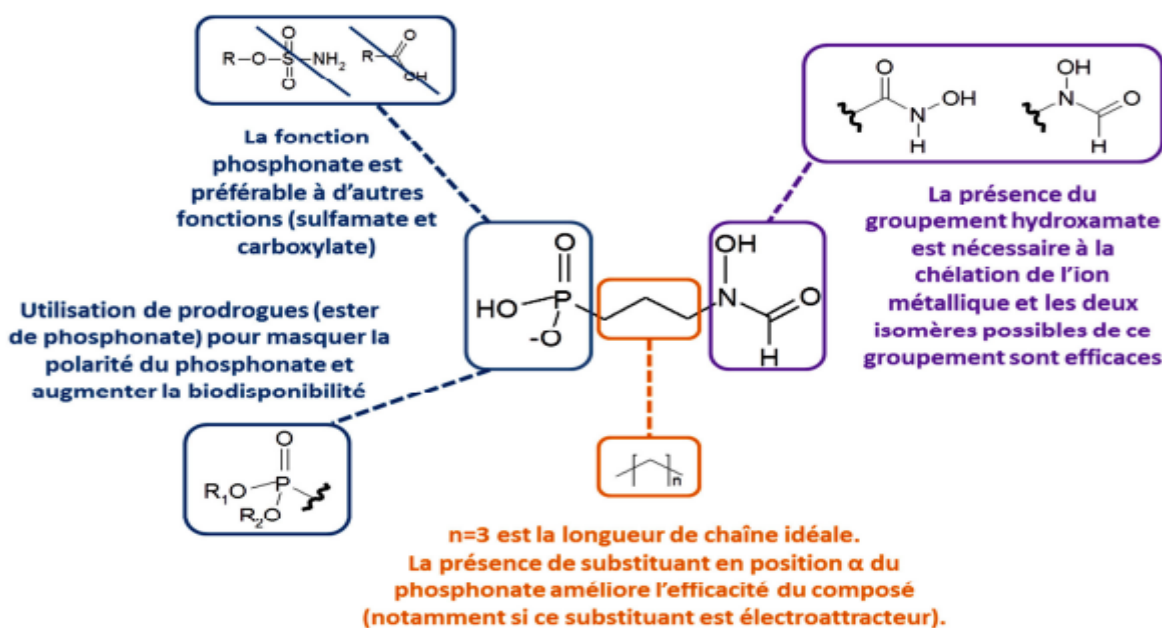


Figure II. 9. Relation structure activité des analogues de la fosmidomycine (Jackson, 2012).

Trois types de modifications apportés au composé FR900098 (figure II. 10). Tout d'abord, une première série sera constituée d'analogues du FR900098 avec une substitution en position α du groupement phosphonate. Une deuxième série avec une substitution en position β du groupement phosphonate ainsi que l'isomérisation du groupement hydroxamate en rétrohydroxamate. Enfin, la troisième série sera constituée de dérivés amides de la fonction rétrohydroxamate (Verbruggen, 2010).

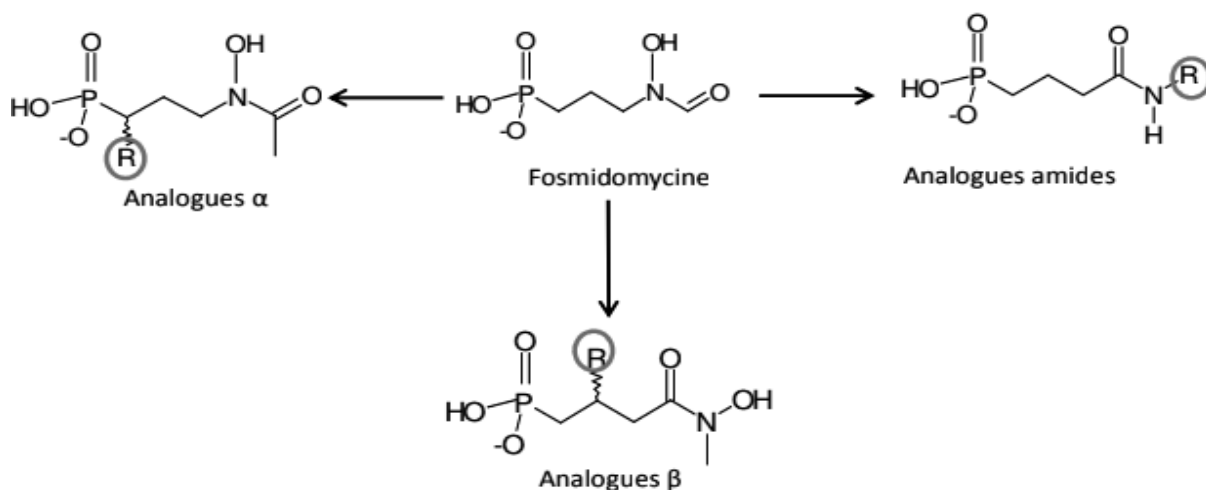
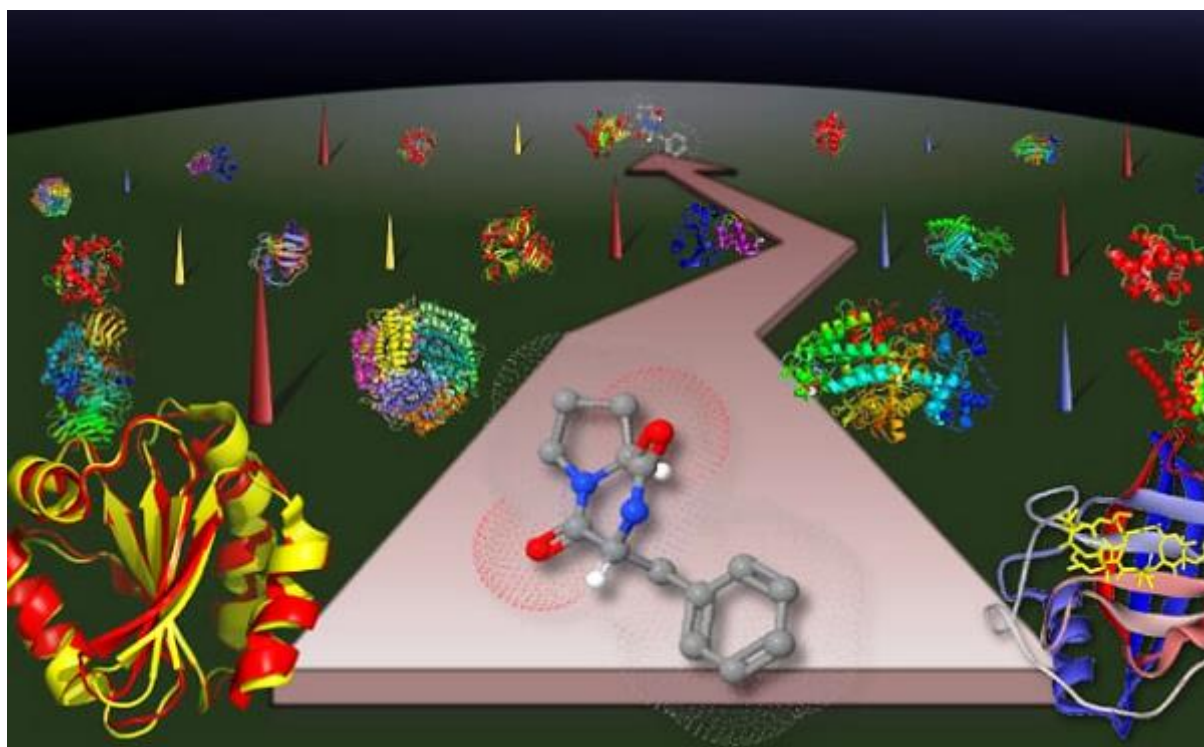


Figure II. 10. Présentation des trois groupes d'analogues de la fosmidomycine (Koppisch, 2002).

Chapitre III

Le criblage virtuel



CHAPITRE III. LE CRIBLAGE VIRTUEL

I. Généralités

La découverte de nouveaux médicaments est un processus extrêmement long et fastidieux. Les différentes étapes sont illustrées de façon schématique dans la figure III.1. Au cours des phases successives, des milliers de molécules doivent être triées et sélectionnées, pour aboutir à un nombre très restreint de candidats. Pour chaque nouveau médicament, le temps passé depuis la première étape, au cours de laquelle une cible biologique pertinente dans un processus pathologique donné est identifiée, jusqu'à la mise sur le marché d'un composé tourne autour d'une moyenne d'environ 12 à 14 ans. Le coût global estimé est d'au moins 800 millions de dollars par composé mis sur le marché (DiMasi et *al*, 2003 ; Hubbard, 2005 ; Lombardino & Lowe, 2004). Les nouvelles méthodes permettant la découverte de nouveaux médicaments se doivent donc d'innover afin de mettre en évidence des molécules encore inconnues ayant un certain potentiel d'activité sur des cibles biologiques connues (Davis et *al*, 2003). Les outils mis en place doivent être capables de guider les chimistes médicaux dans le choix des molécules à cribler et à synthétiser (Lombardino & Lowe, 2004 ; Walters et *al*, 1998).

Le criblage virtuel est la stratégie *in silico* la plus utilisée pour l'identification de touches (hits) dans le cadre de la recherche de nouveaux médicaments (Keiser et *al*, 2009 ; Waszkowycz et *al*, 2001). Celui-ci fait désormais partie intégrante de la plupart des programmes de recherche de composés bioactifs, que ceux-ci se déroulent en milieu académique ou industriel, car il constitue un complément essentiel au criblage biologique haut-débit (Bajorath, 2002 ; Shivani et Suresh, 2019). Le criblage virtuel permet l'exploration de larges chimiothèques à la recherche de composés actifs vis-à-vis d'une cible thérapeutique donnée. Ce processus vise à réduire de façon significative la chimiothèque de départ à une liste limitée de composés jugés les plus prometteurs. Cette approche conduit souvent à une nette amélioration de la concentration de molécules actives pour la cible, tandis qu'une sélection aléatoire de molécules de la chimiothèque ne saurait fournir un tel enrichissement. Ainsi, le temps aussi bien que les coûts de l'identification de nouvelles touches peuvent être réduits de façon significative (Gupta et *al*, 2018).

À l'époque moderne, alors que le besoin de meilleures thérapies augmente à pas de géant, l'amarrage moléculaire est devenu un outil important dans la découverte de

médicaments et le développement de vaccins. Cela est évident par le niveau croissant de sophistication des différents aspects de la station d'accueil et par le nombre croissant d'utilisateurs issus du monde universitaire et de l'industrie pharmaceutique (Chaudhary et Mishra, 2016).



Figure III.1. Etapes du processus de recherche et développement des médicaments (Benouis, 2022).

II. Criblage virtuel

II.1. Définition

Le terme criblage regroupe un ensemble de techniques computationnelles ayant pour objectif l'exploration des bases de composés à la recherche des molécules d'intérêt thérapeutique ce qui est d'une importance croissante dans la conception des médicaments, principalement basée sur les progrès en informatique et en bio-informatique (Qamar et *al*, 2020).

Le criblage virtuel peut être visualisé comme un entonnoir ou un tamis dans lequel nous versons une grande quantité de molécules, et duquel ressort idéalement une quantité réduite de molécules ayant une affinité probable pour la cible étudiée. En d'autres termes, il a pour objectif d'identifier, à partir de larges collections de composés chimiques, des molécules appelées hits capables d'interagir avec la cible étudiée et de moduler son activité. Le criblage virtuel est généralement utilisé en phase précoce de la recherche de médicament (Van Drie, 2007).

II.2. Les outils criblage virtuel

II.2.1. Structure de la cible protéique

Le criblage virtuel a historiquement essentiellement basé sur la connaissance de la structure 3D de la cible protéique (Vayer, 2009). Les structure 3D sont principalement issues

d'analyses par diffraction des rayons X des protéines cristallisées, les autres par résonance magnétique nucléaire. La plupart des structures protéiques sont disponibles sous format .pdb via la *Protein Data Bank* ou PDB (Berman, 2008).

II.2.2. Les chimiothèques

Les collections de petites molécules, appelées chimiothèques, sont essentielles au criblage virtuel. Ce sont elles qui vont être criblées de sorte à identifier les molécules affinées pour la cible étudiée. Dans le cas du criblage basé sur le ligand, elles sont également utilisées pour la construction de modèles (Réau, 2019).

L'importance de la chimiothèque employée est la première condition pour le succès d'un criblage virtuel, bien avant celle des algorithmes utilisés pour la recherche de touches au sein de la chimiothèque. En effet, seule une librairie de composés suffisamment diverse peut garantir une exploration satisfaisante de l'espace chimique maximisant ainsi les chances de découvrir de nouvelles touches (Perez, 2005).

Les chimiothèques disponibles publiquement ou commercialement se divisent en 4 grandes classes (Réau, 2019) :

- **Chimiothèques de molécules bioactives** : recensent des données d'activité ou d'affinité entre un ligand et la cible protéique contre laquelle il a été testé (ChEMBL, PubChem, NRLiSt BDB...est).
- **Chimiothèques de molécules commerciales** : sont mises à disposition gratuitement par les fournisseurs (ZINC, ChemSpider, Enamine).
- **Chimiothèques de fragments** : permettent d'augmenter l'espace chimique exploré. Leur criblage permet d'identifier des fragments ayant une forte affinité pour des points d'accroche (Réau et al, 2018).
- **Chimiothèques de composés virtuels** : répondent à un besoin de représentativité de l'espace chimique explorable.

II.2.3. Principaux logiciels de docking moléculaire

Les logiciels de docking sont des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine. De nombreux logiciels de docking présentant des algorithmes de recherche et des fonctions de score variées ont été développés au cours du temps (tableau III.1).

Tableau III. 1. Différents logiciels de docking moléculaire.

Programme	Traitement du ligand	Recherche conformationnelle	Algorithme de recherche	Fonction de score	Disponibilité
Auto Dock (Jones et <i>al</i> , 1997)	Flexible	Stochastique	Génétique	Basée sur les champs de force	Gratuite (Morris et <i>al</i> , 2009).
Dock (Feher, 2006)	Flexible	Systématique	Fragmentation /reconstruction	Basée sur les champs de force	Académique (Allen et <i>al</i> , 2015).
FlexX (Kramer et Rarey, 1999)	Flexible	Systématique	Fragmentation /reconstruction	Basée sur les connaissances	Commerciale (Rarey et <i>al</i> , 1996).
FRED (Kuntz, 1982)	Flexible	Systématique	Recherche exhaustive	Basée sur les connaissances	Commerciale (Maia et <i>al</i> , 2020).
Glide (Benouis, 2022)	Flexible	Stochastique	Monte Carlo	Empirique	Commerciale (Friesner et <i>al</i> , 2004)
Gold (Jones et <i>al</i> , 1995)	Flexible	Stochastique	Génétique	Basée sur les champs de force	Commerciale (Verdonk et <i>al</i> , 2003).
ICM (Benouis, 2022)	Flexible	Stochastique	Génétique	Basée sur les champs de force	Commerciale (Abagyan et <i>al</i> , 1994).
Surflex-dock (Benouis, 2022)	Flexible	Systématique	Hammerhead modifié	Empirique	Commerciale (Spitzer et Jain, 2012).

II.3. Méthodes de criblage virtuel

Selon la nature de l'information expérimentale disponible, on distingue la méthode de criblage *in silico* en deux approches, la première se base sur la structure de la cible afin d'identifier les interactions possibles au sein du site de liaison et ainsi sélectionner des molécules capables de s'y arrimer et est connue sous le nom de « *structure-based virtual screening* » (Ghosh et al, 2006). La seconde utilise les ligands connus comme guides pour définir les propriétés responsables de leur affinité pour la cible et identifier des molécules similaires, est appelée « *ligand-based virtual screening* » (Bajorath, 2002 ; Lengauer et al, 2004).

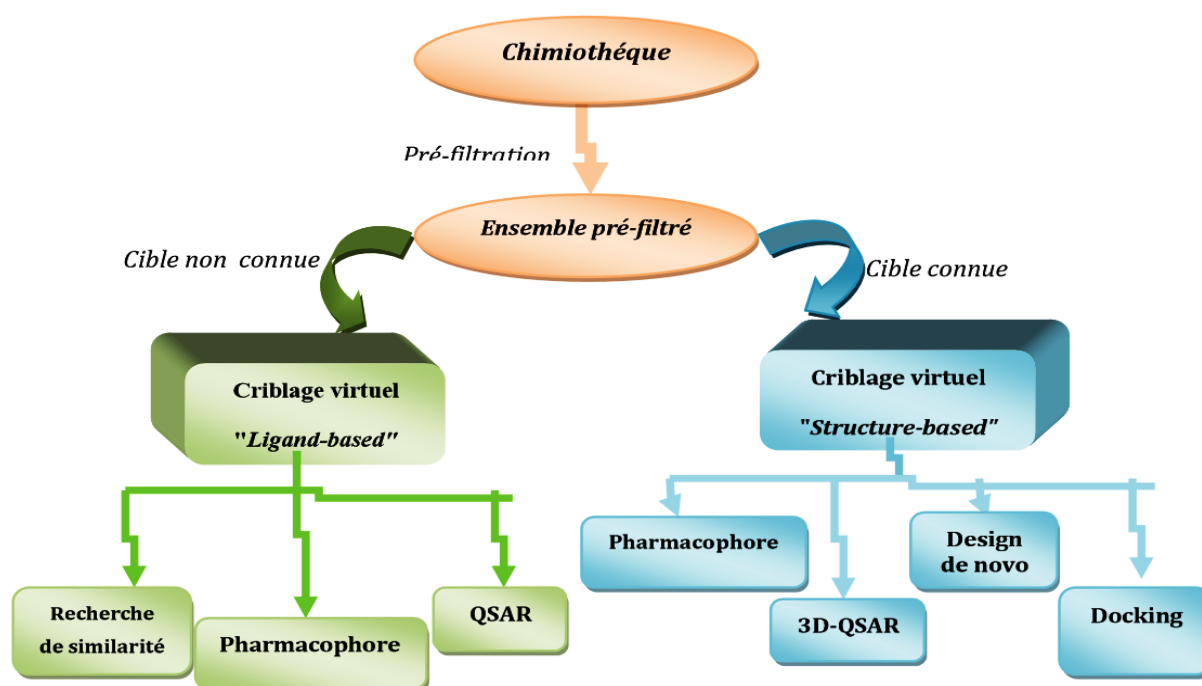


Figure III.2. Classification des méthodes de criblage virtuel (Benouis, 2022).

II.3.1. Criblage virtuel « *ligand-based* »

Les méthodes de criblage « *ligand-based* » basées sur la connaissance préalable de ligands avec une activité sur la cible thérapeutique. Il sera ainsi possible d'utiliser ces ligands comme une première base de « hits » afin d'identifier d'autres composés similaires, ayant des caractéristiques d'activité communes aux ligands connus de la cible (Bawden, 1990 ; Hawkins et al, 2007). Différents types de descripteurs moléculaires peuvent être calculés afin de quantifier la similitude entre composés. Selon le nombre de ligands connus de la cible thérapeutique, plusieurs méthodes peuvent être utilisées : la recherche de similarité, le

criblage de pharmacophores, ou les approches QSAR ou « *Quantitative Structure-Activity Relationship* » (Mason et al, 2001).

II.3.2. Criblage virtuel « *structure-based* »

Le criblage virtuel « *structure-based* » est basé sur la structure de la cible en évaluant la capacité des ligands à établir des interactions avec le site de liaison étudié et ainsi sélectionner les molécules capables de se lier à cette cible (Lakehal, 2016). Comme leur nom l'indique, ces méthodes utilisent la structure de la cible afin de découvrir des nouveaux composés actifs. Lorsque la structure 3D de la cible biologique d'intérêt est disponible, des méthodes dites basées sur la structure peuvent être utilisées pour le criblage virtuel. Il existe deux types de méthodes expérimentales pour obtenir la structure 3D d'une cible : la cristallographie aux rayons X et la résonance magnétique nucléaire. Lorsque la structure 3D expérimentale n'a pas encore été résolue, il est également possible de recourir à la modélisation par homologie (Bencheikh, 2022).

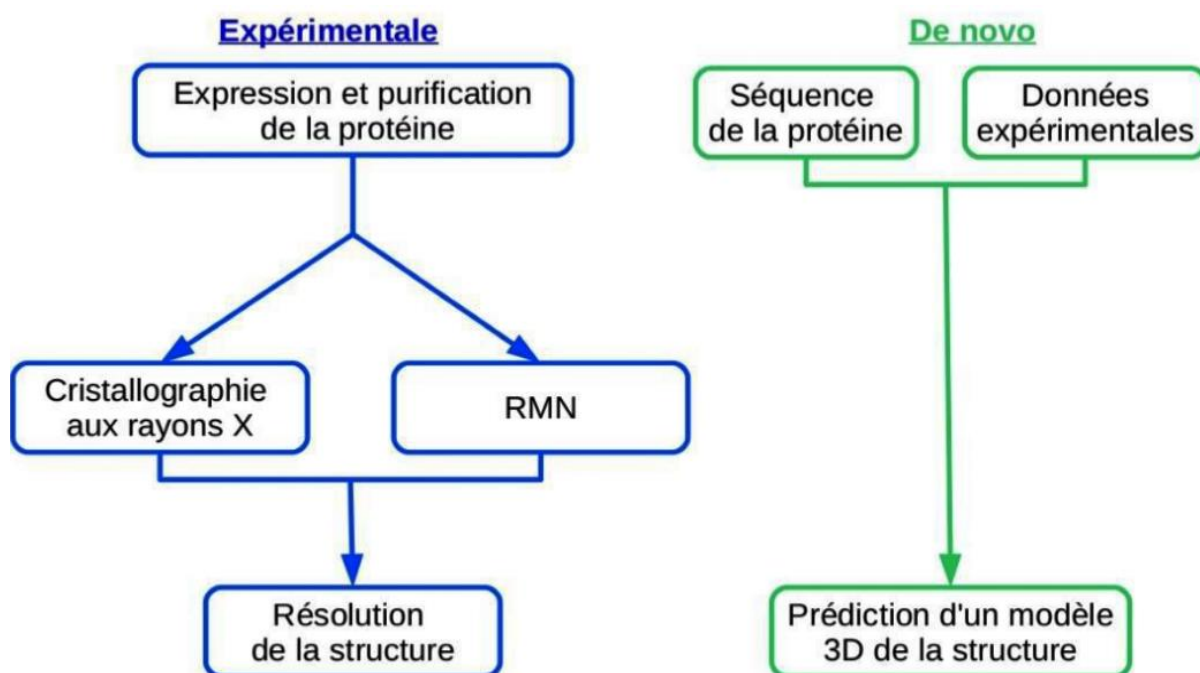


Figure III. 3. Méthodes pour obtenir la structure 3D d'une cible biologique d'intérêt (Bencheikh, 2022).

Après avoir obtenu une structure de la cible thérapeutique, plusieurs approches «*structure-based*» peuvent être employées pour l'identification de composés actifs : la construction de modèles pharmacophoriques, la conception de ligands de novo, ou les

méthodes RD-QSAR (*Receptor Dependent-Quantitative Structure Activity Relationship*) et les méthodes de docking moléculaire qui sont les plus populaires (Bencheikh, 2022).

III. Docking moléculaire

III.1. Définition

Le *docking in silico* (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire), est une technique informatique qui vise à prédire la structure d'un complexe formé par deux molécules (cible et ligand) ou plusieurs molécules, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales. La formation de ces complexes dépend de la reconnaissance de la structure tridimensionnelle d'un ligand par un site récepteur et contrôle de l'activité de nombreuses molécules. Le plus souvent, le récepteur est une protéine qui a un ou plusieurs sites actifs spécifiques, plus ou moins accessibles selon les cas. Le ligand, est généralement une molécule flexible étrangère de petite taille (Bencheikh, 2022).

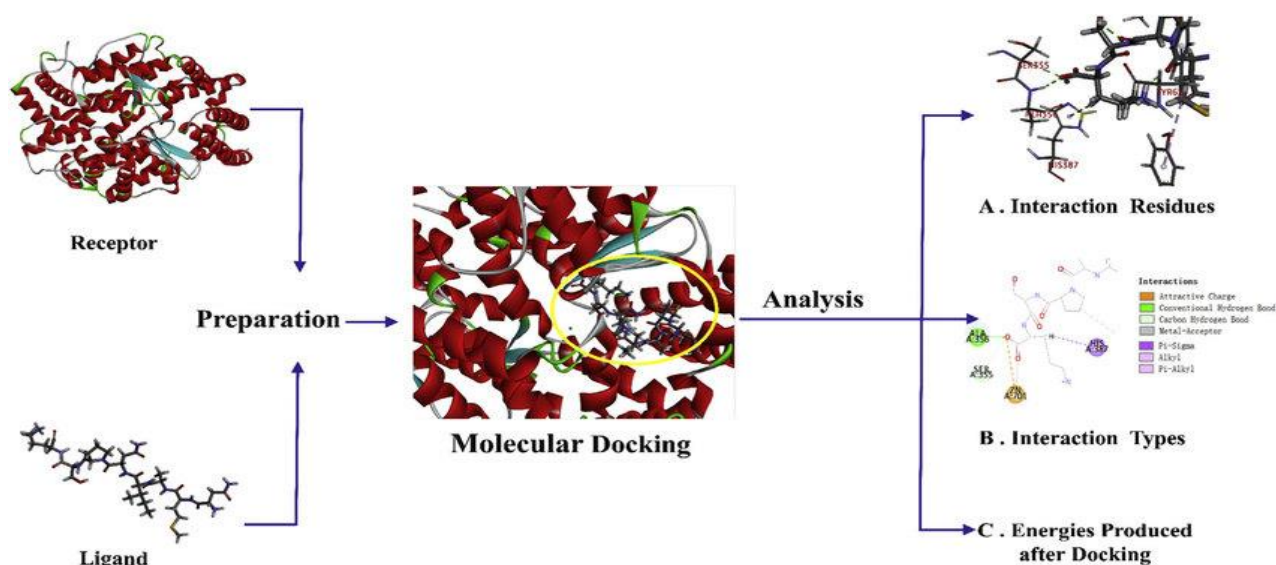


Figure III. 4. Représentation schématique du docking moléculaire (Tu et *al*, 2018).

L'utilisation des méthodes de docking pour la conception de médicaments a commencé il y a plus de 30 ans. Ces méthodes ont deux objectifs principaux : l'identification de ligands de la cible étudiée à partir de larges chimiothèques, grâce à la prédiction de scores d'affinité ou de valeurs d'affinité réelles (K_i , IC_{50} ,...etc.) et déterminer les modes de liaison adoptés par les ligands dans le récepteur (Bencheikh, 2022).

III.2. Principe générale de docking moléculaire

Le docking se divise en deux étapes distinctes. La première section est constituée d'algorithmes de recherche, ces algorithmes sont capables de générer un grand nombre de structures possibles et de déterminer le mode de liaison. La deuxième section est consacrée au scoring, qui sont des méthodes mathématiques, utilisées pour estimer la puissance d'interaction et l'affinité de liaison entre deux molécules après la phase de docking. Le meilleur résultat pour le docking est le complexe protéine-ligand ayant la plus basse énergie d'interaction ou la plus forte affinité (Bencheikh, 2022).

III.3. Types de docking moléculaire

III.3.1. Le docking rigide

Historiquement, les premiers outils de docking obéissaient au principe dit « clef-serrure » ou « *lock-and-key* » selon lequel le ligand qui représente la clef, est complémentaire au niveau géométrique du site actif du récepteur, qui représente la serrure. Considérant donc le ligand et le récepteur comme deux entités rigides, la recherche de la pose optimale se limite au positionnement en énumérant toutes les rotations et les translations possibles pour le ligand à l'intérieur du site d'interaction. Ensuite toutes les poses incompatibles avec le site actif sont éliminées par une image négative du site actif. Enfin, les poses sélectionnées se voient attribuées un score et les meilleures sont optimisées (Lakehal, 2016).

III.3.2. Le Docking flexible

La présentation du système biologique comme un système dynamique dont la liaison du ligand à un site d'interaction se fait en réalité dans la majorité des cas par un processus de sélection de conformation qui se termine par une étape d'adaptation du ligand et du récepteur l'un à l'autre donc le ligand mais également le récepteur sont susceptibles de subir des changements conformationnels importants (Vogt et Cera, 2013). Cette représentation simpliste du problème a donc été améliorée par l'introduction de la flexibilité sur le ligand avec l'essor des moyens de calcul, permettant l'exploration des conformations adoptées par celui-ci lors de l'arrimage dans le site actif de la protéine. Néanmoins, celle-ci reste approximative mais la prise en compte de la flexibilité du récepteur, proposée actuellement par quelques logiciels de docking, entraîne une augmentation importante du nombre de degrés

de liberté du système et cela représente un coût trop élevé en termes de temps de calcul pour être systématiquement envisagée dans les protocoles de docking (Yuriev et *al*, 2011).

III.3.3. Docking semi-flexible

Lorsque l'espace conformationnel des ligands est exploré, le nombre de degrés de liberté de l'espace de recherche peut être significatif pour les molécules très flexibles. Par conséquent, l'utilisation de méthodes de recherche exhaustives semble souvent inappropriée car elles nécessitent des simplifications importantes au niveau de l'échantillonnage. Les algorithmes de fragmentation sont donc employés pour construire de façon incrémentielle le ligand au sein du site actif de la protéine. L'espace des conformations du ligand est alors limité au voisinage d'un ensemble initial d'états simplifiés. Cette stratégie de recherche par construction est adoptée par les programmes DOCK, FlexX, et Hammerhead (Beautrait, 2008).

III.4. Étapes impliquées dans le docking moléculaire

Le docking est essentiellement l'étude *in silico* de l'interaction entre une macromolécule (récepteur) et une micromolécule (ligand). À cette fin, les deux molécules doivent subir des phases préparatoires de pré-amarrage avant l'analyse finale (Madan et *al*, 2020).

III.4.1. Préparation du récepteur

La structure 3D de la protéine est extraite d'une banque de données des protéines à l'aide de serveurs en ligne en fournissant un code d'entrée ou par recherche textuelle. Après cela, selon les exigences, l'élimination des molécules d'eau, la stabilisation des charges, le remplissage des résidus manquants et la génération de chaînes latérales sont effectués (Madan et *al*, 2020).

III.4.2. Prédiction du site de liaison

Protéine réceptrice peut avoir de nombreux sites de liaison, c'est pourquoi la prédiction de la cavité de liaison appropriée est essentielle pour un bon résultat d'amarrage, ce qui se fait en utilisant les coordonnées d'une structure récepteur-ligand Co-cristallisée (Madan et *al*, 2020).

III.4.3. Préparation du ligand

Les ligands peuvent être obtenus à partir de plusieurs bases de données comme ZINC, PubChem,...etc. ou il peut être conçu à l'aide d'outils comme Chem sketch. Le ligand peut être enregistré dans plusieurs formats de fichiers comme mol, pdb, sdf,...etc. (Madan et *al*, 2020).

III.4.4. Docking

Le docking est étape à proprement parlé d'exploration d'un espace défini (poche, ou « *binding Pocket* ») au sein du récepteur pour trouver le(s) meilleur(s) mode(s) de liaison du ligand (Pachoulide, 2021).

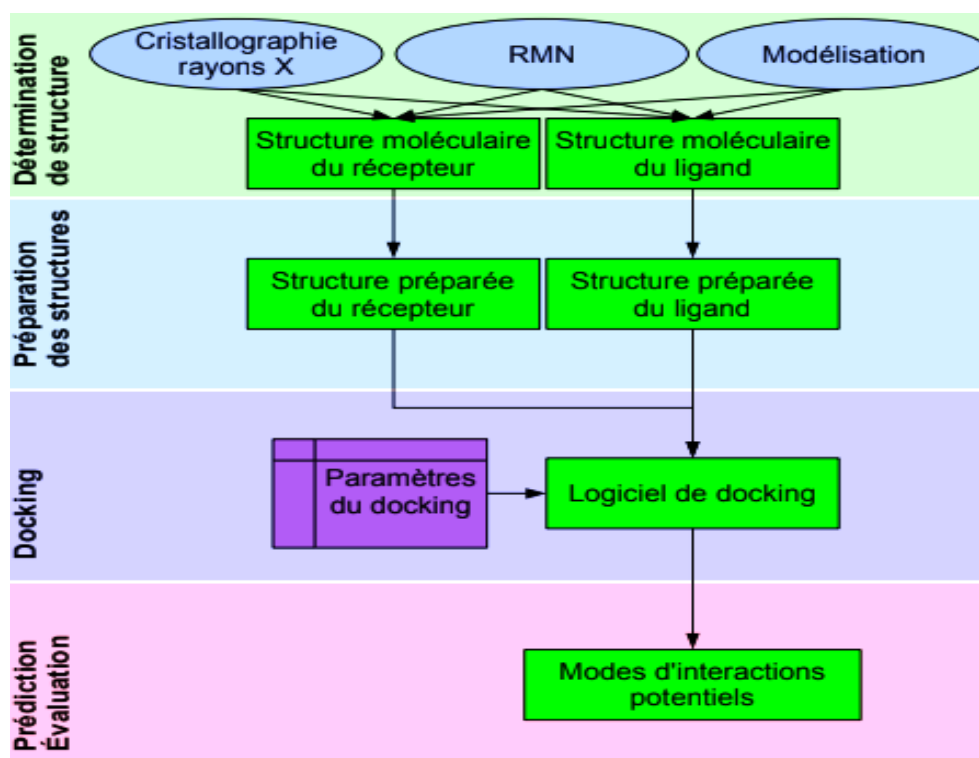


Figure III.5. Étapes typiques d'un docking (Grosdidier, 2007).

III.5. Le programme de docking Surflex-dock

Surflex-dock est un algorithme d'amarrage moléculaire flexible entièrement automatique qui combine la fonction de score du système d'amarrage Hammerhead avec un moteur de recherche qui s'appuie sur une méthode de similarité moléculaire basée sur la surface comme moyen de générer rapidement des poses putatives appropriées pour les fragments moléculaires. Il se base sur la construction d'une pseudo-molécule (protomol)

comme cible sur laquelle aligner le ligand par une construction incrémentale de ce dernier. Il s'agit de fragments de molécules placés dans le site actif de manière à occuper idéalement et de manière redondante celui-ci à partir de critères morphologiques. Il est important de préciser que cette pseudo-molécule peut être construite à partir du ligand dans le site actif, à condition de bénéficier d'une structure, ou bien à partir du récepteur sans aucun ligand (Jain, 2003 ; Welch *et al*, 1996).

III.5.1. Algorithmes de recherche

Les algorithmes de recherche systématique ont pour objectif d'explorer tous les degrés de liberté des ligands par rotation de 0 à 360° de toutes les liaisons rotatives à l'aide d'un pas incrémental choisi. Il en résulte que le nombre de conformations ainsi générées peut-être très élevé, c'est ce qu'on appelle l'explosion combinatoire. Pour pallier à ce problème, les méthodes de recherche systématique utilisent donc souvent un algorithme de fragmentation de reconstruction. Le principe général est de couper le ligand en fragments rigides et flexibles. Une ou plusieurs ancres peuvent être définies entre les points où des rotations sont possibles. Tout d'abord, un ou plusieurs fragments qui doivent être rigides sont placés au sein du site actif et donc mis en interaction avec la cible, puis le ligand est reconstruit en plaçant les fragments flexibles d'une manière successive tout en exploitant les angles de torsion. Cette méthode a été intégrée dans plusieurs programmes tels que Auto-Dock, FlexX et Surflex-dock (Krid, 2008).

III.5.2. Fonction de score

Différentes fonctions de score ont été développées et regroupées en trois catégories principales : fonction de score basée sur le champ de force, fonction empirique et fonction de score basée sur les connaissances. Il existe trois applications principales de ces fonctions de score dans le docking (Bielska *et al*, 2011) :

- Identification des modes de liaison les plus favorables.
- Prédiction précise des affinités de liaison.
- Identification des liants potentiels à partir d'une bibliothèque de ligands.

Les trois applications sont liées les unes aux autres et une fonction de score idéale fonctionne bien pour chacune des applications (Huang *et al*, 2010).

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur (Stahl et Rarey, 2001).

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}}$$

III.6. Application de docking moléculaire

- **Le criblage virtuel** : est utilisé pour trouver des « hits » et des composés principaux à partir de bases de données moléculaires selon des fonctions de scores (Lionta et *al*, 2014) ;
- **Prédiction des effets secondaires des médicaments** : la détection précoce des effets indésirables des médicaments est d'une grande importance dans le processus de découverte de médicaments. Il a été rapporté que les candidats médicaments échouent aux essais cliniques, principalement en raison des effets indésirables dus à des interactions non ciblées imprévues (Klein et Bourdette, 2013). Il existe de nombreuses approches informatiques pour soutenir ce travail. Pour prédire les effets secondaires, l'amarrage moléculaire ne nécessite que des informations structurales sur la cible. Il s'agit donc d'une approche importante pour prédire les effets secondaires potentiels des molécules dans les premières phases sans disposer d'informations détaillées sur les enregistrements du médicament et de la bio activité (Fan et *al*, 2012).
- **Polypharmacologie** : exprime l'identification de ligands qui interagissent avec des cibles présentant une série sélectionnée de valeurs thérapeutiques. L'industrie pharmaceutique s'est concentrée sur le développement de médicaments extrêmement sélectifs pour éviter d'éventuels effets secondaires (Ramsay et *al*, 2018). Cependant, le taux d'échec élevé observé dans les phases finales des tests cliniques en raison du manque d'activité thérapeutique a conduit de nouvelles conceptions de médicaments à passage à la polypharmacologie (Anighoro et *al*, 2014). À cet égard, l'amarrage moléculaire offre une opportunité précieuse car il permet l'identification de structures chimiques qui interagissent efficacement avec des cibles associées simultanément. De plus, le choix des structures protéiques à utiliser pour l'amarrage peut grandement influencer le résultat de la conception (Wei et *al*, 2008).
- **Réutilisation de médicaments** : la réutilisation de médicaments est une méthode établie de découverte de médicaments qui offre la possibilité d'identifier de nouvelles applications thérapeutiques pour des médicaments approuvés, des médicaments candidats en cours d'évaluation, des produits naturels ou généralement des ligands pré

synthétisés (Keiser et al, 2009). Compte tenu de la richesse des informations disponibles dans les bases de données publiques sur les ligands, les cibles et les maladies, les efforts visant à accroître l'application des stratégies de découverte basées sur la réutilisation *in silico* se sont intensifiés au cours des dernières décennies. À cet égard, l'amarrage moléculaire fait partie des méthodes informatiques les plus largement utilisées pour réorienter les ligands vers de nouvelles cibles thérapeutiques (Tuliahun et esin, 2022). Le docking permet de filtrer virtuellement des bases de données de médicaments approuvés, de composés photochimiques ou de composés présynthétisés vers la cible d'intérêt dans un délai raisonnable (Xu et al, 2018).

- **Découverte et profilage de cibles :** l'amarrage inversé permet de prédire la cible biologique de la molécule respective. Il existe de nombreuses approches et algorithmes d'amarrage pour le criblage inverse d'un ligand contre des bibliothèques de structures protéiques et l'évaluation de ses affinités de liaison. Cependant, la mise en œuvre de ces méthodes nécessite une bibliothèque cible pratique (Xu et al, 2018). Il existe plusieurs bases de données disponibles pour le contrôle par docking inversé. PDTD (*potentiel Drug Target data base*) est un bon exemple de bases de données familières utilisées dans ce domaine (Gao et al, 2008). De plus, des bibliothèques cibles peuvent être préparées manuellement à partir de bases de données telles que la PDB et la TTD (base de données de cibles thérapeutiques) (Chen et al, 2002).

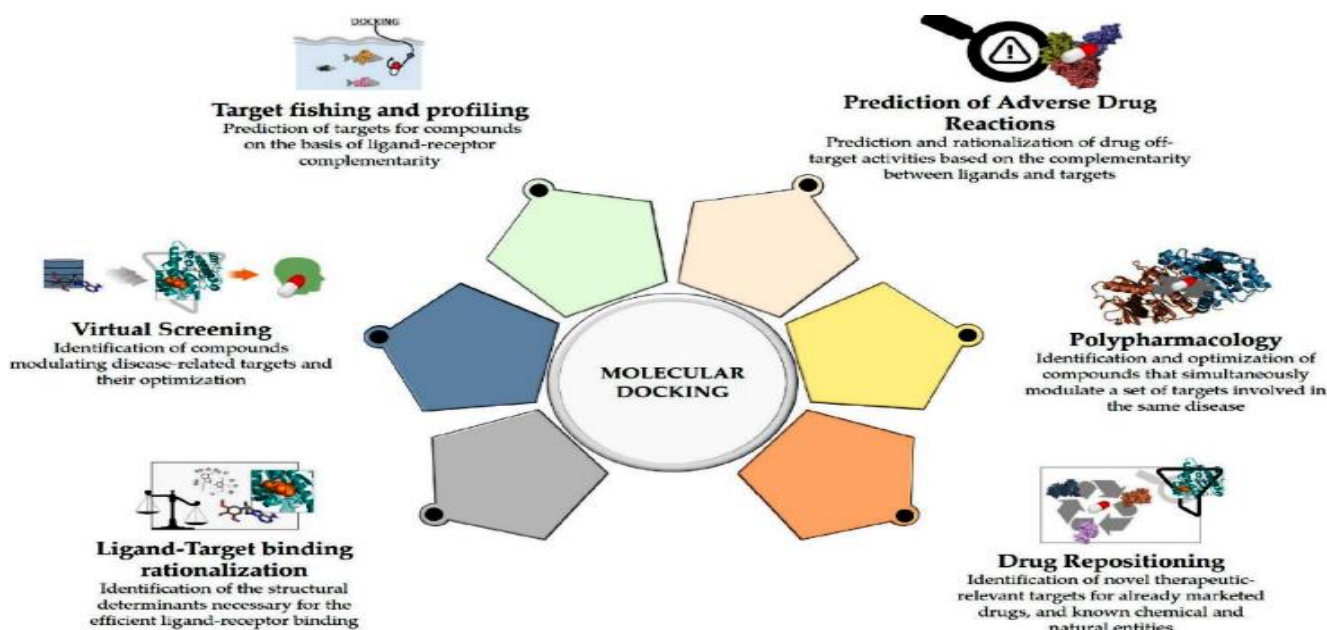


Figure III. 6. Les différents domaines d'application du docking moléculaire dans la recherche de médicaments (Pachoulide, 2021).

Chapitre IV

Matériel et méthodes



CHAPITRE IV. MATERIEL ET METHODES

L'objectif principal de de notre travail est de découvrir de nouveaux inhibiteurs de la DXR en faisant appel à une étude *in silico* ou bien sur ordinateur permettant de prédire les affinités (score de docking moléculaire), les types des interactions ainsi que la position des petites molécules à l'intérieur de site actif de notre cible enzymatique.

I. Matériel

I.1. Micro-ordinateurs

Afin de réaliser notre étude, nous avons utilisé des programmes installées dans trois microordinateurs qui présentant les performances suivantes :

- **HP** avec une mémoire de 4096MB RAM, et un processeur Intel(R) Core (TM) i7-4600U CPU @ 2,10 (4CPUs), ~2,7 GHz sous le système d'exploitation Windows 10 Professionnel; 64 bits version 14393.
- **HP** avec une mémoire de 4096MB RAM, et un processeur Intel(R) Core (TM) I7-2620M CPU @ 2,70(4CPUs), ~2,7GHz sous le système d'exploitation Windows 7 Professionnel; 64 bits version 7601.
- **Acer** avec une mémoire 2048MB RAM, et un processeur Intel(R) Atome (TM) CPU N2600 @1,60GHz (4CPUs) sous le système d'exploitation Windows7 Edition intégrale ; 32bits version 7600.

I.2. Les bases de données

I.2.1. Protein Data Bank

La *Protein Data Bank* ou PDB (Bernstein et al, 1977 ; Berman et al, 2000) est une banque mondiale de données de structures tridimensionnelles de macromolécules biologiques, essentiellement des protéines et des acides nucléiques. Ces structures sont principalement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN. De plus, ces données expérimentales sont déposées dans la PDB par des biologistes et des biochimistes du monde entier et appartiennent au domaine public. La consultation des structures est gratuite et peut se faire via l'internet depuis le site web de la banque (<https://www.rcsb.org/>). La PDB est

créé en 1971 par le laboratoire national de Brookhaven (Berman et *al*, 2003). Dans la PDB on peut trouver la séquence correspondante, ses coordonnées atomiques, les conditions expérimentales (par exemple, les conditions de cristallisation) ainsi que les images en 3D pour les enzymes et les différents ligands.

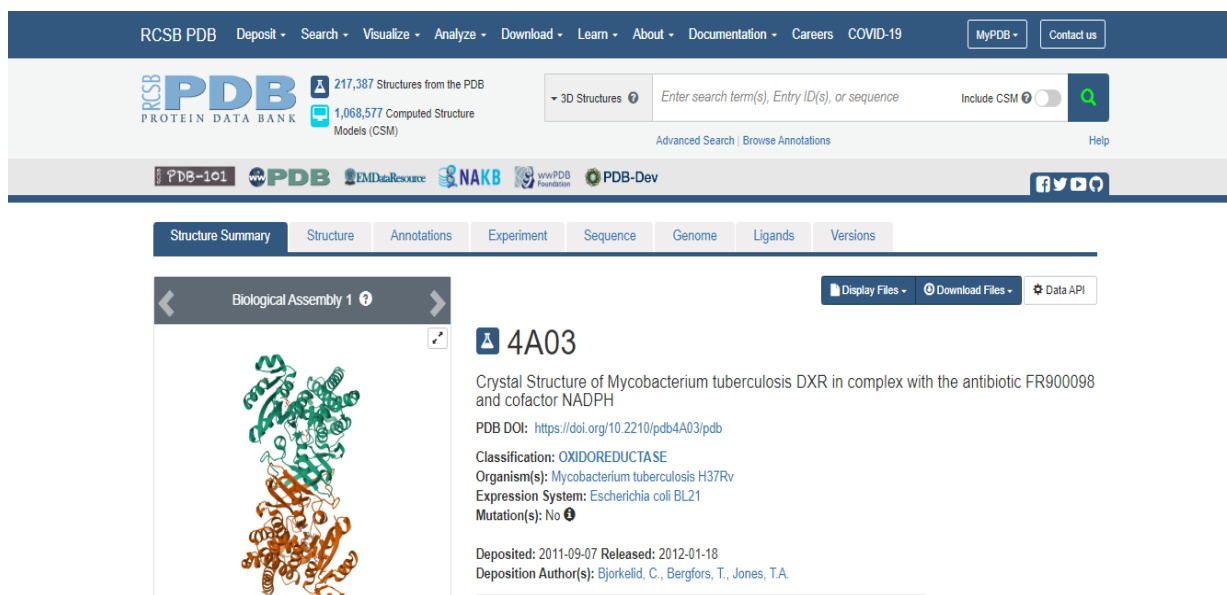


Figure IV. 1. Site internet de la base des données PDB.

I.2.2.PubChem

PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) est une ressource d'informations chimiques populaire qui sert un large éventail de cas d'utilisation. Depuis son lancement en 2004, cette base de données est rapidement développée pour devenir une ressource d'information clé sur les produits chimiques qui sert les communautés scientifiques dans de nombreux domaines tels que la chimie informatique, la biologie chimique, la chimie médicinale et la découverte de médicaments (Kim et *al*, 2016). Au cours des deux dernières années, un certain nombre de modifications ont été apportées à la PubChem. Des données provenant de plus de 120 sources de données ont été ajoutées. Parmi les faits marquants figurent : l'intégration des données Google Patents dans PubChem, qui a considérablement élargi la couverture de la collecte de données PubChem Patent ; la création des collections de données sur les lignées cellulaires et sur la taxonomie, qui fournissent un accès rapide et facile aux informations chimiques pour une lignée cellulaire et un taxon donnés, respectivement ; et la mise à jour du modèle de données d'essais biologiques. De plus, de nouvelles fonctionnalités ont été ajoutées aux protocoles d'accès programmatique PubChem, PUG-

REST et PUG-View, notamment la prise en charge du téléchargement de données centrées sur la cible pour une protéine, un gène, une voie, une lignée cellulaire et un taxon donnés et l'ajout de l'option « *standardize* » à PUG-REST, qui renvoie la forme standardisée d'une structure chimique d'entrée (Sunghwan et al, 2023).

Chaque composé de cette chimiothèque est stocké dans plusieurs formats de fichiers courants, notamment SMILES, mol2 et sdf. Parmi les informations disponibles dans la PubChem figurent : la référence de la molécule, la structure 2D et 3D et les propriétés physicochimiques.

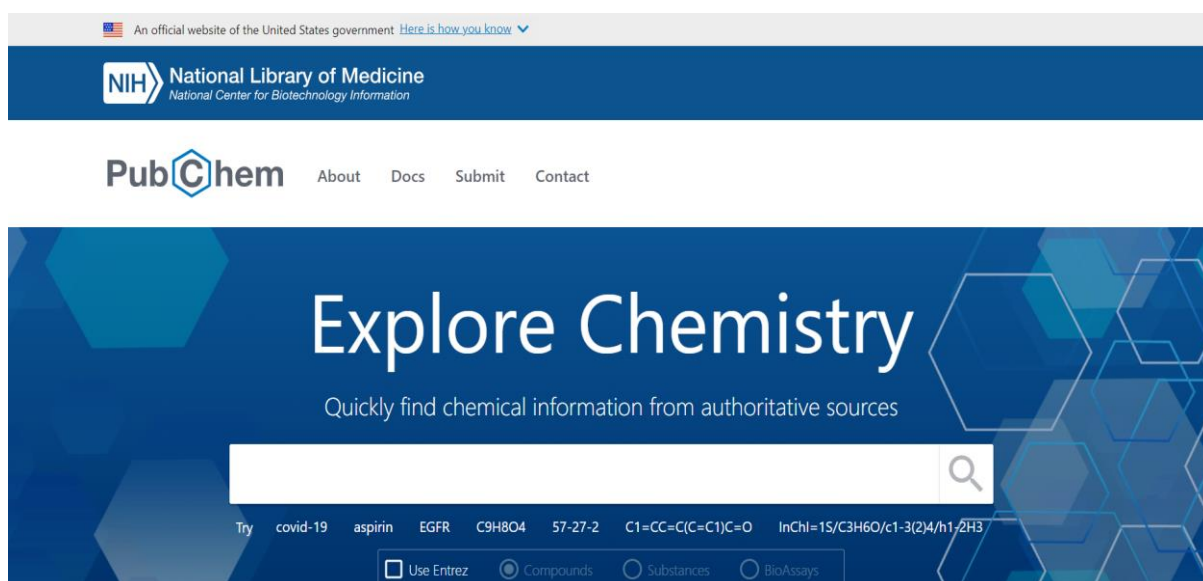


Figure IV. 2. Interface graphique de la chimiothèque PubChem.

I.3. Programmes utilisés

I.3.1. Le logiciel Surflex-dock

Surflex-dock est un algorithme de docking rapide capable d'arrimer les ligands dans un environnement constitué d'acides aminés avec une bonne précision. Les paramètres standards de Surflex-dock ont été utilisés par défaut dans cette étude (Boucherit H, 2012). Le docking est réalisé en 3 étapes (Chikhi, 2007) :

- Le choix de la manière d'identifier le site actif et génération d'une pseudo-molécule (protomol) qui va servir de cible aux différents ligands.
- Docking moléculaire d'un ou de plusieurs ligands.
- La visualisation des résultats (Affinité ou Final-0 en M^{-1}).

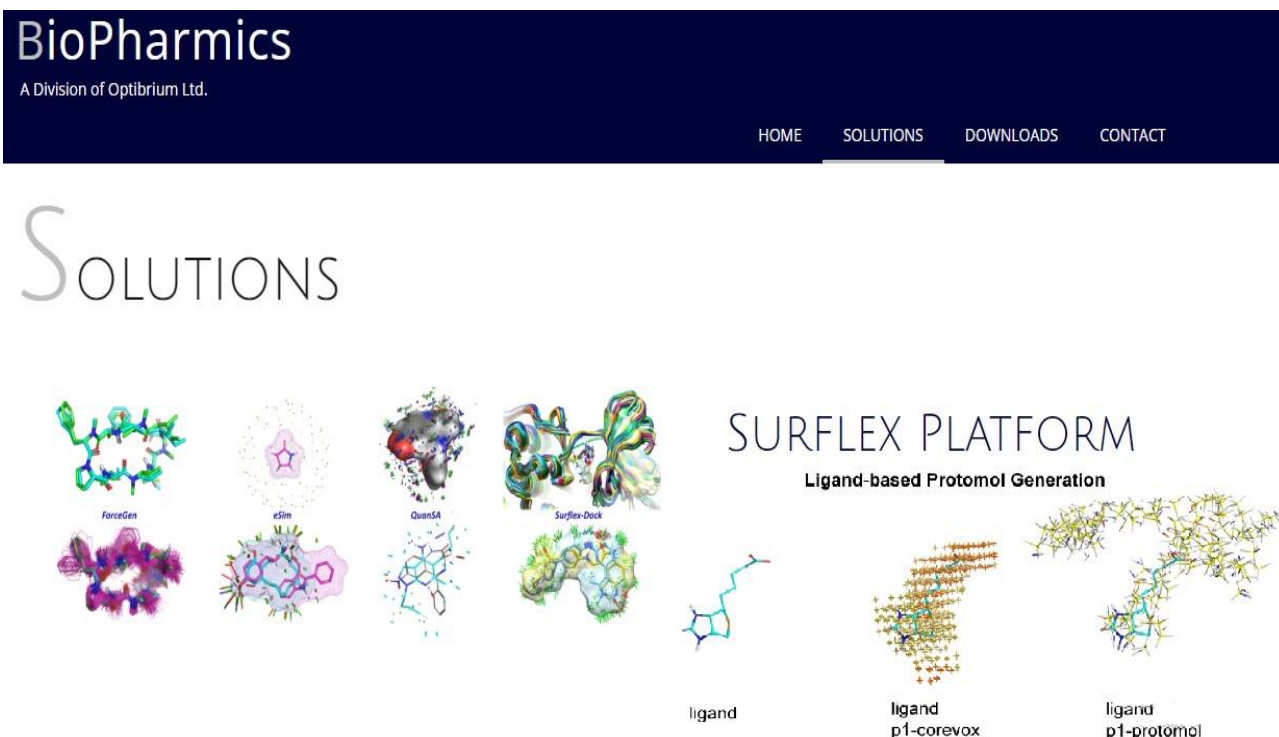


Figure IV. 3. Programme Surflex-dock (BioPharmics, 2024).

I.3.2. Microsoft Excel

Excel est un logiciel de la suite bureautique Office de Microsoft et permet la création de tableaux, de calculs automatisés, de plannings, de graphiques et de bases de données. On appelle ce genre de logiciel un "tableur" ([https:// cours-informatique-gratuit .Fr](https://cours-informatique-gratuit.fr)).

Le logiciel Excel intègre des fonctions suivantes (Anonyme, 2024)

- De calcul numérique (à l'aide de formules de calcul).
- De représentation graphique (utilisant des graphes).
- D'analyse de données (notamment de tableau croisé dynamique).
- De programmation, laquelle utilise les macros écrites dans un langage (*Visual Basic*).

I.3.3. Open Babel

Le logiciel libre Open Babel (2.4.0. 2011) est une boîte à outils chimique conçue pour parler les nombreux langages des données chimiques. Ce logiciel est disponible pour Windows, Unix, et Mac OS. Il est distribué sous licence GNU GPL. L'objectif du projet

scientifique Open Babel est d'offrir aux utilisateurs et aux développeurs un ensemble de programmes et de bibliothèques logicielles multiplate-forme conçu pour la modélisation moléculaire, la chimie et de nombreux domaines connexes, tel que la conversion de format de fichiers et de données à un autre (Rajarshi et al, 2006). Les formats de fichier que « Open Babel » prend en charge comprennent : *pdb*, *mol*, *mol2*, *sdf*, *xyz*, *pc*, *smi*...etc. Ce programme est obtenu à partir de cette adresse électronique <http://openbabel.org>.

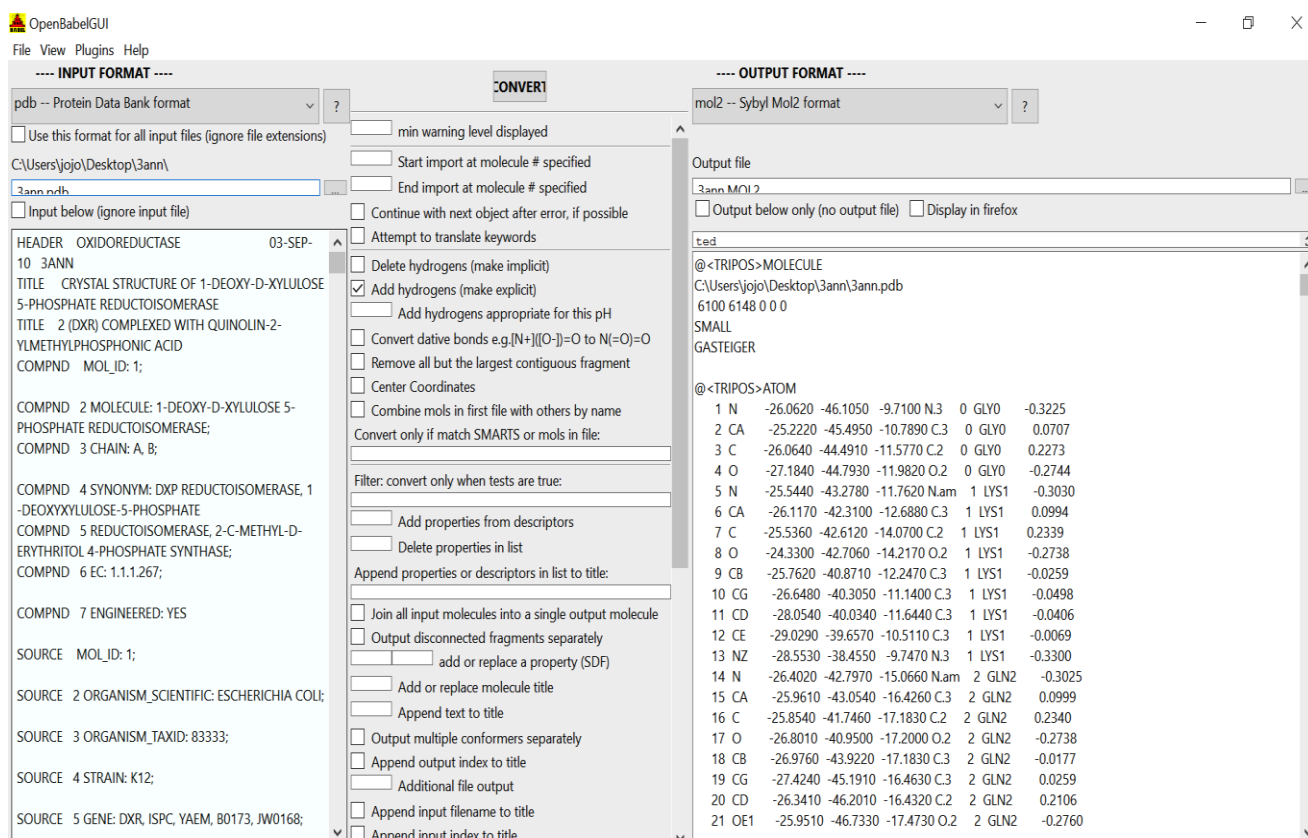


Figure IV. 4. Conversion de fichiers par le programme Open Babel.

I.3.4.ViewerLite

Dans cette étude, nous avons utilisé le programme *ViewerLite* afin de visualiser les structures en 3D des complexes protéine-inhibiteur car le programme Surflex-dock est dépourvu de la visualisation

ViewerLite (4.2, 2001) est un outil gratuit de visualisation, qui permet un affichage 3D d'une structure de molécule biologique. Il lit plusieurs formats de fichier tel que *pdb*, *mol2*, *sdf*...etc.

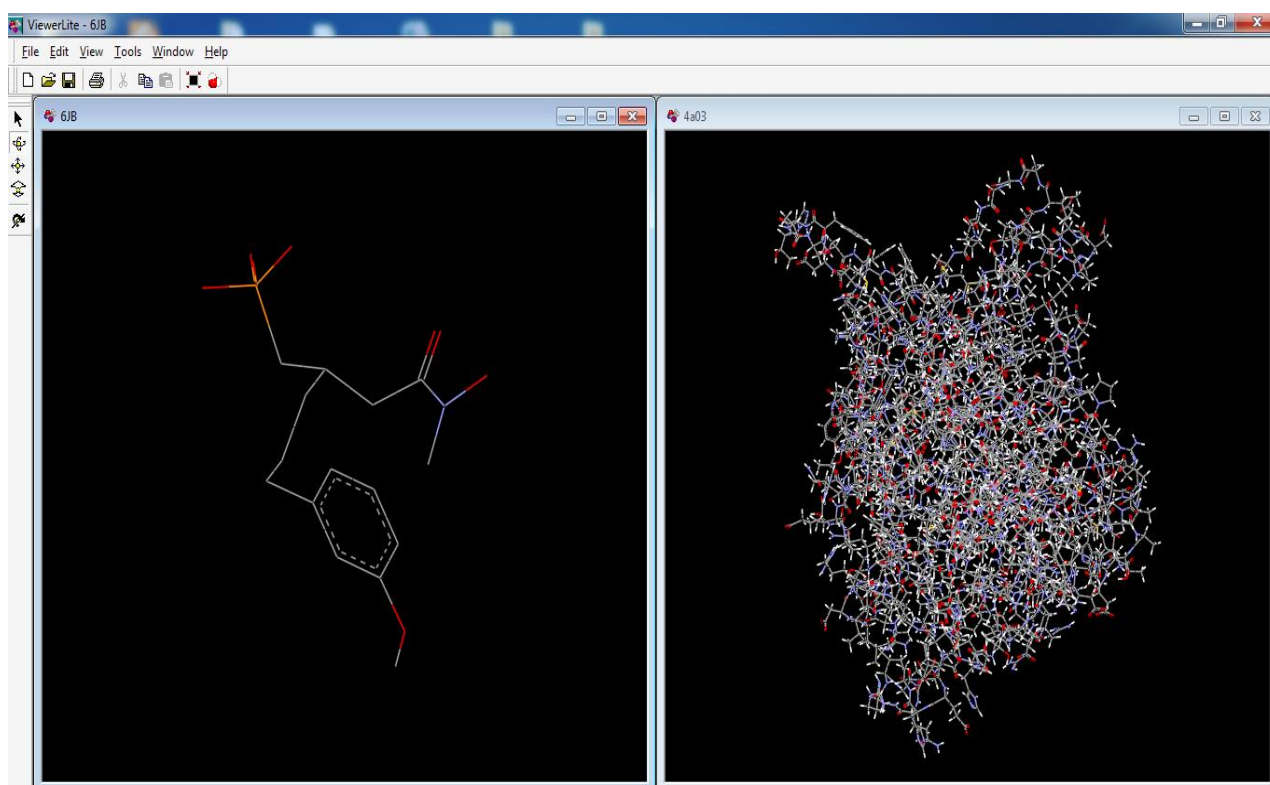


Figure IV III. 5. Visualisation par le logiciel Viewerlite.

I.3.5. Biovia Discovery Studio

Biovia Discovery Studio (v2021.1.0.20298) est un logiciel complet permettant d'analyser et de modéliser des structures moléculaires, des séquences et d'autres données pertinentes pour les chercheurs en sciences de la vie. Le produit comprend des fonctionnalités permettant d'afficher et de modifier les données ainsi que des outils permettant d'effectuer une analyse de données de base.

Biovia Discovery Studio Visualizer est une visionneuse gratuite qui peut être utilisée pour ouvrir les données générées par d'autres logiciels de la gamme de produits Discovery Studio. Il est conçu pour offrir un environnement interactif permettant de visualiser et d'éditer des structures moléculaires, des séquences, des données de réflexion des rayons X, des scripts et d'autres données. Il fournit également un riche ensemble de visionneuses pour afficher des tracés et d'autres représentations graphiques de données. L'application fonctionne sous Windows et Linux.

Biovia Discovery Studio Visualizer propose plusieurs fonctions telles que : la présentation des liaisons chimiques (liaison hydrogène, interaction hydrophobe...etc.), la

mesure de distances, l'annotation des acides aminés et ligand, créations de surfaces, choix de couleur (selon les atomes, les structures...), la capacité de cacher et puis afficher à nouveau les différentes molécules.

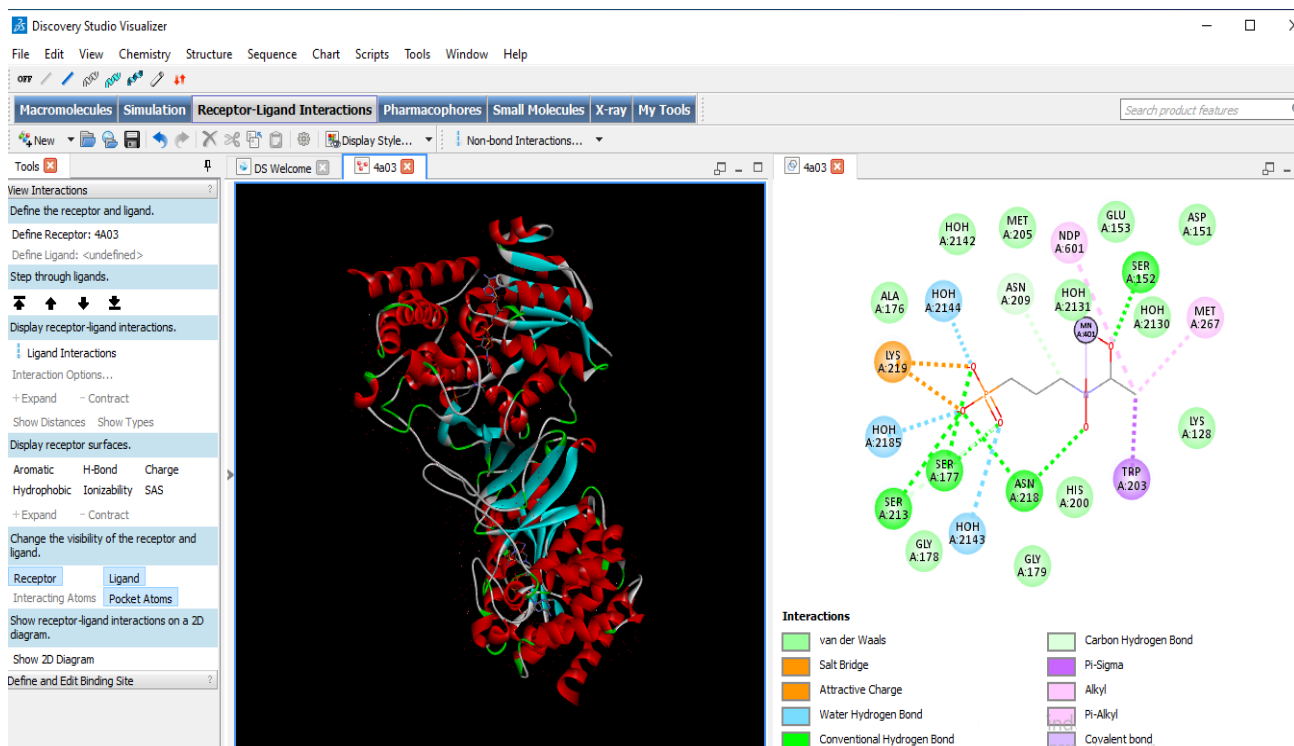


Figure IV. 6. Visualisation par le logiciel Biovia Discovery Studio.

I.4. Les Serveurs

I.4.1. SwissADME

L'outil web SwissADME (<http://www.swissadme.ch>) est un serveur en ligne géré par l'institut suisse de bio-informatique (SIB), qui fournit des services et des ressources en bio-informatique aux scientifiques. SwissADME fournit notamment une plate-forme pour évaluer la règle de cinq de *Lipinski* sur la biodisponibilité orale des médicaments. Ainsi que de prédire les propriétés pharmacocinétiques et les propriétés « *druglike* » des candidats médicaments et des petites molécules (Boucherit, 2020).

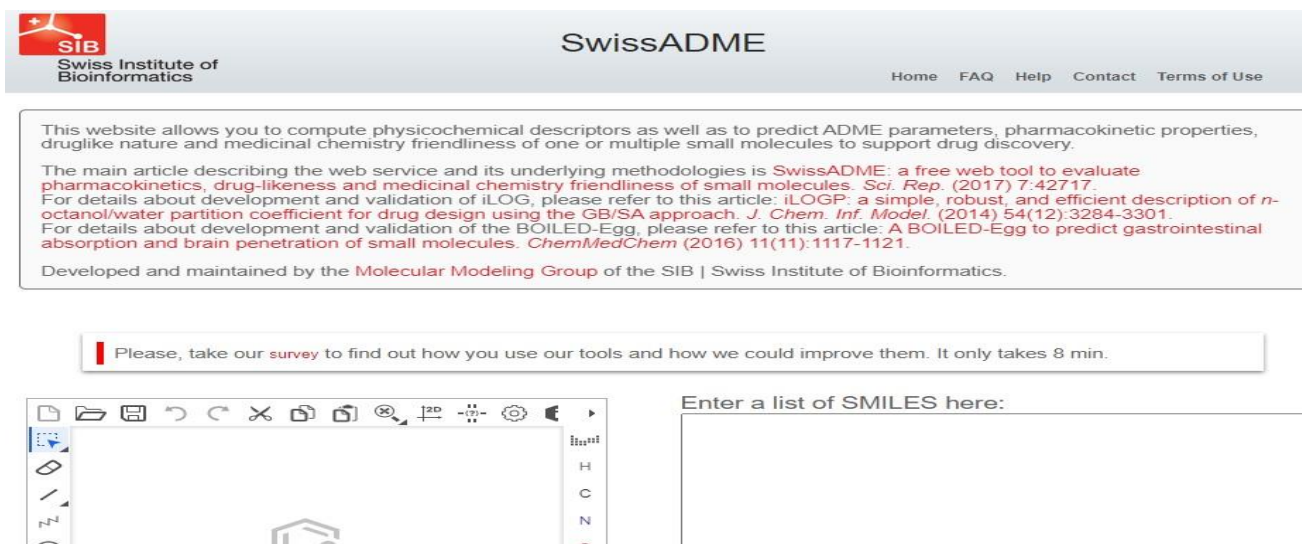


Figure IV. 7. Interface graphique du serveur SwissADME.

I.4.2. PreADMET

PreADMET (<https://preadmet.bmdrc.kr/>) est une application web permettant de prédire les données ADME-Tox et de créer une bibliothèque de type médicament à l'aide de la méthode in silico. PreADMET permet un accès à plusieurs modèles pour prédire (Boucherit, 2020) :

- Les propriétés physicochimiques « *Druglikeness* ».
- Quelques comportements pharmacocinétiques.
- La toxicité des composés.

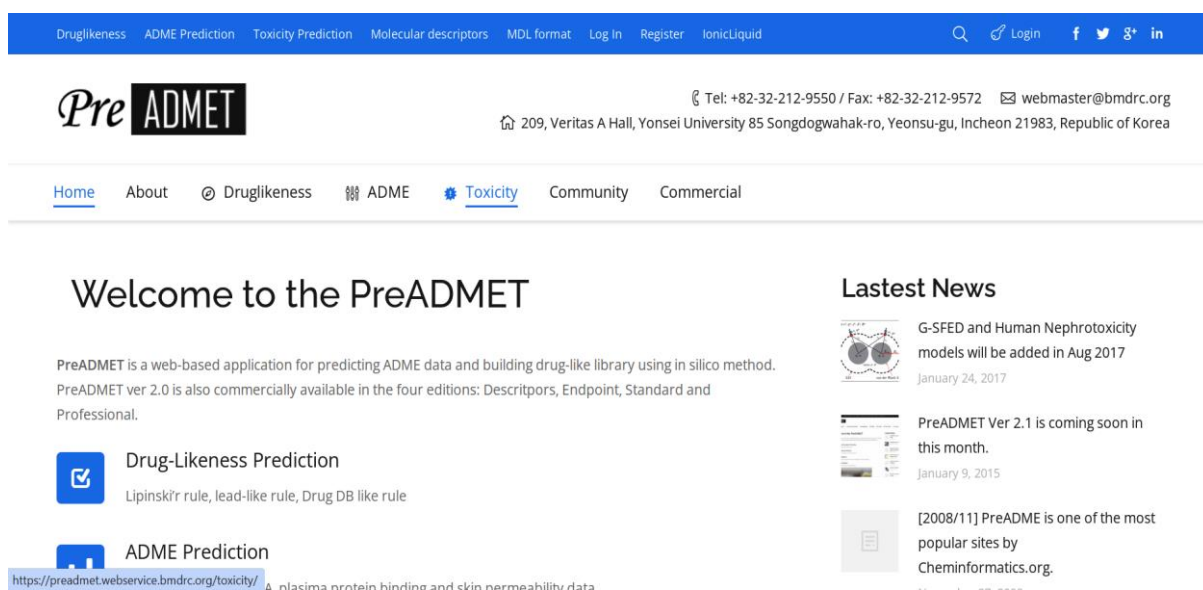


Figure IV. 8. Interface graphique de serveur PreADMET.

II. Méthodes

II.1. Test de fiabilité de programme Surflex-dock

Pour valider les résultats obtenus dans notre étude, il est important de tester la fiabilité du logiciel d'ancrage moléculaire Surflex-dock. Pour ce faire, nous avons effectué deux tests pour vérifier les performances de notre logiciel d'amarrage.

- L'écart quadratique moyen ou RMSD
- Analyse visuelle

II.1.1. Ecart quadratique moyen ou RMSD

Le RMSD entre deux poses est une mesure géométrique de la distance entre les positions atomiques de la structure expérimentale et celles de la structure prédite du complexe ligand / site de liaison (Hawkins et *al*, 2008). Plus la prédiction du positionnement est précise, plus les différences entre les deux structures sont faibles, plus la valeur du RMSD est basse. Pour réaliser un calcul de RMSD, le ligand Co-cristallisé d'une cible donnée est extrait, et repositionné par docking moléculaire dans le site actif d'une cible enzymatique. C'est ce qu'on appelle en anglais le « *cognat redocking* » ou encore « *self docking* » (Hawkins et *al*, 2008). Pour évaluer la précision du positionnement, seuls les atomes lourds sont généralement considérés (Kirchmair, 2008). Un bon RMSD est inférieur ou égal à 2 angströms. Plus la valeur de déviation quadratique moyenne se rapproche de 0, plus la conformation prédite par le logiciel se superpose avec celle de référence. La norme actuelle pour évaluer la performance d'un logiciel de docking est de faire ce test sur environ une centaine de complexes protéine-ligand cristallisés (Kramer et *al*, 1999 ; Kellenberger et *al*, 2004).

II.1.2. Analyse visuelle

L'analyse visuelle permet de déterminer si un ligand simulé se superpose avec le ligand Co-cristallisé. C'est le deuxième test utilisé pour juger la performance du programme Surflex-dock, montre que les modèles des ligands simulés par ce programme sont correctement placés dans le site actif de la cible enzymatique. Cela témoigne davantage de la fiabilité du logiciel utilisé pour prédire les différentes interactions enzyme-inhibiteur.

II.2. Réalisation du docking moléculaire par Surflex-dock

II.2.1. Préparation d'enzyme

Pour réaliser le docking moléculaire, la structure 3D de l'enzyme DXR a été téléchargée via la banque de donnée PDB. Nous avons choisi un code de bonne qualité de l'enzyme DXR : le code 4a03, c'est une structure qui est résolue à 1,65 Å. Le complexe a été téléchargé au format pdb. Contenant deux chaînes (A et B), nous avons éliminé la chaîne B et gardé uniquement la chaîne A, les molécules d'eau et les autres composés de cristallisation ont aussi été supprimées. Les deux molécules (enzyme et inhibiteur) du complexe ont été séparées dans des fichiers différents. Le programme Surflex-dock exige le format .mol2 pour appliquer le docking. Pour cette raison, nous avons utilisé le programme Open Babel pour la conversion de notre enzyme et les différents inhibiteurs étudiés au format .mol2 et aussi pour ajouter des atomes d'hydrogène à la structure de la protéine et ainsi que des inhibiteurs testés, en respectant l'état de protonation des résidus.

II.2.2. Préparation de l'inhibiteur

A partir de la chimiothèque PubChem nous avons téléchargé 236 molécules similaires de la 6JB. Ces molécules sont téléchargées en 3D sous le format *sdf* et puis converties au format .mol2 par le programme Open Babel.

II.2.3. Docking par Surflex-dock

Le docking moléculaire a été réalisé en utilisant le programme Surflex-dock, et différentes étapes sont nécessaires :

II.2.3.1. Génération de Protomol

Au cours de docking, nous avons utilisé une pseudo-molécule comme la cible à laquelle se rallie le ligand dans le site actif de la cible enzymatique. Le protomol.mol2 est constitué de fragments moléculaires CH₄, N-H et C=O. Le protomol a été généré uniquement sur la base de la structure des protéines. L'emplacement du protomol a été indiqué en marquant les résidus de la protéine à proximité du ligand natif (Jain, 2003). Dans notre cas, nous avons utilisé la chaîne A du code 4A03 sous format .mol2 et le ligand de référence sous format .mol2 pour réaliser le protomol. Cette étape effectuée par la commande suivante :

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

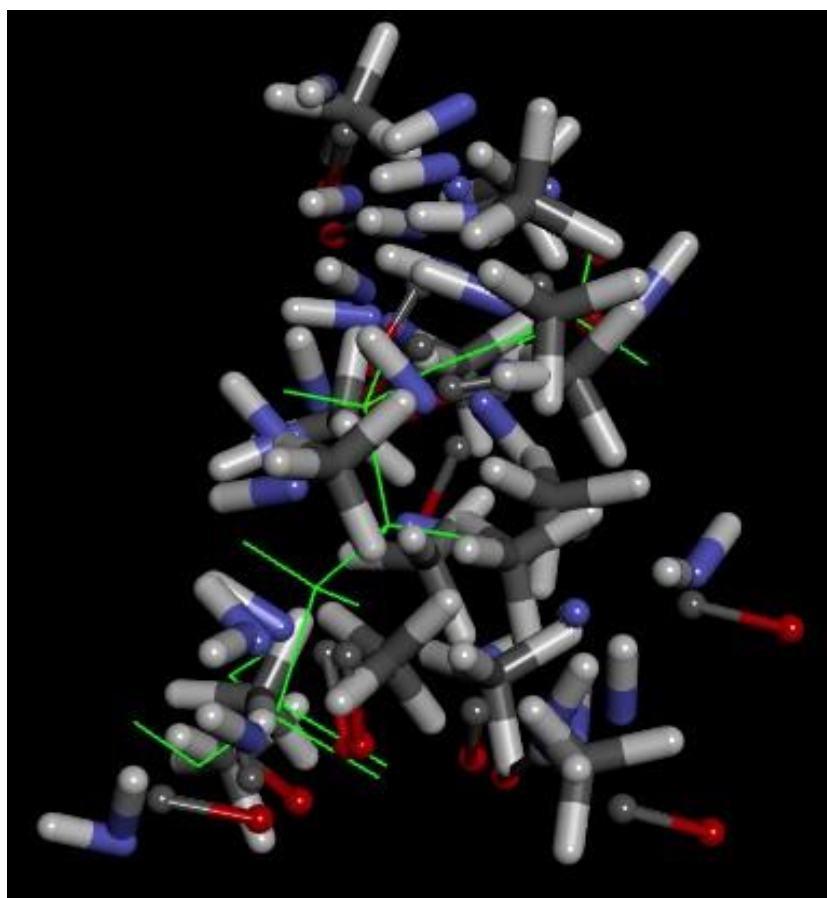


Figure IV. 9. Génération de protocole : Protomol.mol2 pour le code 4A03 comparé à la pose native de l'inhibiteur de référence (vert).

II.2.3.2. Le docking moléculaire

Cette étape nécessite la disponibilité de la protéine sous format *.mol2*, le protomol généré dans l'étape précédente et les ligands sous format *.mol2*. Le docking moléculaire par Surflex-dock permet d'avoir les dix meilleures positions (conformations) de chaque ligand au sein du site actif étudié, classées par leur score (final-0, final-1...final-9). Chaque position présente trois scores : le 1^{ier} correspond à l'affinité, le 2^{ème} correspond au degré de pénétration impropre du ligand dans la protéine appelé «*crash score*» et le 3^{ème} correspond au niveau de contribution des interactions polaires appelé «*self score*» (Figure VI. 10). Cette étape a été réalisée en utilisant la commande suivante :

Surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 Protéine.mol2

```
[ret_conf -0.92] [ret_conf -0.51] final-0: 3.81 (crash -0.55 (self -0.06))
final-1: 3.56 (crash -0.39 (self -0.06))
final-2: 3.49 (crash -0.23 (self -0.06))
final-3: 3.44 (crash -0.92 (self -0.06))
final-4: 3.34 (crash -0.60 (self -0.06))
final-5: 3.05 (crash -0.72 (self -0.07))
final-6: 2.89 (crash -0.77 (self -0.06))
final-7: 2.87 (crash -0.35 (self -0.06))
final-8: 2.83 (crash -1.08 (self -0.06))
final-9: 2.82 (crash -1.03 (self -0.06))
```

Figure IV. 10. Capture d'écran des résultats du docking obtenus par le logiciel Surflex-dock.

II.2.3.3. Calcul du RMSD

La façon dont les ligands sont arrimés dans le site de liaison peut être décrite numériquement par le RMSD entre le ligand téléchargé à partir de la PDB (Co-cristallisé) et la molécule dockée par le logiciel Surflex-dock. En utilisant la commande ci-dessous pour calculer le RMSD :

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

```
C:\Users\bouketta\Desktop\66>surflex-dock rms final-0.mol2 4a03lig.mol2
Surflex License: C:\sfdocklicense
The Surflex software is the property of Biopharmics LLC.
Surflex licensed to SFDock0036 (Gerhard Vergoten, Univ. Lille) for internal use
only.
Rotatable bonds: 5 5
Actual rmsd: 5.147
Heavy atom rmsd: 2.924
Similarity: 0.407
```

Figure IV. 11. Résultat du calcul du RMSD par le programme Surflex-dock.

III .Prédiction de la similarité médicamenteuse

L'application de la méthode de filtrage ADME-TOX est cruciale pour mener à bien cette étude, en utilisant les serveurs SwissADEM et PréADMET pour prédire les propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et de la toxicité des meilleurs inhibiteurs proposés.

III.1. Filtrage ADEM-TOX

Le profil ADME-Tox d'une molécule est l'ensemble des paramètres caractérisant sa biodisponibilité dans l'organisme, c'est à dire, son absorption, sa distribution, son métabolisme, son excrétion et sa toxicité. Lorsque la voie d'administration orale est choisie, l'absorption du médicament se fera par la muqueuse intestinale, soit par diffusion passive, soit par transport actif. Une fois dans l'organisme, la molécule va être dégradée en métabolites. Ce processus est déterminant sur plusieurs points, lors de l'administration du médicament (Li, 2001) :

- La posologie, la vitesse de dégradation du composé déterminant en partie sa fréquence d'administration.
- Les contre-indications, dues aux interférences entre les métabolismes de deux médicaments.
- Sa toxicité, le médicament pouvant être rendu plus, ou moins, toxique en étant métabolisé.

La connaissance de la toxicité d'un médicament est cruciale. Il est en effet préférable qu'un médicament ait un index thérapeutique élevé, c'est à dire que la concentration plasmatique toxique soit significativement plus élevée que la concentration plasmatique thérapeutique (Li, 2001).

L'utilisation du criblage *in silico* a entraîné la nécessité de modèles ADME-Tox pour éliminer rapidement les composés ayant les propriétés physico-chimiques les moins similaires avec les médicaments disponibles sur le marché (Schneider, 2013). La prédiction de l'ADME-Tox permet aussi d'identifier les faiblesses potentielles des séries sélectionnées par criblage, ce qui pourra servir pendant leur optimisation. Au moment de l'identification de têtes de série, le profil ADME-Tox peut être déterminé en utilisant les méthodes expérimentales et *in silico* de manière itérative (Yu, 2003).

III.2. Propriétés physico-chimiques

Il existe différentes règles pour prédire une bonne biodisponibilité d'un médicament par voie orale, Il existe deux règles :

III.2.1. Règle de Lipinski

Lipinski ainsi d'autres chercheurs définirent dès 1997 des règles simples permettant d'identifier rapidement et à grande échelle des molécules à caractère « *Drug-like* », plus susceptibles de présenter les caractéristiques de biodisponibilité nécessaires au développement d'un candidat médicament. Ces règles, communément appelées « règles de Lipinski » ou « la règle de 5 », comportent quatre critères physico-chimiques qui décrivent la molécule : poids moléculaire ≤ 500 Da, $\log P \leq 5$. Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogènes ≤ 10 et nombre de donneurs de liaisons hydrogènes ≤ 5 . Particulièrement, la mesure du $\log P$ caractérise la polarité du composé (estimée par le coefficient de partition octanol/eau), permettant ainsi d'estimer la distribution du composé dans l'organisme (Lipinski et al, 1997).

III.2.2. Règle de Veber

Autres règles basées sur le même principe ont été proposées, comme par exemple les règles de Veber qui reflètent la biodisponibilité orale. De nos jours, ces règles sont souvent mal interprétées et sont largement utilisées pour filtrer les molécules. Par conséquent, elles peuvent être trop restrictives, réduisant l'espace chimique exploré lors de certains projets et difficilement applicables aux nouvelles molécules approuvées par la FDA (Zhang et al, 2007 ; Doak et al, 2014). Il existe deux autres descripteurs par Veber et ses collègues (Veber et al, 2002) :

- La surface polaire du composé doit être inférieure à $140 \text{ \AA}^2$
- Le nombre de liaisons de rotation doit être inférieur à 15.

III.3. Propriétés pharmacocinétiques

La pharmacocinétique est l'étude du devenir du médicament dans l'organisme. Elle désigne l'étude qualitative et quantitative des processus d'absorption, de distribution, ainsi que le métabolisme et l'élimination, dans un système biologique, d'un médicament en fonction du temps. Ce système pouvant être un organisme humain, animal, ainsi que des modèles tissulaires, cellulaires ou moléculaires (Agorma et al, 2007 ; Mager et Jusko, 2001).

III.3.1. Absorption

L'absorption du médicament correspond à l'entrée de la substance active inchangée dans l'organisme jusqu'à son arrivée dans la circulation générale, après le franchissement d'une barrière physiologique. Cette barrière varie en fonction de la voie d'administration du médicament, pouvant par exemple être l'intestin en cas d'administration orale, la peau en cas d'administration cutanée, ou les poumons en cas d'inhalation du médicament,...etc. (Agorma et *al*, 2007 ; Mager et Jusko, 2001). L'absorption gastro-intestinale est un modèle pour prédire *in silico* l'absorption des candidats-médicaments.

III.3.2. La perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE)

La BHE est une structure très efficace pour limiter les atteintes neurologiques des traitements à visée périphériques mais devient un obstacle majeur dans le cadre du développement de médicament à visée cérébrale. En effet, la présence de la BHE, couplée à la complexité du tissu cérébral, ont pour conséquence des taux de succès très faibles lors du développement de nouveaux médicaments et des durées de développement plus importantes que pour des médicaments à visée non cérébrale (Alavijeh et *al*, 2005).

III.3.3. Inhibition des CYP450

Les cytochromes P450 sont des protéines transmembranaires, ubiquitaires, ayant tous une structure très similaire au niveau du site actif et le même cycle catalytique (Poulos, 1985).

L'inhibition des enzymes du métabolisme, et spécialement des cytochromes P450, intéresse beaucoup l'industrie pharmaceutique pour deux raisons. D'une part, l'inhibition enzymatique est à l'origine des interactions médicamenteuses, lorsque deux médicaments ou plus sont administrés au même temps ; d'autre part, certaines isoformes particulières de cytochromes P450 peuvent être considérées comme des cibles thérapeutiques (Brueggemeier, 2001).

Les principaux isoformes du CYP humain impliqués dans le métabolisme du médicament sont : CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, et CYP3A4 responsables des réactions connues du métabolisme des médicaments (Boucherit, 2020).

III.4. La toxicité

La toxicité d'un candidat-médicament est l'un des paramètres les plus redoutés par les développeurs dans le domaine pharmaceutique, surtout lorsqu'il entre en phases cliniques. En effet, un candidat-médicament présentant des effets secondaires graves lors des phases cliniques est immédiatement abandonné. Il est donc très important de tenter de prédire la toxicité d'un composé à partir de sa structure lors des phases précoces de développement de médicaments. La toxicité peut être classifiée selon l'organe affecté (hépatotoxicité, néphrotoxicité, cardiotoxicité,...etc.) ou selon le mécanisme de toxicité (génotoxicité, mutagénicité, carcinogénicité,...etc.). De nombreuses méthodes *in silico* ont donc été mises en place pour tenter de prédire la toxicité des composés, c'est ce qu'on appelle la toxicologie *in silico* ou toxicologie computationnelle (Lagarde, 2014).

III.4.1. Inhibition de HERG

Le gène humain lié à l'éther-a-go-go (HERG) (Warmke et Ganetzky, 1994) code pour la sous-unité α du canal potassique voltage-dépendant qui sous-tend I_{Kr} . (Kiehn et *al*, 1996). Les canaux potassiques HERG forment des homo-tétramères de six domaines transmembranaires identiques, avec un groupe de charges positives localisées dans le domaine S4 agissant comme capteur de tension putatif.

Le blocage des courants HERG provoque un allongement du potentiel d'action cardiaque, ce qui peut produire un effet anti arythmique bénéfique de classe III (Hondegheem et Snyders, 1990).

III.4.2. Mutagénicité par le test Ames

Le test d'Ames est un test mené en laboratoire visant à déterminer le pouvoir mutagène d'une substance, c'est-à-dire sa capacité à modifier l'ADN des êtres vivants. Un test positif indique que le produit chimique est un agent potentiellement cancérigène. Ce test est rapide, pratique et peu coûteux. Pour ce faire, on utilise des souches bactériennes (*Salmonella typhimurium*) possédant au préalable des mutations ne leur permettant plus de synthétiser un certain acide aminé, l'histidine, essentiel à leur multiplication (auxotrophique pour l'histidine). Il suffit de mettre la substance que l'on souhaite tester en contact avec les différentes souches bactériennes. De nouvelles mutations peuvent alors intervenir et restaurer la fonction du gène préalablement muté. Ainsi la bactérie peut à nouveau synthétiser

l'histidine. Ces bactéries sont alors capables de se développer dans un milieu dépourvu d'histidine suite aux mutations perpétrées par la substance testée. Dans ce cas la bactérie redevient prototrophe et la molécule testée est alors considérée comme mutagène (figure IV.12) (Boucherit, 2020).

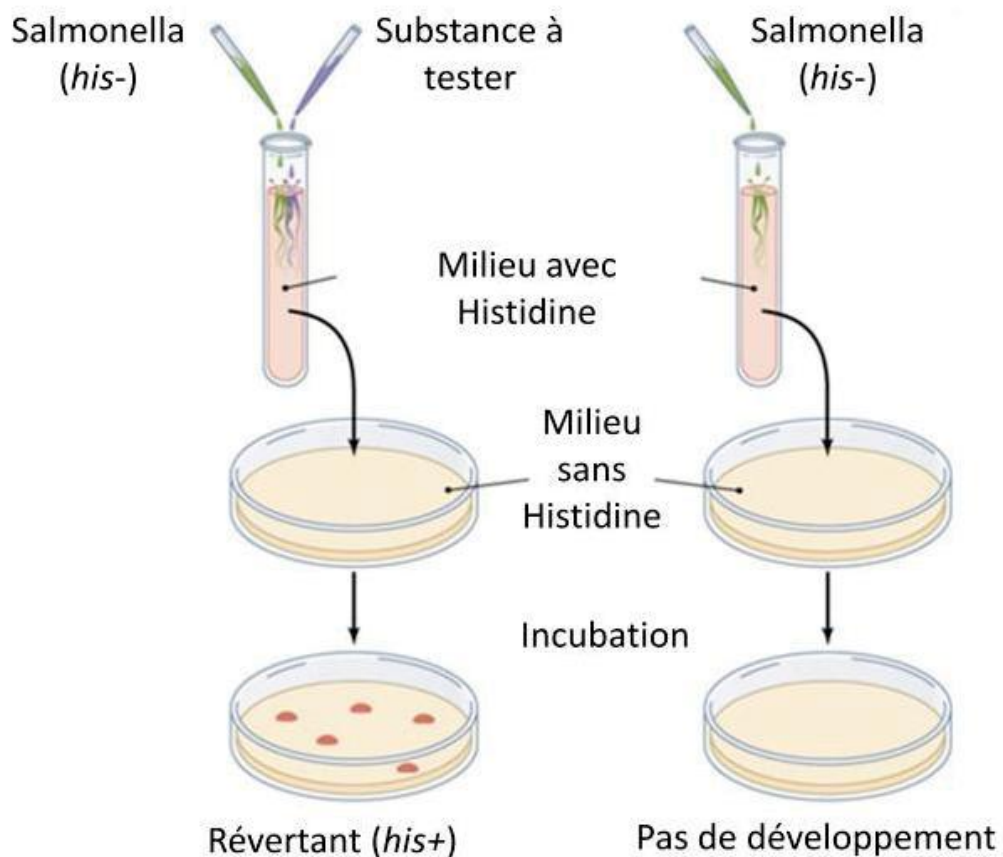


Figure IV. 12. Déroulement d'un test d'Ames (Goujon, 2015).

III.4.3. Étude du pouvoir cancérogène

La cancérogénicité est une toxicité qui cause le cancer dans le corps. En règle générale, les tests de cancérogénicité nécessitent une longue période de temps (généralement 2 ans) actuellement, seules les méthodes de test *in vivo* sont établies. Habituellement, le test utilise des souris ou des rats, en les exposants à un composé. Et la variable à observer est l'existence d'un cancer. PreADMET prédit le résultat de son modèle, construit à partir des données du NTP (*National Toxicology Program*) et de l'US FDA (*U.S. Food and Drug Administration*), qui sont les résultats des tests de cancérogénicité *in vivo* menés sur des souris et des rats pendant 2 ans (Boucherit, 2020).

Chapitre V

Résultats et discussions



CHAPITRE V. RESULTATS ET DISCUSSIONS

Notre travail de master a pour objectif primordial d'acquérir des compétences en simulation informatique, notamment le docking moléculaire par le logiciel Surflex-dock, afin de participer à la découverte *in silico* de nouveaux inhibiteurs et qui peuvent interagir avec une cible enzymatique qui est la 1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate isoméro-réductase (DXR) cible thérapeutique prometteuse pour les infections bactériennes. C'est dans ce contexte que nous avons divisé cette étude en deux parties :

- La première partie traite la fiabilité du programme de docking moléculaire utilisé dans cette étude. La performance de ce programme est jugée au moyen de deux critères :
 - La précision du positionnement des composées par le test RMSD ou écart quadratique moyenne ;
 - Analyse visuelle (la superposition des géométries des ligands)
- Une deuxième partie expose l'étude des interactions intervenant dans l'inhibition de la DXR par diverses molécules et de proposer de nouveaux composés pouvant inhiber plus fortement notre cible enzymatique.

I. Tests de fiabilité du programme de docking Surflex-dock

I.1. La précision du positionnement des composées (RMSD)

L'efficacité d'un programme à prédire le positionnement exact d'un ligand dans le site actif d'une cible enzymatique est évalué par la déviation quadratique moyenne ou RMSD entre le ligand Co-cristallisé (déterminé expérimentalement) et la molécule dockée par le logiciel Surflex-dock. Une prédiction d'un mode de liaison est considérée réussie si le RMSD est au-dessous d'une certaine valeur (généralement une résolution inférieure ou égale à 2,0 Å) (Boucherit et al, 2014). Cette évaluation par le test RMSD a été réalisée sur 168 complexes protéine-ligand tirés de façon aléatoire de la PDB. Ces complexes ont été téléchargés au format .pdb de manière arbitraire, et après nous avons converti ces derniers au format .mol2 par le programme Open Babel. Les résultats de calculs de test RMSD sont présents dans le tableau V.1 ci-dessous :

Tableau V.1. Les résultats des calculs des 168 complexes protéine-ligand utilisés pour tester la fiabilité de programme Surflex-dock.

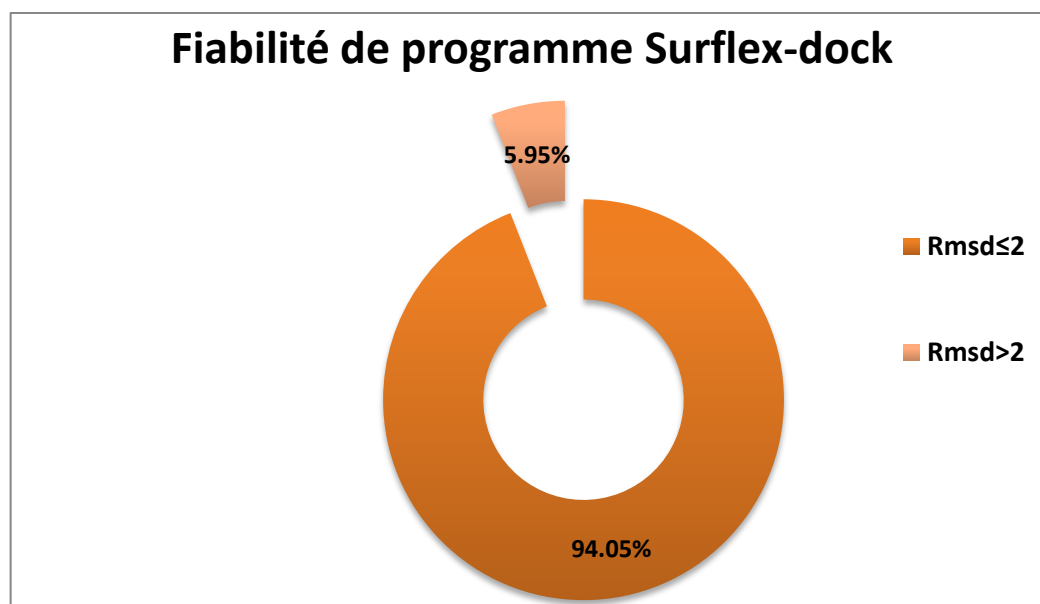
Code de complexe protéine-ligand	Ligand	RMSD (Å)	Code de complexe protéine-ligand	Ligand	RMSD (Å)
1q0h	FOM	1,15	1r5g	AO1	1,51
1q0l	FOM	0,10	1r58	AO5	0,63
1t1r	IMB	0,60	1r5h	AO2	0,81
1t1s	CBQ	0,95	2gg8	U15	1,81
2egh	FOM	1,99	2gg9	U16	1,70
2jcv	FOM	1,13	1qxx	M1C	0,88
2jcx	FOM	1,95	1qxy	M2C	1,02
2y1d	34F	0,09	1qxz	M3C	0,89
2y1f	34F	1,79	1xnz	FCD	0,08
2y1g	FM5	0,57	1yvm	TMG	0,05
3a06	FOM	1,15	2bb7	QMS	0,92
3wqq	IB3	1,25	2evc	FC3	0,06
3wqr	LSX	2,10	2evm	FC2	0,06
4aic	FOM	2,07	2gg0	U11	1,63
4kp7	1UQ	1,76	2gg2	U12	0,26
4oof	FOM	2,26	2gg3	U13	0,44
4y6p	R77	0,90	2gg5	U19	0,16
1onp	FOM	1,75	2gg7	U14	1,21
1g2a	BB2	1,58	2ggb	U17	1,52
1g27	BB1	1,56	2q93	B21	0,10
1ix1	BB2	1,78	2gu6	NLP	0,09
1q1y	BB2	1,48	2p98	YE7	0,89
1rl4	BL5	1,43	2p99	YE6	0,04
1s17	GNR	0,71	2p9a	YE6	0,16
2ai7	SB7	0,88	3anl	YE	0,16
2ai8	SB7	0,35	3anm	SYC	1,06
2aia	SB8	0,22	3zhx	SYD	0,38
2ew5	Y12	2,08	3zhy	FM6	1,82

2ew6	Y13	0,88	2egh	FM6	0,37
2jff	LK2	1,08	3zi0	FOM	1,99
2jfh	LK1	1,03	4y67	FM8	0,48
2okl	BB2	1,52	4a03	RC5	0,86
2os3	BB2	1,53	3r0i	F98	1,19
2uu0	LK3	1,49	4y6s	C0K	2,26
2uup	LK4	0,89	5jo0	48s	0,77
2vtd	LKM	1,13	5jnl	L56	0,70
2vte	LK4	1,29	5jmw	L54	0,69
3e3u	NVC	1,59	5jmp	L50	1,40
3g5k	BB2	1,63	5jc1	LC7	1,65
3m6r	BB2	0,94	2xyh	6JB	1,88
3n6r	BTI	2,94	3d27	SFG	1,48
3pbb	PBD	1,25	7jib	SAH	1,51
3si2	PBD	1,14	7n7u	SAM	0,63
3uwb	BB2	1,23	3nx6	OMI	1,40
4gs8	MGJ	0	2xyq	SAH	0,41
4je7	BB2	1,39	6wrz	SAH	1,18
4pf9	2Q6	0,80	8E7c	MGP	1,34
4pfc	2QX	1,14	6w61	V2M	1,28
4zgm	32M	1,18	6xqm	SAM	0,65
5jf1	BB2	1,52	5sa8	SAM	1,71
6jf3	BB2	1,53	3tit	JOV	1,93
6ow2	NB4	0,89	7qil	J81	1,63
6zis	3N6	1,49	1c21	UVC	1,71
7krw	ATP	0,32	5yoi	MET	0,83
1jbw	ACQ	1,48	8hq0	MET	0,77
2afw	AHN	1,30	5ypd	MET	0,84
4k80	1PW	1,14	1c27	MET	0,41
6g54	6H3	1,78	2q96	A18	1,18
2ypu	I41	1,26	2q94	A04	1,68
7bvb	UD1	1,28	4hxx	1AY	2,17
1jbv	ACP	0,15	2q95	A05	1,93

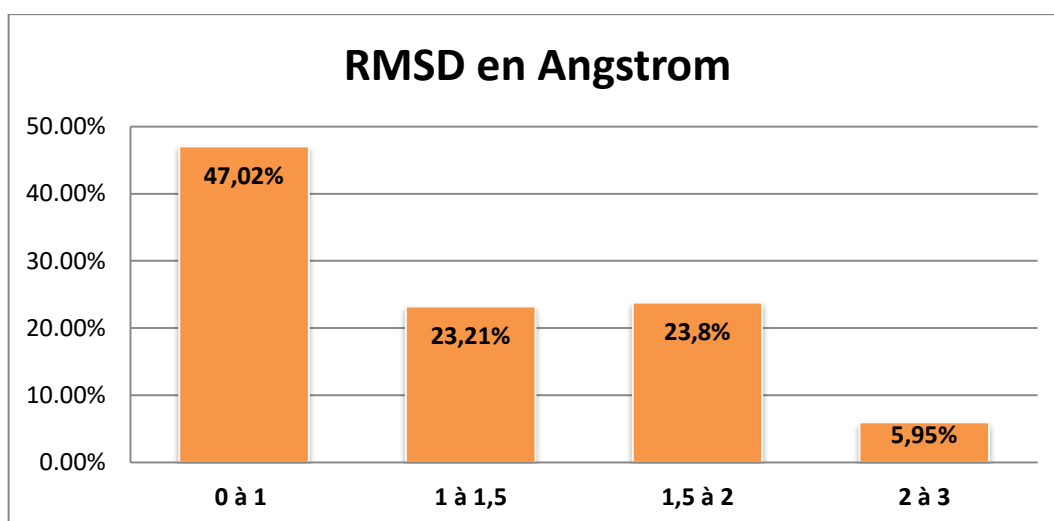
7siq	GDP	1,85	5lyw	7BH	1,42
4fbe	PBD	1,09	5lyx	7BF	1,30
6zho	QLQ	1,94	4u1b	Q08	0,90
4nxo	2H7	1,76	4u6c	Q06	0,93
4cvm	ANP	0,18	4u6w	Q08	0,30
2xpc	051	1,80	4u6z	Q07	0,71
7x17	868	1,66	4u71	Q03	0,39
1r50	SIL	1,76	2nq7	HM5	0,50
7x0f	PNS	2,25	2adu	R20	0 ,01
1r5n	GDP	1,09	7a12	QVK	1,49
3mw0	BHR	0,66	7a14	QVB	0,98
4dg9	DG9	2,09	7a16	BZE	0,89
4mhz	PBD	1,55	4fli	Y16	1,55
4f9u	PBD	0,70	6qeh	HZQ	0,05
5t3d	75C	1,15	3b3s	LEU	0,18
6ln2	97Y	0,42	3b3w	LEU	0,38
5yh2	ATP	1,27	3b7i	PLU	0,45
7en2	PNS	1,33	1f2p	PHE	0 ,14
8ax6	OP9	1,94	2q92	B23	1,86
7cm0	G5R	0,98	3iu8	T03	1,24
6vtj	PNS	0,47	3iu9	T07	0,16
7sh0	GIY	2,28	2evo	CT0	0,81
5jaz	LC5	1,12	5jbi	6J8	0,77

Les graphes ci-dessous représentent le pourcentage (%) des résultats de 168 complexes de test RMSD pour le programme Surflex-dock.

Le graphe V.1 montre les calculs obtenus lors l'évaluation de Surflex-dock pour sa capacité d'imaginer le mode d'interaction d'un ligand dans le site actif de l'enzyme. Les résultats sont donnés en pourcent (%), à deux intervalles de RMSD représentés par la couleur orange.



Graphe V.1. Résultats en % du test RMSD à deux intervalles.



Graphe V.2. Résultats en % obtenu par Surflex-dock à des différents intervalles de RMSD.

Les résultats de graphe V.1 montre que le logiciel Surflex-dock est un programme de docking moléculaire performant. Effectivement, 168 complexes ont une valeur de RMSD inférieur ou égales à 2 Å, ce qui donne un pourcentage de 94,05%. Et que seulement 10 complexes ont une valeur de RMSD supérieurs à 2 Å, ce qui donne un pourcentage de 5,95%.

La meilleure prédiction du positionnement du ligand de complexe cristallographique et cel de ligand amarré par Surflex-dock est représentée par un RMSD égale à 0,10 Å. Par contre le mauvais RMSD est représenté par une valeur de 2,94 Å. De plus, la majorité des résultats positifs se situe dans l'intervalle [0-1] avec un pourcentage égale à 47,02% (voir graphe V.2).

Notre résultat est en accord avec les résultats obtenus par Chikhi A, (2007) ou le programme Surflex-dock avec deux autres logiciels (FlexX et Anguslab) ont été examinés avec l'utilisation de 126 complexes protéine-ligand, il a montré que 88.4% des valeurs de RMSD calculé par le Surflex-dock sont inférieures ou égales à 2 Å (Chikhi, 2007). De plus, nos résultats sont en accord avec les travaux obtenus par Boucherit et *al.* (2014), où la fiabilité de programme Surflex-dock et le logiciel GOLD a été étudiée (étude comparative entre la performance de deux logiciels). GOLD reproduit bien les données expérimentales, et à un degré moindre Surflex-dock. 79.16% des valeurs de RMSD sont inférieures ou égales à 2 Å pour le premier et 66 % pour le deuxième (Boucherit et *al.*, 2014).

I.2. Analyse visuelle

Suite au test RMSD, l'analyse visuelle par Ms-Viewerlite 4.2 est aussi une étape essentielle pour confirmer la performance du programme Surflex-dock. Elle permet de déterminer si un ligand simulé par Surflex-dock se superpose correctement avec le ligand Co-cristallisé.

En effet, l'analyse visuelle par Surflex-dock est réalisée sur 35 complexes DXR-inhibiteur disponibles au niveau de la PDB afin de nous assurer que le programme Surflex-dock peut être utilisé sans trop de risque d'erreurs dans notre travail sur la DXR. Les codes de notre enzyme, les inhibiteurs testés ainsi que les valeurs de RMSD sont présentés dans le tableau III.2 ci-dessous.

Tableau V.2. Valeurs de RMSD 35 complexes DXR inhibiteur étudiés.

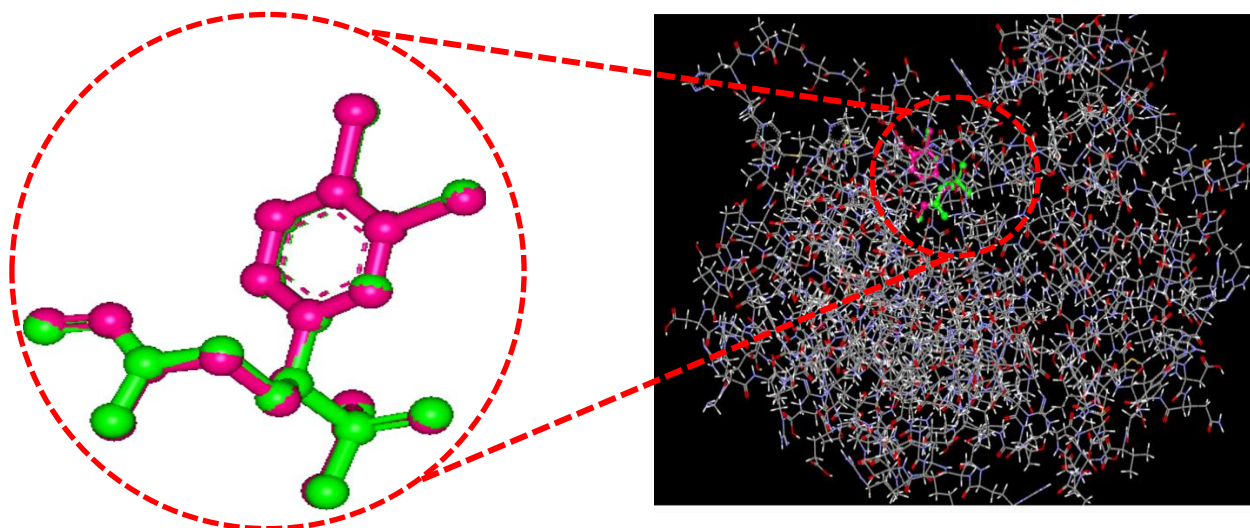
Code de l'enzyme	Code de l'inhibiteur	RMSD (Å)
1q0h	FOM	1,15
1q0l	FOM	0,10
1t1r	IMB	0,60
1t1s	CBQ	0,95
2egh	FOM	1,99
2jcv	FOM	1,13
2jcx	FOM	1,95
2y1d	34F	0,09
2y1f	34F	1,79
2y1g	FM5	0,57
3a06	FOM	1,15
3wqq	IB3	1,25
3wqr	LSX	2,10
4aic	FOM	2,07
4kp7	1UQ	1,76

4oof	FOM	2,26
4y6p	R77	5,47
1onp	FOM	1,75
3anl	SYC	1,06
3anm	SYD	0,38
3zhx	FM6	1,82
3zhy	FM6	0,37
2egh	FOM	1,99
3zi0	FM8	0,48
4y67	RC5	0,86
4a03	F98	1,19
3r0i	C0k	2,26
4y6s	48s	0,77
5jo0	L56	0,70
5jnl	L54	0,69
5jmw	L50	1,40
5jmp	LC7	1,65
5jc1	6JB	1,88
5jbi	6J8	0,77
5jaz	Lc5	1,12

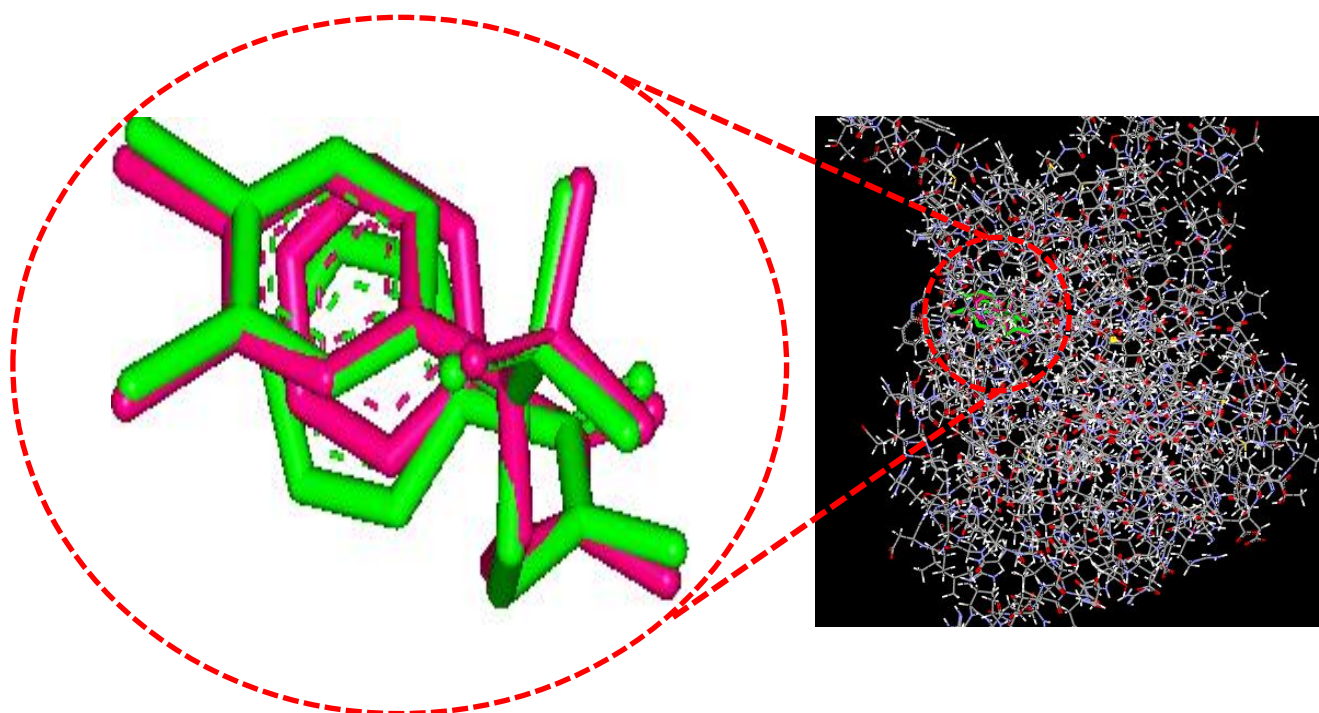
La comparaison de la conformation expérimentale qu'on retrouve dans la PDB des trois complexes (colorées en vert) : le2Y1D (le meilleur), et le3zhy (l'intermédiaire), 4y6p (le mauvais) avec les conformations calculées par le programme Surflex-dock (colorées en rose), est présentée dans le tableau V.3 et les figures V.1, .2 et .3 suivants :

Tableau V.3. Valeurs de RMSD des trois complexes de la DXR choisis.

Code de complexe	Code du ligand	RMSD (Å)	Nombre de liaison retable
2Y1D	34F	0,09	5
3zhy	FM6	0,37	6
4y6p	R77	5,47	9



FigureV.1. Superposition du ligand **34F** du complexe **2Y1D** simulé par Surflex-dock (coloré en rose) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en vert).



FigureV.2. Superposition du ligand **FM6** du complexe **3zhy** simulé par Surflex-dock (couleur rose) vis-à-vis de la conformation expérimentale (couleur vert).

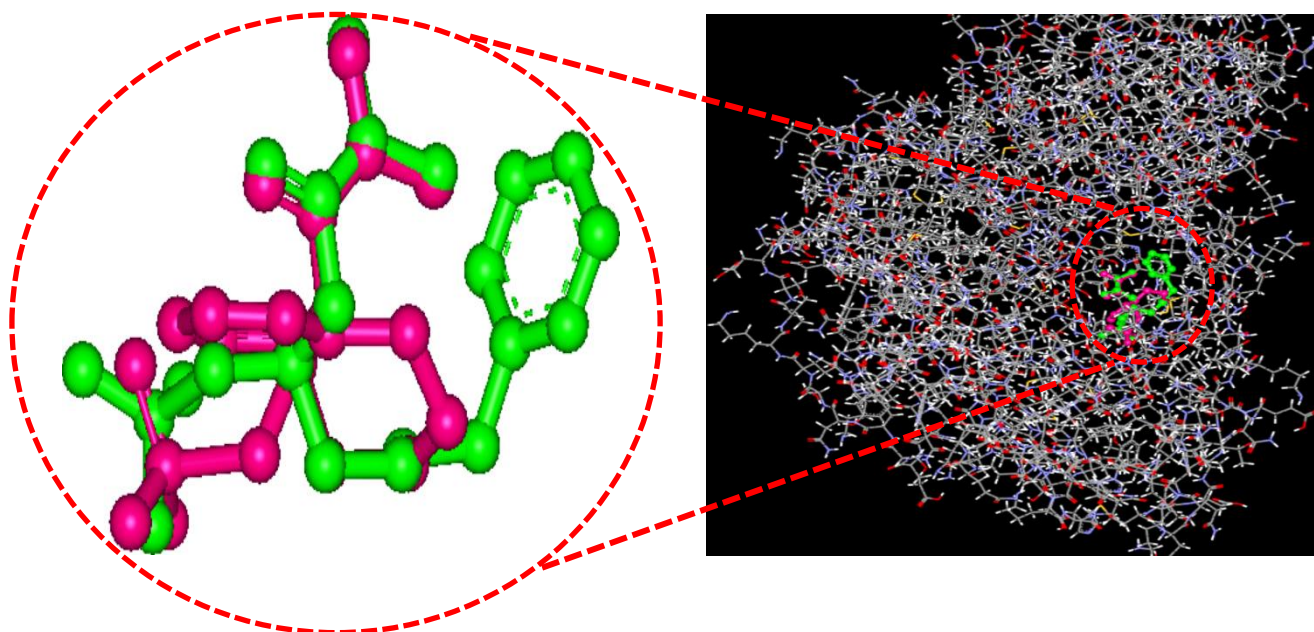


Figure V.3. Superposition du ligand **R77** du complexe **4y6p** simulé par Surflex-dock (coloré en rose) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en vert).

D'après les résultats de docking moléculaire, on obtient :

- Dans le cas de ligand 34F, avec un RMSD de **0,09 Å** ; la superposition est parfaite. Elle présente une conformation spatiale superposable à celle déterminée expérimentalement.
- Dans le cas de ligand 3zhy, avec un RMSD de **0,37 Å** ; la superposition est moindre que dans le premier cas.
- Dans le cas de ligand R77, avec un RMSD de **5,47 Å** ; la superposition des deux inhibiteurs est mauvaise c'est-à-dire le ligand docké occupe une mauvaise position spatiale par rapport au ligand co-cristallisé.

Dans le but d'expliquer ces résultats, nous avons ajouté un facteur qui peut être influent sur les valeurs de RMSD. Ce facteur est le nombre de liaisons rotatives (tableau V.3). Le nombre élevé des liaisons rotatives (liaisons simples ou liaisons sigma pouvant tourner librement) présentes dans le ligand codé par R77 est probablement la raison pour laquelle il donne un mauvais RMSD, car il génère un très grand nombre de conformations (voir figure V.4).

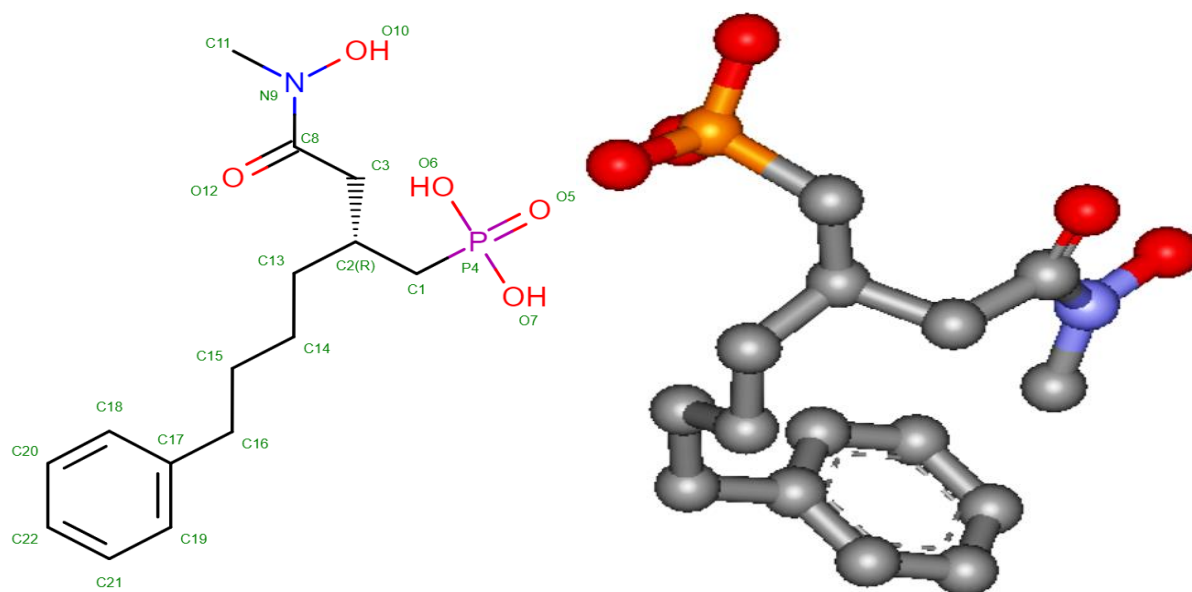


Figure V.4. Structure 2D et 3D du ligand R77.

I.3. Conclusion

D'après les différents tests utilisés dans cette étude pour évaluer la performance de programme Surflex-dock, nous permet de conclure que Surflex-dock est un logiciel hautement performant et peut être utilisé pour prédire *in silico* et simuler le mode d'interaction de différents inhibiteurs testés avec notre cible enzymatique d'une part, et l'évaluation de l'affinité de complexes DXR-inhibiteur obtenus d'autre part.

II. Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de la DXR par diverses molécules provenant de la PDB

Dans le but de développer et de trouver des nouveaux inhibiteurs plus efficaces de l'enzyme DXR, nous avons utilisé comme structure de départ les inhibiteurs qu'on retrouve au niveau de la PDB. Nous avons appliqué la technique du docking moléculaire par le logiciel Surflex-dock afin de modéliser le mode d'interaction de ces inhibiteurs avec notre cible protéique.

II.1.Choix du complexe

La structure de l'enzyme DXR, objet de notre étude, provient de la PDB qui représente la principale source des complexe protéine-ligand sous forme de complexes cristallographiques 3D. Nous nous sommes choisis le code 4A03 (Bjorkelid et *al*, 2012) qui possède une bonne résolution (1,65 Å) qui fut notre premier critère de choix. L'autre critère

pareillement de grande importance est la présence d'un inhibiteur dans le site actif de notre cible. Les caractéristiques de cette enzyme sont regroupées dans le tableau V.4 ci-dessous.

Tableau V.4. Les caractéristiques de l'enzyme DXR

Enzyme	1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate isoméro-réductase (DXR)
Code ID	4A03
Classification	Oxydoréductase
Organisme	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Inhibiteur	F98
Nombre de chaine	A.B
Nombre d'AA par chaine	398
Résolution (Å)	1,65
Facteur R	0.216
Libéré	2011-09-07

II.2. Les acides aminés de site actif de l'enzyme DXR

Un site actif, ou site catalytique, distingue la région d'une enzyme pouvant se lier spécifiquement à un substrat et au sein de laquelle les réactions chimiques catalysées s'opèrent. Au sein du centre actif, certains acides aminés interviennent dans la liaison du substrat à l'enzyme et sont appelés résidus de liaison, tandis que ceux qui participent activement à la transformation chimique du substrat sont appelés résidus catalytiques (Anonyme, 2012).

Les molécules ou ligand se fixent dans le site actif de l'enzyme en formant des interactions avec la surface de la cavité du site actif. Ces interactions permettent en particulier d'orienter le substrat pour favoriser la réaction. Donc, l'identification du site actif est cruciale pour pouvoir réaliser un docking moléculaire.

A partir du programme *Biovia Discovery Studio*, le site actif de l'enzyme DXR est constitué des acides aminés suivants : Lys128, Val150, Asp151, Ser152, Glu153, His154, Thr175, Ala176, Ser177, Gly178, Gly179, Pro180, His200, Pro201, Thr202, Trp203, Met205, Asn209, Asn2012, Ser213, Ala214, Leu216, Asn218, Lys219, Glu222, His242, Ser245, Met267 (figure V.5).

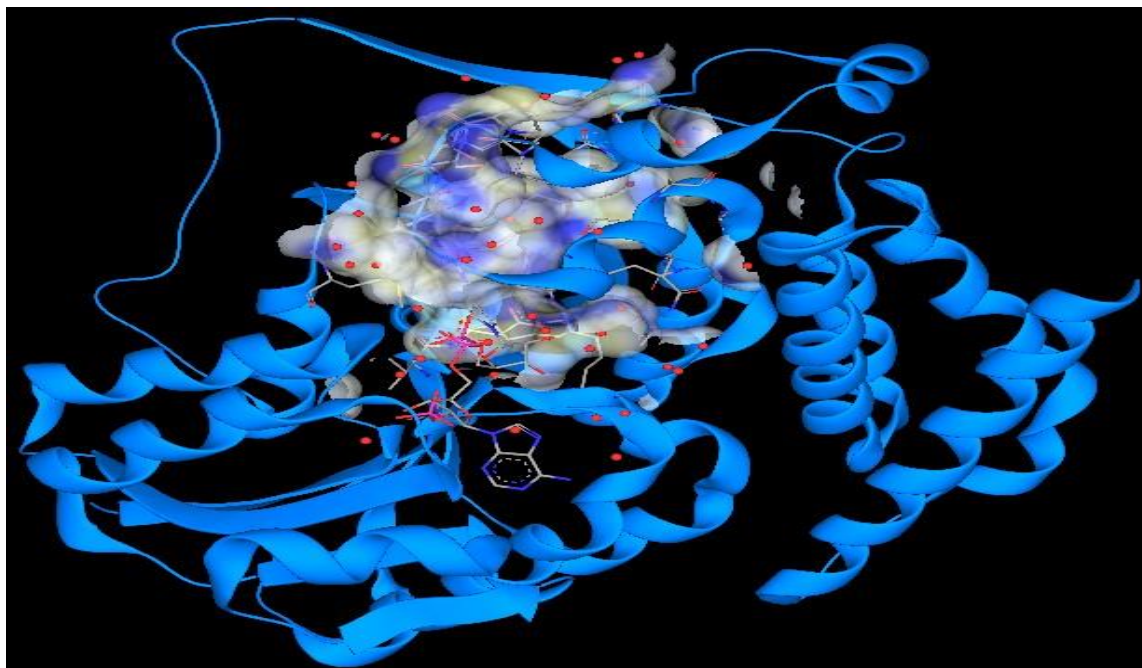


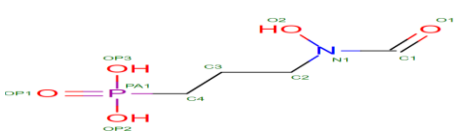
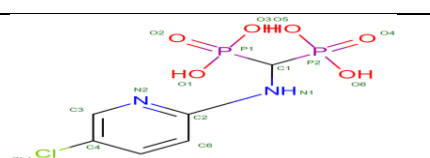
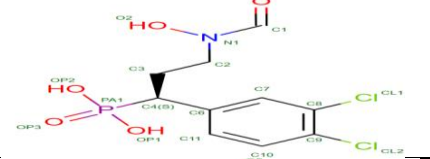
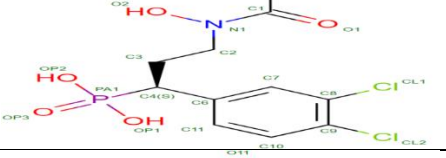
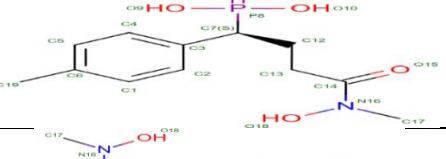
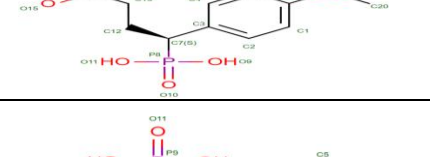
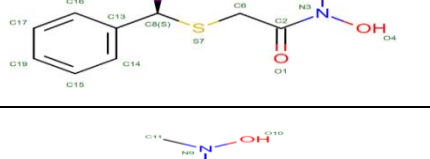
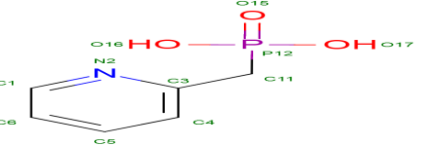
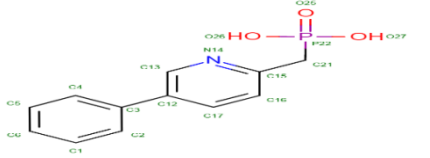
Figure V.5. La structure 3D de l'enzyme DXR et son site actif par *Biovia Discovery Visualizer*

II.3.Docking moléculaire des inhibiteurs provenant de la PDB

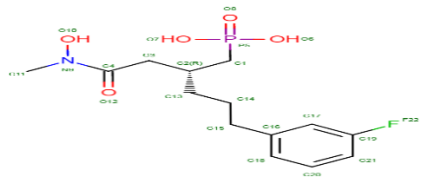
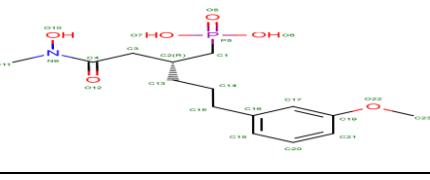
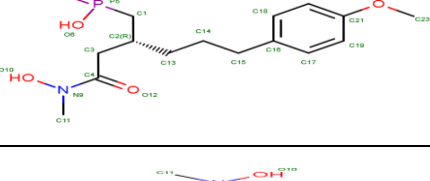
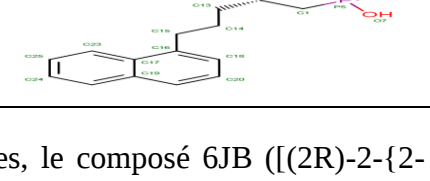
Le docking de 25 molécules téléchargées à partir de la banque PDB avec le format .mol2 portant des codes différents est effectué sur la structure cristallographique 4A03. Les structures, les noms ainsi que les résultats du docking par Surflex-dock de ces inhibiteurs sont représentés dans le tableau V.5 suivant.

Tableau V.5. Les scores des 25 inhibiteurs obtenus suite au docking moléculaire avec Surflex-dock

Code de l'inhibiteur	Nom chimique de l'inhibiteur	Affinité (M^{-1})	Structure
F98	3[ethanoyl (hydroxy) amino]propylphosphonic acid	1,19	
FOM	3-[Formyl(Hydroxy) amino] propyl phosphonic acid	3,55	

IMB	[(Isoquinolin-1-Ylamino)- phosphono -Methyl]- phosphonic acid	2,23	
CBQ	[(5-Chloro-Pyridin-2-Ylamino)- phosphono - Methyl]- phosphonic acid	1,94	
34F	(1S)-1-(3,4-Dichloro phenyl)- 3-[Formyl(Hydroxy) amino] Propyl} phosphonic acid	5.07	
FM5	3-(N-HydroxyAcetamido)-1-(3,4- Dichloro phenyl) Propyl phosphonic acid	2,28	
IB3	[(1S)-4-[hydroxy (methyl) amino]-1-(4-methylphenyl)-4- oxobutyl] phosphonic acid	5,45	
LSX	[(1S)-4-[hydroxy (methyl) amino]-1-(4-methoxyphenyl)- 4-oxobutyl] phosphonic acid	4,04	
1UQ	[(S)-({2-[hydroxy (methyl) amino]-2-oxoethyl} sulfanyl) (phenyl) methyl] phosphonic acid	3,27	
R77	[(2R)-2-{2-[hydroxy (methyl) amino]-2-oxoethyl}-6- phenylhexyl] phosphonic acid	3,37	
SYC	(pyridin-2-ylmethyl) phosphonic acid	2,01	
SYD	[(5-phenylpyridin-2-yl) methyl] phosphonic acid	3,19	

FM6	[(1S)-1-(3,4-dichlorophenyl)-3-[oxidanyl (phenylcarbonyl) amino]propyl] phosphonic acid	1,89	
FOM	3-[Formyl(Hydroxy) amino]propylphosphonic acid	3,43	
FM8	[(1S)-1-(3,4-dichlorophenyl)-3-{hydroxy[2-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)benzoyl]amino}propyl]phosphonic acid	4,32	
RC5	[(2R)-2-{2-[hydroxy(methyl)amino]-2-oxoethyl}-5-phenylpentyl]phosphonic acid	3,70	
C0K	{(1S)-1-(3,4-difluorophenyl)-4-[hydroxy(methyl)amino]-4-oxobutyl}phosphonic acid	3,52	
48S	[(2R)-4-[hydroxy(methyl)amino]-2-(4-methylphenyl)-4-oxobutyl]phosphonic acid	3,98	
L56	[(2R)-2-{2-[hydroxy(methyl)amino]-2-oxoethyl}-5-(3-methylphenyl)pentyl]phosphonic acid	4,05	
L54	{(2R)-2-{2-[hydroxy(methyl)amino]-2-oxoethyl}-5-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}phosphonic acid	3,68	
L50	[(2R)-2-{2-[hydroxy(methyl)amino]-2-oxoethyl}-5-(4-methylphenyl)pentyl]phosphonic acid	4,40	

LC7	[(2R)-5-(3-fluorophenyl)-2-{2-[hydroxy(methyl)amino]-2-oxoethyl}pentyl]phosphonic acid	4,68	
6JB	[(2R)-2-{2-[hydroxy (methyl) amino]-2-oxoethyl}-5-(3-methoxyphenyl) pentyl] phosphonic acid	5,50	
6J8	[(2R)-2-{2-[hydroxy (methyl) amino]-2-oxoethyl}-5-(4-methoxyphenyl) pentyl] phosphonic acid	3,85	
LC5	[(2R)-2-{2-[hydroxy (methyl) amino]-2-oxoethyl}-5-(naphthalen-1-yl) pentyl] phosphonic acid	4,05	

Il ressort de ce tableau que parmi les structures testées, le composé 6JB ([(2R)-2-{2-[hydroxy (methyl) amino]-2-oxoethyl}-5-(3-methoxyphenyl) pentyl] phosphonic acid) avec une affinité égale $5,50 \text{ M}^{-1}$ se présente comme l'inhibiteur le plus puissant de la DXR.

II.4. Etude des interactions 4A03-inhibiteur 6JB

II.4.1. Interaction du complexe 4A03-6JB

Dans la perspective de proposer de nouveaux inhibiteurs de la DXR, il nous a semblé judicieux d'étudier, en premier lieu, le mécanisme d'inhibition mis en place par le meilleur inhibiteur de notre cible enzymatique. Il s'agit de la molécule 6JB issue de la PDB dont l'affinité égale à $5,50 \text{ M}^{-1}$. La visualisation des interactions de ce composé au sein du site actif de la DXR a été réalisée à l'aide de programme *Biovia Discovery Visualizer* pour visualiser et analyser le nombre et le type de liaison formant ce complexe (Figure V. 6).

Les liaisons prédites par le docking moléculaire sont, en général, électrostatiques. Parmi ces interactions électrostatiques, les liaisons hydrogènes sont très répandues et importantes en raison de leur force qui est de l'ordre de 12 à 30 kJ/mol. Ainsi que les interactions

hydrophobes. De ce fait, l'avantage majeur de programme *Biovia Discovery Visualizer* est de donner des informations détaillées sur les liaisons établies. En effet :

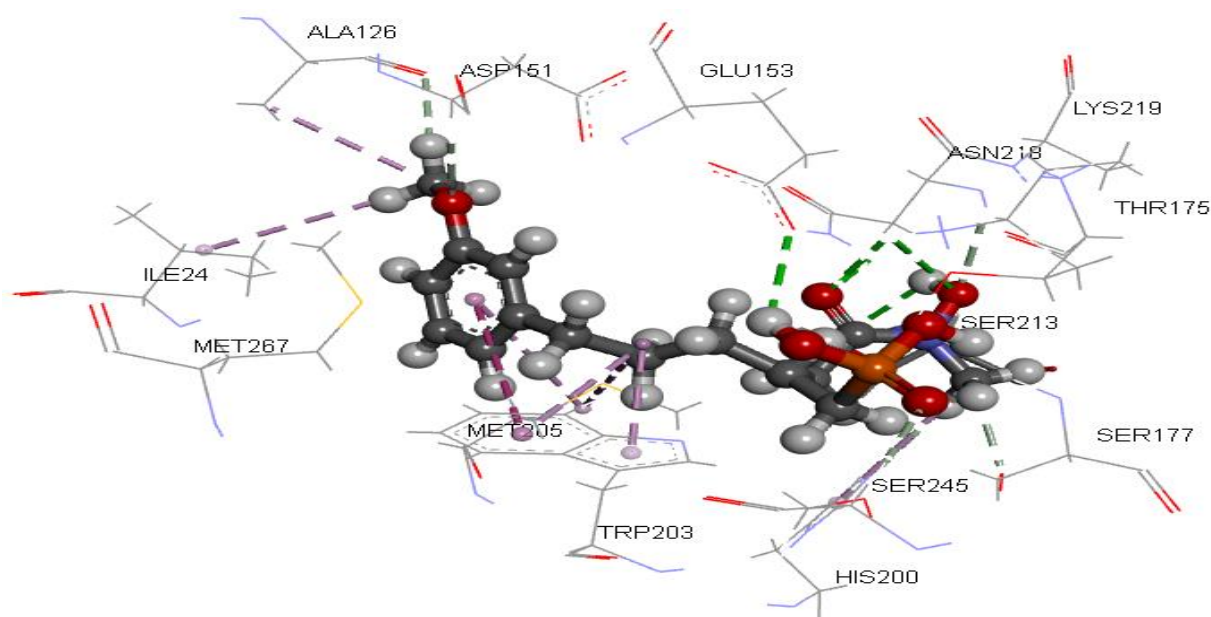


Figure V.6. Analyse visuelle par *Biovia Discovery Visualizer* du mode d'interaction de l'inhibiteur 6JB avec le site actif de la 4A03.

II.4.2. Analyse visuelle des interactions 4A03-6JB

La simulation des interactions du complexe 4A03-6JIB par le logiciel Surflex-dock donne une affinité égale à $5,50 \text{ M}^{-1}$ qui se manifeste par la mise en place de 12 liaisons hydrogène et des interactions de type hydrophobe dans le site actif de l'enzyme DXR. Les liaisons de type hydrogène observées sont résumées dans le tableau V. 6 et représentées en tirets verts discontinus dans la figure V. 7 ci-dessous :

Tableau V. 6. Liaisons hydrogène établies par le composé 6JB avec le site actif de la DXR.

Liaison H	Atomes du ligand	Atomes et résidus du site actif	Distance (Å)
1	O	H-C _A Ser245	2,39
2	O-H ₆	OE ₂ Glu153	2,59
3	C-H ₉	OG Ser177	2,4
4	O	H-C Ala176	2,63
5	O	H-C ₁ Asp151	2,56
6	C-H ₂₂	O Ala126	2,68
7	C-H ₈	NE ₂ His200	2,31
8	O-H ₁₉	OG Ser113	2,90

9	O	H-N _{D2} Asn218	2,06
10	O	H-N _Z Lys219	2,49
11	O	H-N _Z Lys219	3,06
12	O	H-C _E Lys219	2,40

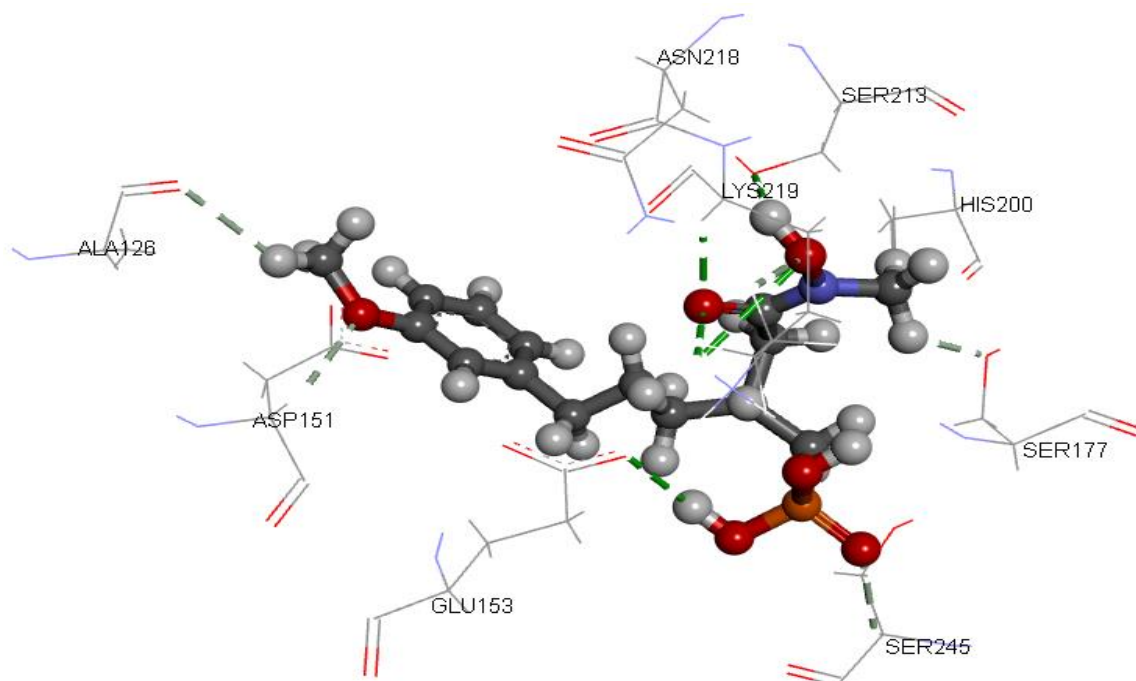


Figure V. 7. Représentation des liaisons hydrogène formées par l'inhibiteur 6JB dans le site actif de la 4A03.

De plus, L'inhibiteur 6JB est stabilisé au sein de site actif de la DXR par plusieurs interactions hydrophobiques. Elles sont réalisées avec les acides aminés : His200, ILE24, Met205, Trp 203, Ala126. La figure Suivante représente ces interactions.

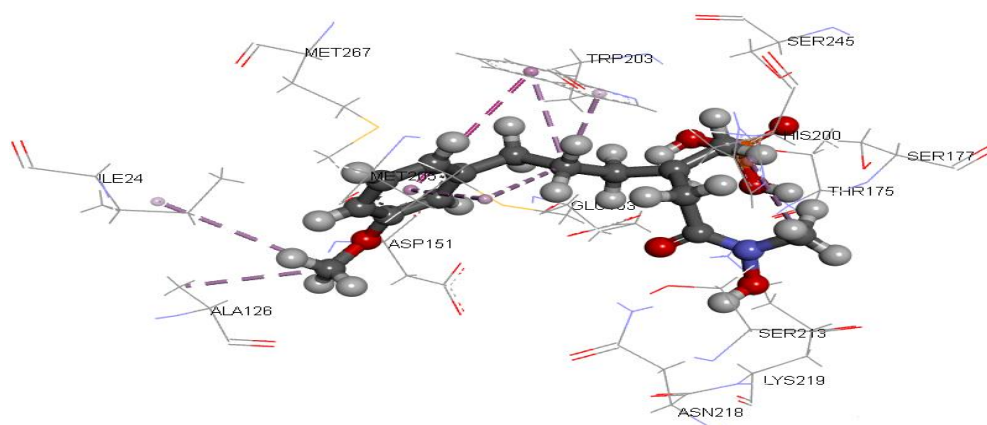


Figure V. 8. Représentation des interactions hydrophobiques formées avec l'inhibiteur 6JB dans le site actif de la DXR.

III. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la DXR

Le meilleur inhibiteur (6JB) issu de la recherche précédente, est choisi comme modèle de référence dans le but d'identifier à partir de la chimiothèque PubChem de nouveaux inhibiteurs de la cible enzymatique DXR bactérienne.

III.1. Inhibition de la DXR par les similaires de l'inhibiteur 6JB

Dans le but de découvrir de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la DXR, nous avons réalisés un docking moléculaire par le logiciel Surflex-dock d'une collection de 236 similaires présentant une homologie structurale de 84 % à notre ligand de référence. Ces composés chimiques sont téléchargés à partir de la banque de donnée PubChem. Nous avons jugé intéressant de tester ces inhibiteurs, de comparer leurs scores de docking (Affinité) par rapport aux inhibiteurs étudiés précédemment et de proposer le meilleur inhibiteur de notre cible enzymatique. Les résultats de docking sont présentés dans le tableau V.7 et le graphe V.3 suivant.

Tableau V.7. Résultats de docking avec le logiciel Surflex-dock dans le site actif de la 4A03.

Code	Affinité (M ⁻¹)	Code	Affinité	Code	Affinité (M ⁻¹)
CID_118735474	5,12	CID_71859048	3.97	CID_584896	4,25
CID_14406204	6,78	CID_68072870	6.19	CID_10058492	4,72
CID_44185382	7,46	CID_66780806	-0.44	CID_10399271	5,32
CID_155547948	6,32	CID_67478823	1.24	CID_49019433	6,42
CID_155529506	7,81	CID_70131061	4.00	CID_11108637	3,79
CID_118717071	3,59	CID_71250291	3.41	CID_14025499	1,32
CID_118716372	5,64	CID_71250292	-0.11	CID_14555675	8,73
CID_44409791	6,10	CID_68253283	2,40	CID_14918162	4,32
CID_118716373	6,44	CID_60701481	7.18	CID_14918165	7,52
CID_44409700	6,86	CID_75417101	5.61	CID_14918167	6,44
CID_44386255	4.62	CID_58566371	6.12	CID_14918168	7,53
CID_53318122	5.67	CID_56271498	3.86	CID_15029878	3,12
CID_101882777	5.64	CID_88911918	1.32	CID_15238019	3,52
CID_44307289	4.96	CID_58555160	3.41	CID_17820150	1,41
CID_118716371	4.47	CID_154463184	4.21	CID_17820151	6,46
CID_89880683	4.17	CID_139255697	7.22	CID_18378250	7,56
CID_44387191	7.16	CID_140072328	5.72	CID_18378251	7,85
CID_44185316	7.40	CID_153710819	5.61	CID_20351152	5,69
CID_11957979	5.71	CID_144519529	1.23	CID_21938559	6,65
CID_12838396	-0.84	CID_144913497	6.47	CID_22347517	4,09
CID_112511900	5.62	CID_157206729	5.42	CID_22347540	6,89
CID_6458344	5.46	CID_132262407	1.28	CID_22347607	5,73

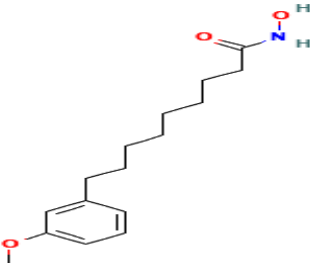
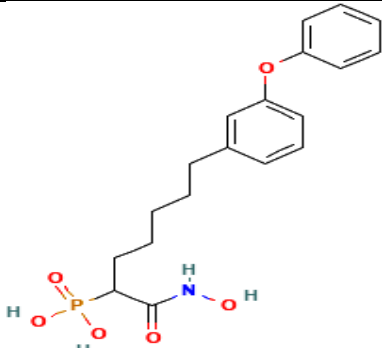
CID_13029662	6.19	CID_132262406	0.23	CID_58555144	-0 ,88
CID_16085491	-1.78	CID_149412204	4.51	CID_58555151	0,23
CID_16085487	-0,81	CID_156368630	5.03	CID_58555152	3,74
CID_123267171	5.26	CID_158972732	3.47	CID_58555154	2,52
CID_123345305	4.86	CID_133961710	4.44	CID_58555155	1,20
CID_118204455	5.30	CID_140551868	4.65	CID_58555158	-0,38
CID_118204451	1.65	CID_140551869	6.20	CID_58555160	3,41
CID_116845120	3.39	CID_135062853	4.29	CID_60270907	7,57
CID_117793750	6.40	CID_145658503	4.42	CID_60712586	5,45
CID_112516228	5.25	CID_144296862	1.20	CID_60717429	4,07
CID_112511733	4.21	CID_135063777	4.75	CID_60717430	5,00
CID_121493977	5.44	CID_156368540	4.98	CID_86913065	5,98
CID_121493976	5.26	CID_134023393	8.05	CID_86915308	5,02
CID_112515641	6.34	CID_133983437	5.52	CID_91935114	4,69
CID_116845032	4.86	CID_134006170	4.85	CID_91935121	5,64
CID_116845168	5.29	CID_134058890	4.04	CID_97015432	3,97
CID_89880682	4.53	CID_134062467	6.25	CID_101746550	4,55
CID_117793504	4.71	CID_127121822	8.04	CID_102072529	4,23
CID_115775740	4.42	CID_144913502	6.04	CID_102419533	1 ,41
CID_89780493	-3.41	CID_53507558	4.26	CID_104103300	6,73
CID_89970220	1.27	CID_53329919	1.49	CID_111972035	3,16
CID_89102052	5.78	CID_44185320	5.38	CID_112458541	6,21
CID_86278548	5.68	CID_55035130	7.91	CID_112459025	4 ,42
CID_82077463	4.09	CID_60644656	4.13	CID_112459209	2,70
CID_89544670	6.49	CID_53234128	2.76	CID_112459823	2,67
CID_71145266	4.79	CID_53565094	5.89	CID_112508297	4,91
CID_86661015	-3.02	CID_60701414	5.44	CID_112508745	3,36
CID_59826778	4.25	CID_60573062	4.80	CID_124385018	4 ,41
CID_71250293	-2	CID_60270907	7.57	CID_125467138	2,15
CID_70639936	3.41	CID_60666145	3.19	CID_125467226	1,95
CID_88453645	-0.72	CID_60701482	6.79	CID_125467244	1,14
CID_58535217	0,61	CID_145859428	5.99	CID_134006170	4,85
CID_58555155	1,20	CID_159970086	2.51	CID_134063274	4,61
CID_58762226	4.42	CID_60644685	5.04	CID_101235414	4,86
CID_46856122	4.42	CID_60584371	4.66	CID_112458537	2,73
CID_58555158	-0.38	CID_60701454	8.64	CID_112458542	5,16
CID_60644822	4.08	CID_145620654	5.20	CID_112459206	3,36
CID_23659099	4,90	CID_44185382	5,68	CID_54140839	4,55
CID_23661506	3,28	CID_44185567	7,44	CID_56949534	-3,32
CID_44185316	7,20	CID_45806711	0,63	CID_56949535	1,01
CID_84104107	5,99	CID_49801563	8,99	CID_57719030	6,33
CID_84104124	-3,16	CID_60573062	4,80	CID_58535217	0,61
CID_84104132	6,67	CID_10797917	4,35	CID_58535224	0,68
CID_84104134	7,42	CID_53234128	4,19	CID_58555143	4,95
CID_84104135	5,31	CID_58535218	-0,44	CID_111970530	3,14
CID_84428055	5,01	CID_53303234	0,30	CID_60717596	6,14
CID_97015433	3,89	CID_53677343	5,08	CID_82115986	4,40
CID_97314076	3,34	CID_53772372	5,95	CID_82128853	4,43

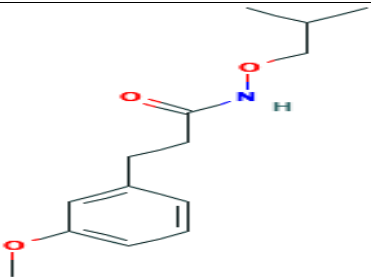
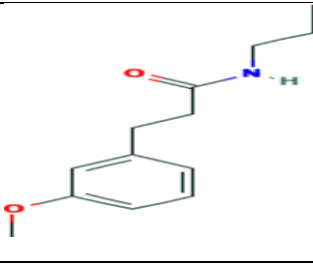
CID_97314077	5,61	CID_101035783	5,96	CID_82725895	7,93
CID_101035782	4,33	CID_109865133	4,84	CID_84103094	5,54
CID_110669352	5,62	CID_113375795	5,56	CID_124523001	5,68
CID_110675714	5,06	CID_116845276	6,64	CID_125467155	-0,11
CID_110749754	5,23	CID_124385015	2,95	CID_125467240	0,95
CID_112511900	4,27	CID_124385016	3,64	CID_144913502	6,04
CID_113304440	8,20	CID_124385017	5,98	CID_134058890	4,04
CID_110297254	6,37	CID_110675715	2,88	CID_101235397	6,47
CID_110297256	5,39	CID_110726737	3,85		

III.2. Molécules sélectionnées comme candidats

Sur les 236 ligands testés (regroupés dans le tableau V.7), les composés portants les codes CID_14555675, CID_113304440, CID_49801563, CID_60701454, ont montrés les scores de docking (affinité) les plus élevés et supérieur à celle de notre ligand de référence. Ils sont considérés comme les meilleurs inhibiteurs de notre cible enzymatique (voir tableau V.8).

Tableau V.8.Données chimiques et structurales des composés sélectionnés comme candidats.

Code de l'inhibiteur	Structure	Nom chimique	DXR de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Affinité (M^{-1})
CID14555675		9(3methoxyphenyl)nonanohydroxamic acid	8,73
CID49801563		[1-(hydroxyamino)-1-oxo-7-(3phenoxyphenyl)heptan-2yl]phosphoric acid	8,99

CID113304440		3-(3-methoxyphenyl)-N (2-methylpropoxy) propanamide	8,20
CID60701454		3-(3-methoxyphenyl)-N-propylpropanamide	8.64

IV. Etude des interactions de quatre similaires sélectionnés

Le docking de ces composés dans le site actif de notre cible DXR donne plusieurs informations intéressantes concernant le positionnement des inhibiteurs à l'intérieur de site actif et les liaisons formées entre ces deux derniers. Nous avons utilisés le programme *Biovia Discovery Visualizer* pour visualiser et analyser le nombre et le type de liaisons former dans le complexe enzyme-inhibiteur.

IV.1. Analyse visuelle 4A03-CID14555675

L'analyse visuelle montre que l'inhibiteur 9(3methoxyphenyl) nonanohydroxamic acid dont le code ID est CID14555675 donne une affinité égale à $8,73 \text{ M}^{-1}$ est bien placé dans le site actif de l'enzyme DXR. Ce composé est stabilisé par la formation de sept ponts hydrogène avec les résidus de Leu104, His200, Ser177, Ser213, Asn218, Lys219. Dans la figure V. 9 et le tableau V. 9 ci-dessous nous avons résumé ces différents ponts.

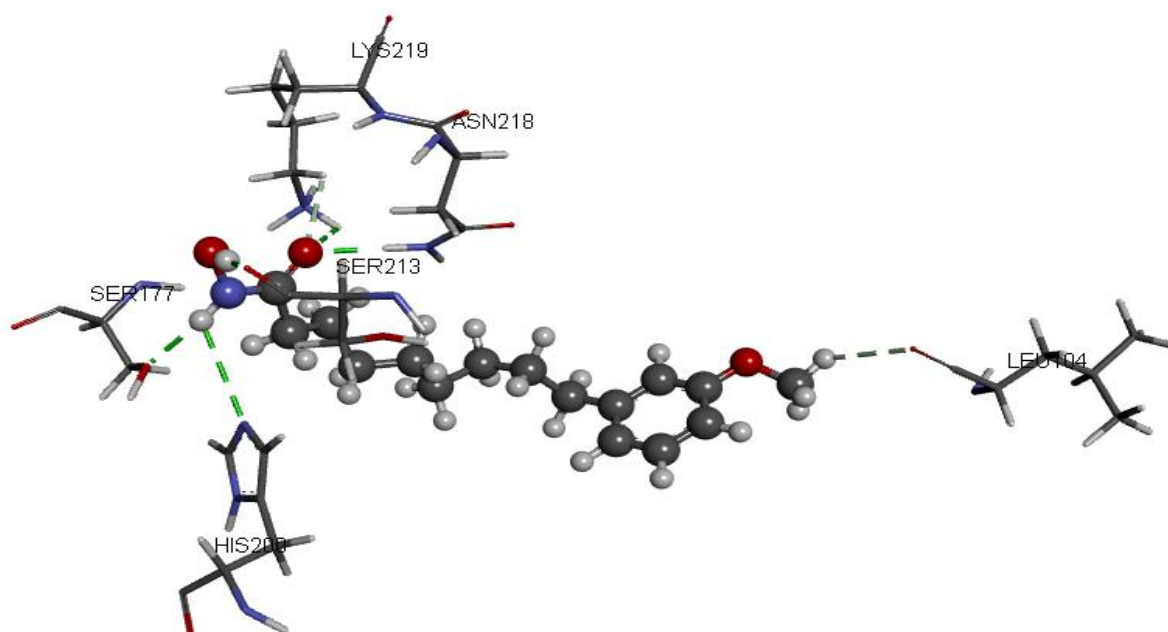


Figure V. 9. Représentation des interactions hydrogènes formées entre le composé CID14555675 et le site actif de la DXR.

Tableau V.9. Les liaisons hydrogène établies par l'inhibiteur CID14555675 avec le site actif de la DXR.

Liaison H	Atomes du ligand	Atomes et résidus du site actif	Distance (Å)
1	O-H	O Leu104	2,86
2	N-H	N _{E2} His200	3,07
3	N-H	O _G Ser177	2,04
4	N-H	O=C Ser213	1,92
5	C=O	H-N _{D2} Asn218	1,99
6	C=O	H-N _Z Lys219	3,01
7	C=O	H-C _E Lys219	2,54

Il est également important de noter que de nombreuses interactions hydrophobes participent à la stabilité du complexe DXR-CID14555675 faisant intervenir les résidus suivants : Ala126, Ala103, Ile24, Met 267, Met205, Trp203. Ces interactions sont représentées dans la figure V. 10 ci-dessous.

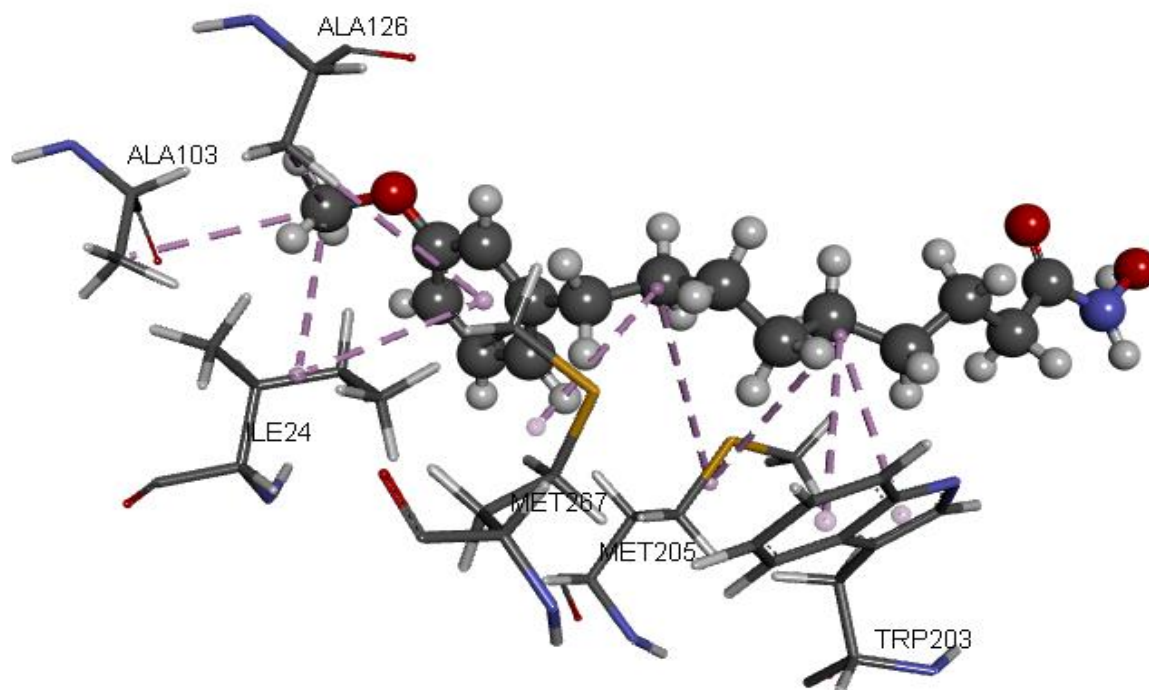


Figure V. 10. Analyse visuelle des liaisons hydrophobes entre le composé CID14555675 et le site actif de la DXR.

IV.2. Analyse visuelle 4A03-CID49801563

À la lumière des résultats obtenus dans le tableau V.6, l'inhibiteur [1-(hydroxyamino)-1oxo7-(3phenoxyphenyl) heptan-2yl] phosphoric acid donne dont le code ID est CID_49801563, donne la meilleure affinité ($8,99 \text{ M}^{-1}$), ainsi qu'une bonne pénétration au niveau du site actif. L'analyse visuelle montre que ce composé est stabilisé par la formation de onze ponts hydrogène avec les acides aminés : Glu153, His200, Trp203, Ser245, Lys219, Ser177. Dans la figure V.11 et le tableau V.10 ci- dessous nous avons résumé ces différentes interactions.

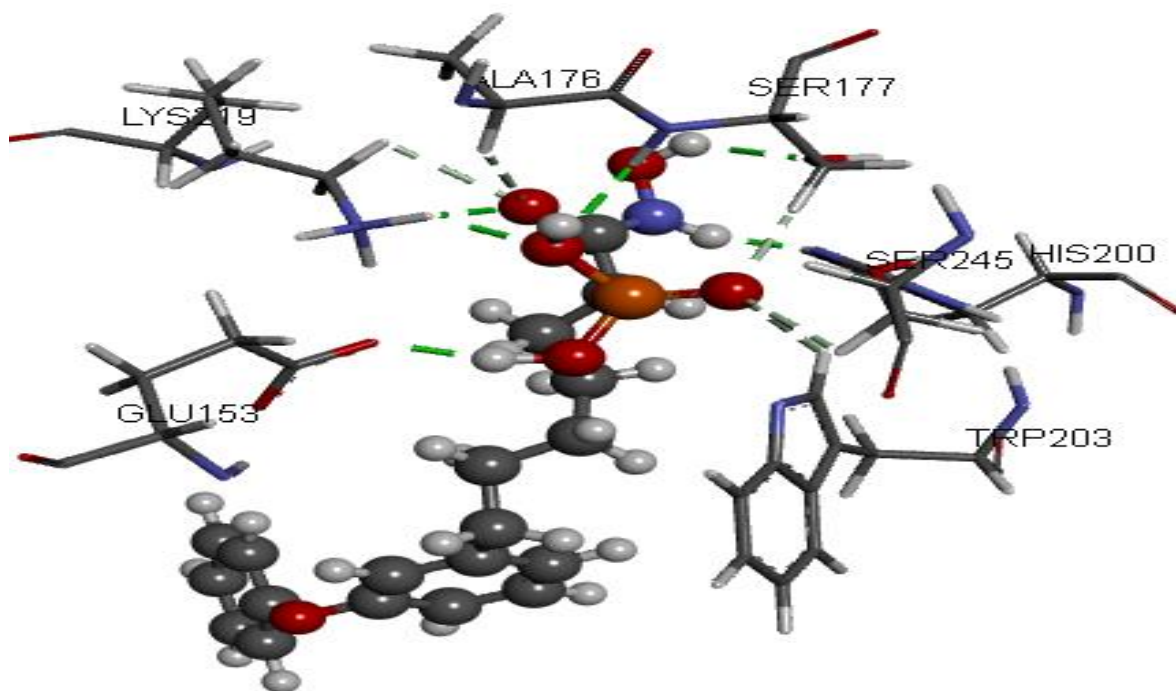


Figure V.11. Représentation des liaisons hydrogène formées entre le composé CID49801563 et le site actif de la DXR

Tableau V. 10. Les liaisons hydrogène établies par composé CID49801563

Liaison H	Atomes du ligand	Atomes et résidus du site Actif	Distance (Å)
1	C-H	O _{E2} Glu153	0,170
2	N-H	N _{E2} His200	1,82
3	P=O	H-C _{D1} Trp203	3,03
4	P=O	H-D _B Ser245	2,65
5	C=O	H-N _Z Lys219	2,14
6	C=O	H-C _E Lys219	2,57
7	P=O	H-N _Z Lys219	1,99
8	O-H	H-O _G Ser177	2,09
9	H-O	H-N Ser177	2,52
10	C=O	H-C _A Ser177	2,49
11	P=O	H-C _B Ser177	2,31

Plusieurs interactions hydrophobiques stabilisent l'inhibiteur CID49801563 dans le site actif de notre cible enzymatique. Elles sont réalisées avec les acides aminés suivants : Ala126, Met267, Ile24, Met205, Trp203. Ces interactions sont visualisées dans la figure V.12 suivante.

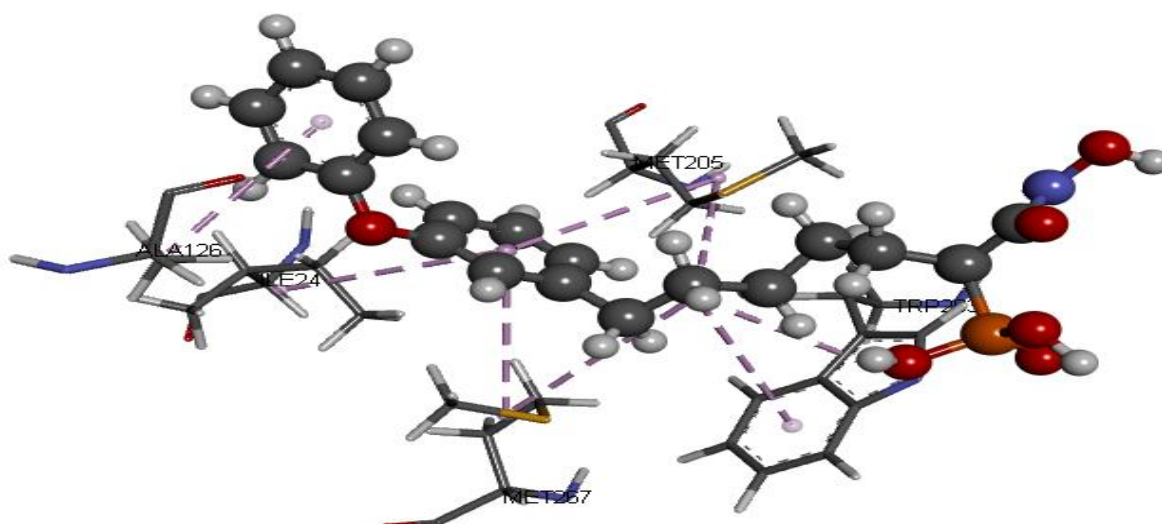
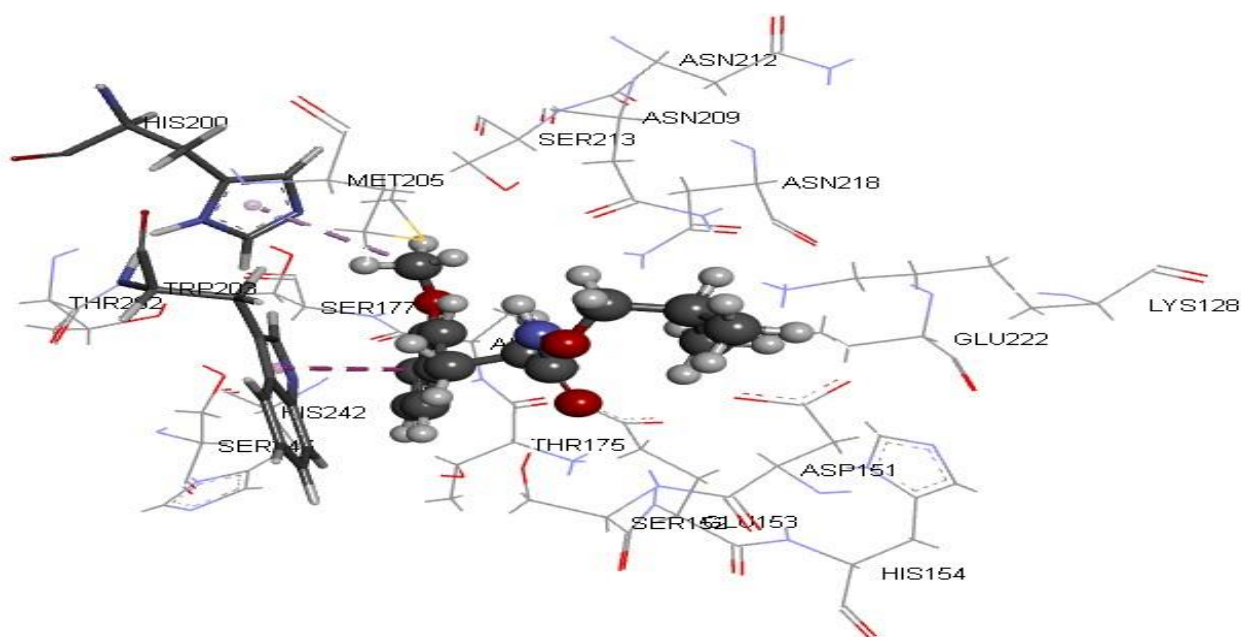


Figure V. 12. Représentation des interactions hydrophobiques formées entre le composé CID49801563 et le site actif de la DXR.

IV.3.Interaction de complexe 4A03-CID113304440

La simulation informatique réalisée par le programme Surflex-dock est expliquée par la formation de différentes liaisons de faible énergie entre l'enzyme DXR et cet inhibiteur.

Le complexe 4A03-CID113304440 est stabilisé par la formation des interactions hydrophobiques entre l'inhibiteur et les résidus His200 et Trp203. Les liaisons de type hydrophobique observées lors de l'interaction sont représentées dans la figure V. 13 suivante.



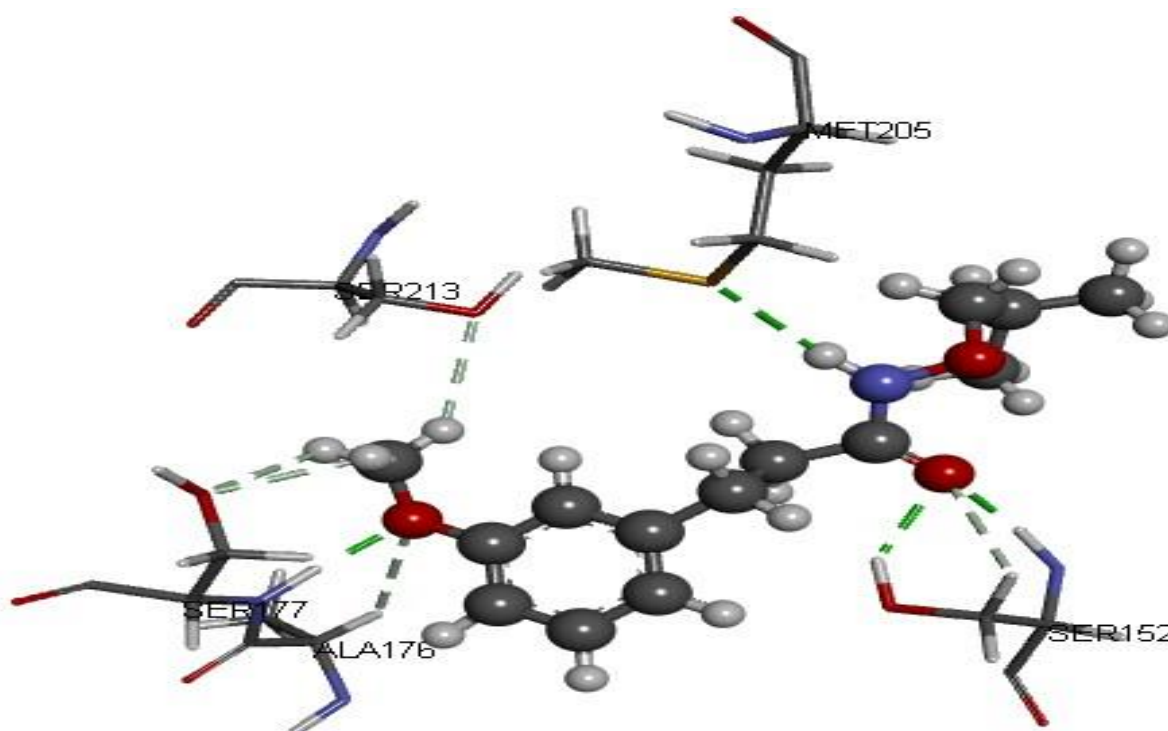
FigureV.13. Représentation des liaisons hydrophobes formées par CID113304440.

De plus, l'inhibiteur CID113304440 établit huit liaisons hydrogène avec les résidus Met205, Ser213, Ser177, Ala176 et Ser152. Dans le tableau V. 11 suivant, nous avons résumé ces interactions.

Tableau V. 11. Les ponts H formés par le composé CID-113304440 et les résidus du site actif de la DXR.

Liaisons	Atomes du ligand	Atomes et résidus du site actif	Distance (Å)
1	N-H	S _D Met205	2,59
2	C-H	O _G -H Ser213	2,83
3	C-H	O _G -H Ser177	2,47
4	C-H	O _G -H Ser177	2,82
5	O	C _A -H Ala176	2,89
6	C=O	H-N Ser152	1,94
7	C=O	H-C _B Ser152	2,78
8	C=O	H-O _G Ser152	2,19

Dans la figure V.14 suivante nous avons résumé les paires d'atomes interagissant dans les différentes interactions.



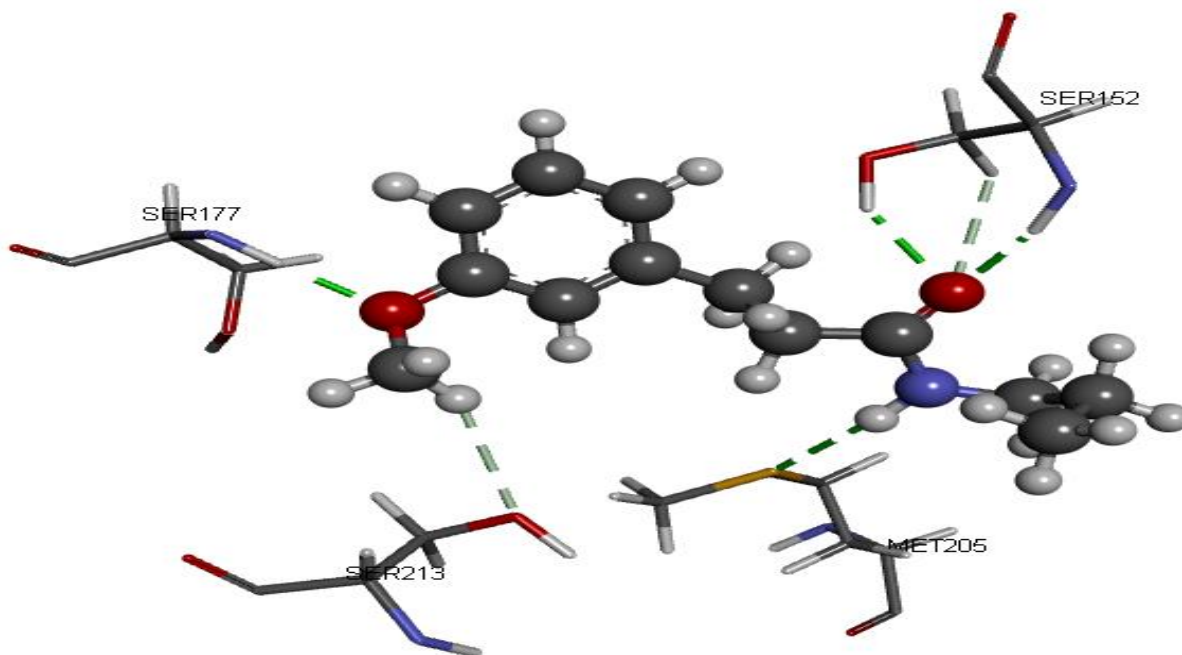
FigureV.14. Représentation des liaisons hydrogène formées par l'inhibiteur CID113304440.

IV.4.Interaction de complexe 4A03-CID60701454

Le composé CID60701454 est considéré parmi les meilleurs inhibiteurs sorti de notre simulation *in silico* avec un score d'affinité égale à $8,64 \text{ M}^{-1}$. Ce score peut être expliqué par la formation de six ponts hydrogène avec le site actif de la DXR. Dans le tableau V.12 et la figure V. 15 ci-dessous nous avons résumé ces différentes liaisons.

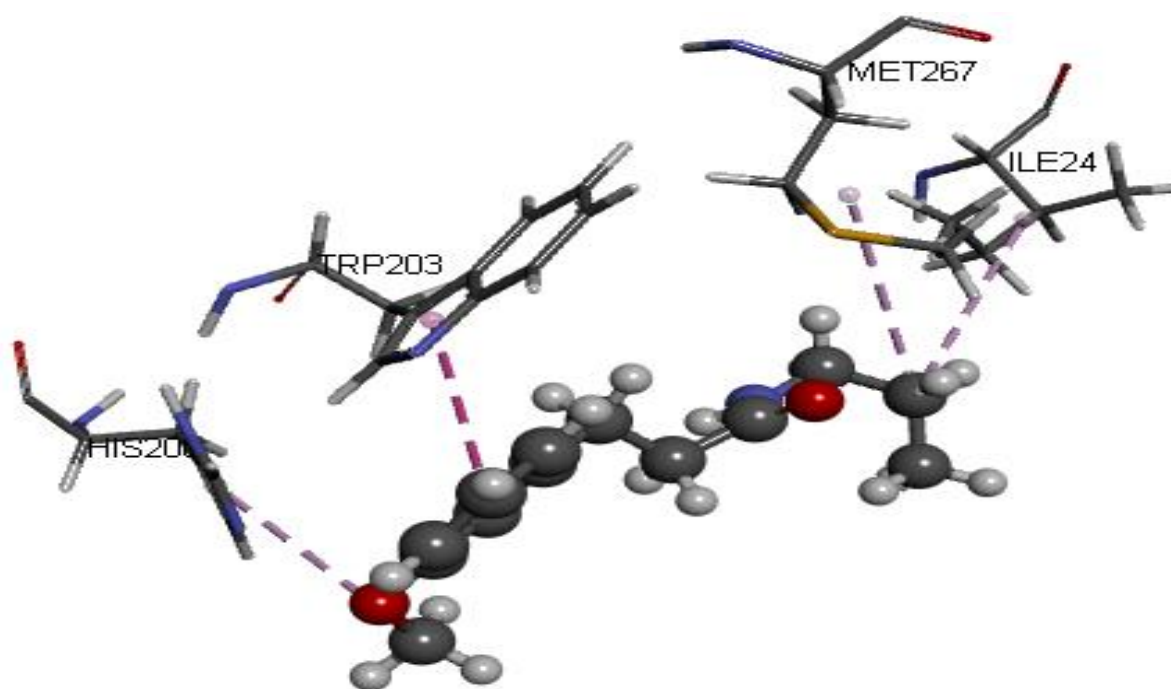
Tableau V.12. Les six liaisons formées par l'inhibiteur CID60701454.

Liaisons H	Atomes du ligand	Atomes et résidus du site actif	Distance (Å)
1	O	H-N Ser177	1,85
2	C-H	O _G -H Ser213	2,68
3	N-H	S Met205	2,63
4	C=O	H-O _G Ser152	2,16
5	C=O	H-CB Ser152	2,82
6	C=O	H-N Ser152	2,04



FigureV. 15. Représentation des liaisons hydrogène formées par l'inhibiteur CID60701454.

De plus, la visualisation des résultats du docking moléculaire montre que l'inhibiteur CID60701454 forme avec le site actif de notre cible enzymatique plusieurs interactions hydrophobiques (figure V.16) qui assurent la stabilité du complexe (4A03-CID60701454) avec les résidus Ile24, His200, Trp203 et Met 267.



FigureV. 16. Représentation des interactions hydrophobiques formées par l'inhibiteur CID60701454.

V. Prédiction de la similarité médicamenteuse

Nous avons jugé utile de compléter notre recherche en déterminant les propriétés ADME-Tox des principales molécules sélectionnées. A ce titre, nous avons utilisé le serveur SwissADME pour prédire *in silico* les propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques des meilleurs composés, et le serveur PreADMET pour prédire les propriétés toxicologiques. Ces résultats sont ensuite comparés à ceux de la molécule de référence 6JB. Les valeurs des propriétés observées sont montrées dans les tableaux qui suivent.

V.1. Propriétés physico-chimiques

Nous avons prédit les paramètres physico-chimiques des meilleurs inhibiteurs de la 4A03 en utilisant le serveur SwissADME.

TableauV.13. Critères de la règle de *Lipinski* pour les inhibiteurs choisis.

Critères	6JB	CID14555675	CID49801563	CID113304440	CID60701454
Poids moléculaire (g/mol)	345.33	279.37	393.37	251.32	221.30

Nombres donneurs de liaison H	10	2	4	1	7
Nombre d'accepteurs de liaison H	6	3	6	3	2
Nombre de liaison de rotation	3	11	11	8	1
LogP	1.24	3.40	2.28	2.55	2.43
TPSA (Å²)	117.11	58.56	125.90	47.56	38.33
Accessibilité synthétique	3,58	2.25	3.91	2.50	1.54

Les résultats du tableau V.13 ont montrés que les quatre inhibiteurs proposés ainsi que l'inhibiteur de référence répondent favorablement à la règle de cinq de *Lipinski*, on a pu observer que les propriétés de ces composés étaient conformes aux critères de cette règle, en se référant à leurs faibles poids moléculaires et à leur caractère lipophile. Ils avaient de bonnes propriétés ce qui indique que ces inhibiteurs peuvent être administrés par voie orale sans poser de problèmes.

De plus, l'accessibilité synthétique des petites molécules chimiques est l'un des principaux problèmes à résoudre lors de l'optimisation. La marge de scores pour ces critères était de 1 à 10. La difficulté de synthétiser un composé augmente avec l'augmentation de sa valeur (Antoine et *al*, 2017). Les résultats du tableau V.13 ont montré que les inhibiteurs CID14555675, CID49801563, CID113304440 et CID60701454 semblent être chimiquement productibles pour des valeurs inférieures à cinq.

V.2. Propriétés pharmacocinétiques

Pour prédire les propriétés pharmacocinétiques des composés après donnés par docking moléculaire les meilleures affinités, nous avons utilisé le serveur SwissADME.

Tableau V.14. Propriétés pharmacocinétiques des inhibiteurs choisis.

Propriétés	6JB	CID14555675	CID49801563	CID113304440	CID60701454
Absorption gastro-intestinale	HAUT	HAUT	HAUT	HAUT	HAUT
Perméabilité de la barrière hémato-encéphalique	NON	OUI	NON	OUI	OUI
Inhibition de CYP1A2	NON	NON	NON	NON	OUI
Inhibition de CYP2C19	NON	OUI	NON	NON	NON
Inhibition de CYP2C9	NON	NON	NON	NON	NON
Inhibition de CYP2D6	NON	NON	NON	NON	OUI
Inhibition de CYP3A4	NON	NON	NON	NON	NON

A travers le tableau V.14, nous avons noté que les cinq composés ont montré une haute absorption au niveau gastro-intestinale. La barrière hémato-encéphalique ou BHE est imperméable à l'inhibiteur 6JB ainsi que l'inhibiteur CID49801563, par contre la BHE est perméable aux autres inhibiteurs. De plus, SwissADME permet d'estimer si un produit chimique est un inhibiteur ou non des isoenzymes du cytochrome P450 (CYP). Les isoenzymes du CYP sont responsables de la biotransformation des médicaments. Les modèles renvoient «Oui» ou «Non» si les composés étudiés présentent une probabilité plus élevée d'être inhibiteur ou non inhibiteur d'un CYP donné. Les composés 6JB, CID49801563 et CID113304440 ne sont pas des inhibiteurs pour les isoenzymes cytochrome P450, contrairement au CID14555675, CID60701454 qui inhibent l'une de CYP. En effet, les changements dans les activités enzymatiques de ces enzymes peuvent avoir un impact sur la

façon dont les médicaments sont métabolisés. La prédiction de cette inhibition est importante pour découvrir les interactions médicamenteuses et éviter leur risque (Boucherit, 2020).

V.3.La toxicité

Pour prédire les propriétés de la toxicité des inhibiteurs étudiés, plusieurs paramètres ont été déterminés *in silico*, nous avons utilisé le serveur PreADMET.

Tableau V. 15. Le profil de toxicité relative des composés étudiés.

Critères	6JB	CID14555675	CID49801563	CID113304440	CID60701454
Carcino Souris	Négative	Négative	Négative	Positive	Négative
Carcino Rat	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative
Test d'Ames	Mutagène	Mutagène	Mutagène	Mutagène	Mutagène
Inhibition de HERG	Faible risque	Faible risque	Ambiguë	Faible risque	Faible risque

La prédiction de la toxicité montre que tous les inhibiteurs de la DXR présentent :

- Les propriétés cancérogènes négatives concernant le test sur les souris et sur les rats à l'exception de l'inhibiteur CID113304440. Les études de toxicité chez les rongeurs ont joué un rôle central dans l'identification des composés potentiellement dangereux pour l'homme (Boucherit, 2020).
- Nous avons noté que tous les composés étudiés présentent un effet mutagène, pouvant donc induire des modifications génétiques.
- En ce qui concerne le test d'inhibition du gène HERG, nous avons constaté un risque faible pour les quatre composés, à l'exception de l'inhibiteur CID49801563 le risque est ambigu ou non défini. Il a été établi que l'inhibition du gène HERG prolonge le potentiel d'action cardiaque et provoque une crise cardiaque (Boucherit, 2020).

Finalement on peut dire que les cinq inhibiteurs de la DXR étudiés répondent favorablement aux critères physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques. Ces

informations sont très utiles lors de leur optimisation et développement pour devenir des candidats médiamants.



CONCLUSION



CONCLUSION

Ce mémoire de master avait pour but la découverte *in silico* de nouvelles structures agissant comme inhibiteurs très puissants de la DXR. Cette enzyme est une cible thérapeutique potentielle lors de l'infection par *Mycobacterium tuberculosis*. En faisant appel à une approche de criblage virtuel basée sur la structure de la cible enzymatique. Afin d'atteindre cet objectif, nous sommes passés par plusieurs étapes.

Dans la première partie, nous avons tenté de tester la capacité de logiciel Surflex-dock à prédire l'emplacement correct d'un ligand au niveau de son récepteur. Afin de confirmer qu'il s'agit d'un programme approprié pour notre étude, nous avons appliqué deux tests :

- Le premier test consiste à calculer le RMSD pour mieux juger la déviation de la géométrie du ligand simulée par Surflex-dock avec celle déterminée expérimentalement qu'on retrouve dans la PDB. Sur les 168 complexes protéine-ligand pris aléatoirement de la PDB, 94,05 % ont présenté un RMSD parfaitement dans les normes (inférieur ou égale à 2 Å).
- Le second test est une analyse visuelle réalisée par le programme ViewerLite permettant de montrer s'il y a ou pas une superposition des ligands simulés par Surflex-dock par rapport aux ligands co-cristallisés tirés de la PDB.

Ces tests ont permis de conclure que Surflex-dock est un logiciel très fiable et pouvant être utilisé en toute confiance afin de modéliser les interactions des inhibiteurs testés avec le site actif de la DXR.

Dans la deuxième partie, nous avons pu élucider les mécanismes d'interaction entre la DXR et ses divers inhibiteurs tirés de la PDB par la visualisation de différentes liaisons mis en jeu. Les résultats montrent que le composé 6JB possède le meilleur effet inhibiteur avec une affinité égale à $5,50 \text{ M}^{-1}$.

La troisième partie a été consacrée à la recherche de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de la DXR. Pour cela, nous avons téléchargé 236 similaires de composé 6JB à partir de la chimiothèque PubChem, afin d'évaluer leur affinité envers la DXR. Quatre similaires: CID14555675, CID49801563, CID113304440 et CID60701454 avec des affinités égales à $8,73 \text{ M}^{-1}$, $8,99 \text{ M}^{-1}$, $8,20 \text{ M}^{-1}$ et $8,64 \text{ M}^{-1}$ respectivement, sont considérés comme les meilleurs inhibiteurs de la DXR.

Afin de valider ces résultats, la dernière étape de notre recherche consiste à vérifier certains critères physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques des composés proposés grâce aux serveurs SwissADME et PreADMET. L'évaluation de ces différentes propriétés a montré que les quatre inhibiteurs testés possèdent un bon profil ADME-Tox.

De ce fait, on peut dire que les résultats obtenus sont encourageants et très utiles lors de leur optimisation et développement pour devenir des nouveaux candidats médicaments.

Grâce aux résultats précédents obtenus. Nous fournirons quelques Perspectives pour améliorer le processus de découverte des inhibiteurs de l'enzyme DXR. Ils sont les suivants :

- Utiliser d'autres règles et banques pour trouver divers inhibiteurs plus efficaces pour notre cible enzymatique.
- Recourir à des programmes d'examen virtuels modernes et plus précis que Surflex-dock, comme FlexX, Autodock et Gold.
- Les complexes amarrés les plus performants ont été soumis ensuite à des simulations de dynamique moléculaire pour étudier les interactions dynamiques et les changements conformationnels dans le complexe protéique-inhibiteur proposé.
- Pour confirmer les résultats obtenus *in silico*, la meilleure façon d'y parvenir est d'appliquer des études *in vivo* et *in vitro*.

Références

Bibliographiques



Références bibliographiques

Abagyan R., Totrov M., Kuznetsov D. 1994. ICM? A new method for protein modeling and design: Applications to docking and structure prediction from the distorted native conformation. *Journal of Computational Chemistry*. 15 (5):488-506.

Agoram B. M., Martin S. W., Vander Graaf P. H. 2007. The role of mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) modeling in translational research of biologics. *Drug Discovery Today*. 12: 1018-24.

Alavijeh M. S., Chishty M., Qaiser M. Z., Palmer A. M. 2005. Drug metabolism and pharmacokinetics, the blood-brain barrier, and central nervous system drug discovery. *NeuroRx: the journal of the American Society for Experimental Neuro Therapeutics*. 2(4): 554-71.

Allen W.J., Balius T.E., Mukherjee S., Brozell S.R., Moustakas D.T., Lang, P.T.; Case D.A., Kuntz I.D., Rizzo R.C. 2015. DOCK 6: Impact of new features and current docking performance. *Journal of Computational Chemistry*. 36(15): 1132-1156.

Amdur B., Rilling H., Bloch K. 1957. The enzymatic conversion of mevalonic acid to squalene. *Journal of the American Chemical Society*. 79 (10): 2646-2647.

Andrea T., Elena L. 2020. Small Molecule Drug Discovery: Methods, Molecules and Applications. *Elsevier, Amsterdam*. 103-125p.

Anighoro A., Bajorath J., Rastelli G. 2014 Polypharmacology: Challenges and opportunities in drug discovery. *Journal of Medicinal Chemistry*. 57(19):7874-7887.

Anonyme. 2012. Site actif : définition et explications [en ligne]. <https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/12380/site-actif>. Consulté le 17/04/2024.

Anonyme. 2024. Cours informatique gratuit et sans publicité [en ligne]. <https://www.coursinfo.fr/excel/les-fonctions-de-base-excel-niveau-1/tableur/>. Consulté le [23/03/2024].

Antoine D., Olivier M., Vincent Z. 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*. 7: 42717

Baatarkhuu Z. Metabolic labelling of bacterial isoprenoids produced by the Methylerythritol phosphate pathway: A starting point towards a new inhibitor. Thèse de doctorat en Chimie Bio-Organique. Université de Strasbourg. France. 2017. 175p.

Bajorath Integration of virtual and high-throughput screening. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2002. 1(11): 882–894.

Bajorath J. Ahtziri Socorro Carranza Aranda.pdf - Repositorio CIATEJ. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2002.1:882–894.

Banthorpe D.V., Charlwood B.V., Francis M. J. 1972. The biosynthesis of monoterpenes. *Chemical Reviews*. 72(2):115-155.

Bawden D. Applications of two-dimensional chemical similarity measures to database analysis and querying. In, Johnson, M.A. and Maggiora, G.M. (Eds.) Concepts and Applications of Molecular Similarity, Wiley, New York. 1990. 65-76.

Beautrait A. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel. Thèse de Doctorat : chimie informatique et théorique. Université de Nancy. France. 2008. 122p.

Bencheikh B. Criblage in silico des inhibiteurs du SARS-CoV-2 par Docking moléculaire et QSAR. Thèse de doctorat en Chimie théorique et computationnelle. Université 8 Mai 1945 Guelma. Algérie. 2022. 104p

Benouis M.S. Etude théorique de l'activité inhibitrice de quelques enzymes par le Criblage virtuel et le docking moléculaire. Thèse de doctorat en Chimie Organique Appliquée. Université Badgi Mokhtar-Annaba. Algérie. 2022. 135p.

Berman H. M. 2008. The Protein Data Bank: a historical perspective. *Acta Cryst.* A64: 88-95.

Berman H., Henrick K., Nakamura H. 2003. Announcing the worldwide Protein Data Bank. *Nature Structural Biology*. 10 (12): 980.

Berman H., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T., Shindyalov I. Bourne P. 2000. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*. 28: 235-242.

Bernstein F. C., Koetzle T. F., Williams G. J., Meyer Jr E. F., Brice M. D., Rodgers J. R., Kennard O., Shimanouchi T., Tasumi M. 1977. The Protein Data Bank: a computer-based archival file for macromolecular structures. *Journal of Molecular Biology*. 112: 535-542.

Berthelot K., Estevez Y., Deffieux A., Peruch F. 2012. Isopentenyl diphosphate isomerase: A checkpoint to isoprenoid biosynthesis. *Biochimie*. 94(8): 621-1634.

Bielska E., Lucas X., Czerwonec A., Kasprzak J. M., Kaminska K. H., Bujnicki J. M. 2011. Virtual screening strategies in drug design—Methods and applications. *Biotechnologia*. 92 (3): 249-264.

BioPharmics LLC. 2024. Computational Tools for Drug Discovery. [En ligne]. <https://www.biopharmics.com/>. Consulté le [01/03/2024].

Birgand G., Lucet J. 2013. Politique de dépistage des BMR : quand et qui faut-il dépister ? *Revue Francophone des laboratoires*. 453: 29-39.

Bjorkelid C., Bergfors T., Unge T., Mowbray S. L., Jones T. A. 2012. Structural Studies on Mycobacterium Tuberculosis Dxr in Complex with the Antibiotic Fr-900098. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. D68: 134-143.

Boucherit H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de *Mycobacterium tuberculosis* par diverses molécules. Mémoire de magister en Biochimie. Université Frères Mentouri, Constantine 1. Algérie. 2012. 110p.

Boucherit H. Recherche *in silico* de nouveaux composés bioactifs et applications à l'inhibition de la méthionine aminopeptidase. Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée. Université Frères Mentouri, Constantine 1. Algérie. 2020. 210p.

Boucherit H., Chikhi A., Bensegueni A., Merzoug A., Hioual K. S., Mokrani E. H. 2014. Theoretical study of the interactions involved in the inhibition of Mycobacterium tuberculosis methionine aminopeptidase by several molecules. *Computational Biology and Bioinformatics*. 2:63-73.

Brissot E., Villate A., Alsuliman T., Beauvais D., Bonnin A., Mear J. B., Souchet L., Yakoub-Agha I., Bazarbachi A. 2019. Dépistage des bactéries multirésistantes (BMR) et hautement résistantes émergentes (BHRe) aux antibiotiques en allogreffe de cellules souches

hématopoïétiques : recommandations de la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC). *Bulletin du cancer*. 817: 01-05.

Brown A. C., Parish T. 2008. DXR Is Essential in Mycobacterium tuberculosis and Fosmidomycin Resistance is due to a Lack of Uptake. *BMC Microbiol*. 8:78-86.

Brueggemeier R. W. 2001. Aromatase, aromatase inhibitors, and breast cancer. *American Journal of Therapeutics*. 8: 333-344

Canetti G., Grosset J. 1961. Percentage of isoniazid-resistant and streptomycin-resistant variants in wild strains of Mycobacterium tuberculosis on Loewenstein-Jensen medium. *Annales d'institut Pasteur (Paris)*. 101:2846.

Carole D. L. Epidémiologie moléculaire de la tuberculose: étude des souches de Mycobacterium tuberculosis par la technique IS6110-RFLP. Thèses de doctorat en Sciences pharmaceutiques. Université Lorraine. France. 2018. 120p.

Chaudhary K. K. & Mishra N. 2016. A Review on Molecular Docking: Novel Tool for Drug Discovery. *JSM Chemistry* .4(3): 1029.

Chen X., Ji Z.L., Chen Y.Z. 2002. TTD: Therapeutic target database. *Nucleic Acids Res*. 30(1): 412-415.

Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide defonnyluse sfctamect antibactériennes à l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaires. Thèse de doctorat en Microbiologie. Université Frères Mentouri, Constantine 1. Algérie. 2007. 126p.

Churchyard G., Kim P., Shah N. S., Rustomjee R., Gandhi N., Mathema B. 2017. What We Know About Tuberculosis Transmission: An Overview. *Journal of the Infectious Diseases*. 216(suppl_6):8629-35.

CMIT E-pilly. Maladies infectieuses et tropicales. « Tuberculose de l'adulte et de l'enfant ». 4ème ed. *Alinea plus*. 2016. 123-135.

Courvalin P. 2008. Predictable and unpredictable evolution of antibiotic resistance. *Journal of Internal Medicine* .264:4-16.

Davies J., Davies D. 2010 Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews (MMBR)*.74:417-33.

Davis A. M., Teague S. J., Kleywegt G. J. 2003. Application and limitations of X-ray crystallographic data in structure-based ligand and drug design. *Angewandte chemie international edition –wiley online library*.42: 2718-2736.

Dimasi J.A., Hansen R.W., Grabowski H.G. 2003. The price of innovation: new estimates of drug development costs. *Journal of health economics*. 22:151-185.

Doak B. C., Over B., Giordanetto F., Kihlberg J. 2014. Oral drug gable space beyond the rule of 5: insights from drugs and clinical candidates. *Chemical biologie*. 21: 1115-1142.

Données ECDC. 2019. [En ligne] <https://www.ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-consumption/database/country-overview>. Consulté le [11/03/2022].

Eisenreich W., Bacher A., Arigoni D., Rohdich F. 2004. Biosynthesis of isoprenoids via the non-mevalonate pathway. *Cellular and Molecular Live Sciences*. 61(12):1401-1426.

Fan J., Fu A., and Zhang L. Progress in molecular docking. *Quantitative Biology*. 2019 7(2): 83-89.

Fan S., Geng Q., Pan Z., Li X., Tie L., Pan Y. 2012. Clarify- ing off-target effects for torcetrapib using network pharmacology and reverse docking approach. *BMC Systems Biology*. 6(1): 152.

Feher M. Recent Trends in Structure-Based Drug Design and Energetics. *DrugDiscovToday*.2006.11: 421–428.

Friesner R.A., Banks J.L., Murphy R.B., Halgren T.A., Klicic J.J., Mainz D.T., Repasky M.P., Knoll E.H., Shelle M., Perry J.K., Shaw D.E., Francis P., Shenkin P.S. 2004. Glide: A new approach for rapide accurent doking and scoring.1. Methode and assessment of docking accuracy. *J. Med. Chem*. <http://dx.doi.org/10.1021/jm0306430> PMID: 15027865 47(7): 1739-1749.

Fujisaki S., Ohnuma S., Ichi- Horiuchi T., Takahashi I., Tsukui S., Nishimura Y., Nishino T., Kitabatake M., Inokuchi H. 1996. Cloning of a Gene from Escherichia coli That Confers Resistance to Fosmidomycin as a Consequence of Amplification. *Gene*. 175:83-87.

Gao Z., Li H., Zhang H., Liu X., Kang L., Luo X.,Zhu W., Chen K., Wang X., Jiang H. 2008. PDTD: A web-accessible protein database for drug target identification. *BMC Bioinformatics*. 9 (1): 104.

Gervais R., Willoquet G. 2017. Guide pharmaco : Etudiants et professionnels en soins infirmiers. 1754 p. Lamrre Edition: 12^{eme} édition.

Ghosh S. Nie A. An J. Huang Z. 2006. Structure-based virtual screening of chemical libraries for drug discovery. *Current Opinion in Chemical Biology*.10:194–202.

Goujon E. Etude de la toxicité de la sulcotrione et de ses produits de photo dégradation. Thèse de doctorat en Physiologie et Génétique Moléculaires. Université Blaise Pascal. France. 2015. 156p.

Greenwood B. M., Fidock D. A., Kyle D. E., Kappe S. H., Alonso P. L., Collins F. H., Duffy P. E. 2008. Malaria: progress, perils, and prospects for eradication. *The Journal of Clinical Investigation*. 118(4):1266-1276.

Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Joseph Fourier.2007.90p.

Grosset J. 1990. Bacteriologic basis for the treatment of tuberculosis. *La Revue du praticien*. 40(8):715-718.

Gupta M. Sharma R. Singh M. Kumar A. 2018. docking techniques in pharmacology: how much promising? *Computational Biology and Chemistry*. 26:210-217.

Hawkins P. C., Warren G. L., Skillman A. G. 2008. How to do an evaluation: pitfalls and traps. *The Journal of computer- aided Molecular Design*. 22(3-4): 179-190.

Hawkins P.C. Skillman A.G. Nicholls A. 2007. Comparison of shape-matching Chemometrics and QSPR Group, Talete srl, Milan, Italy and docking as virtual screening tools. *Journal of Medicinal Chemistry*. 50(1):74-82.

Hioual K. S., Chikhi A., Bensegueni A., Merzoug A., Boucherit H., Mokrani E. H., Teniou S., Merabti B. 2014. Successful challenge: A key step in infectious Diseases treatment using computer-aided drug design. *International Journal of Biological Sciences and Applications*. 1(1):11-14.

Hoeffler J. F., Tritsch D., Grosdemange-Billiard C., Rohmer M. 2002. Isoprenoid Biosynthesis via the Methylerythritol Phosphate Pathway. Mechanistic Investigations of the 1-Deoxy-D-Xylulose 5-Phosphate Reductoisomerase. *European Journal of Biochemistry*. 269: 4446-4457.

Hondeghem L. M., Snyders D. J. 1990. Class III antiarrhythmic agents have a lot of potential but a long way to go-reduced effectiveness and dangers of reverse use-dependence. *Circulation* .81:686-90.

Huang H., Zhang G., Zhou Y., Lin C., Chen S., Lin Y., Mai S., Huang Z. 2018. Reverse screening methods to search for the proteintargets of chemopreventive compounds. *Frontiers in Chemistry*. 6: 138.

Huang S.Y., Zou X. 2010. Advances and Challenges in Protein-Ligand Docking. *International Journal of Molecular Sciences*.11 (8), 3016-3034.

Hubbard R.E. 2005. 3D structure and the drug-discovery process. *Molecular BioSystems*.1:391-406.

Jackson E.R., Dowd C.S. 2012. Inhibition de la 1-désoxy-D-xylulose-5-phosphate réductoisomérase (Dxr) : une revue de la synthèse et de l'évaluation biologique des inhibiteurs récents. *Sujets actuels en chimie médicinale*.12 (7):706-728.

Jain A. N. 2003. Surflex: Fully Automatic Flexible Molecular Docking Using a Molecular Similarity-Based Search Engine. *Journal of medicinal chemistry*. 46(4): 499-511.

Jomaa H., Wiesner J., Sanderbrand S., Altincicek B., Weidemeyer C., Hintz M., Turbachova I., Eberl M., Zeidler J., Lichtenthaler H. K., Soldati D., Beck E. 1999. Inhibitors of the nonmevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis as antimalarial drugs. *Science*. 285(5433):1573-6.

Jones G, Willett P, Glen RC, Leach AR, Taylor R. 1997. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *Journal of Molecular Biology*. 267(3):727-48.

Keiser M.J., Setola V., Irwin J.J., Laggner C., Abbas A.I., Hufeisen S.J., Jensen N.H., Kuijer M.B., Matos R.C., Tran T.B., Whaley R., Glennon R.A., Hert, J., Thomas K.L.H., Edwards D.D., Shoichet B.K., Roth B.L. 2009. Predicting new molecular targets for known drugs. *Nature*. 462 (7270): 175-181.

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

Kellogg B. A., Poulter C. D. 1997. Chain elongation in the isoprenoid biosynthetic pathway. *Current Opinion in Chemical Biology*. 1(4): 570-578.

Kiehn J., Lacerda A. E., Wible B. A., Brown A. M. 1996. Molecular physiology and pharmacology of HERG. *Single-channel currents and block by dofetilide. Circulation*. 94:2572-9.

Kim S., Thiessen P. L., Bolton E. E., Chen J., Fu G., Gindulyte A., Han L., He J., He S., Shoemaker B. A., Wang J., Yu B., Zhang J., Bryant S. H. 2016. PubChem Substance and Compound databases. *Nucleic Acids Research*. 44 (1): 1202-1213.

Kirchmair J., Markt P., Distinto S., Wolber G., Langer T. 2008. Evaluation of the performance of 3D virtual screening protocols: RMSD comparisons, enrichment assessments, and decoy selection--what can we learn from earlier mistakes. *The Journal of computer -aided Molecular Design*. 22(3-4): 213-28.

Klein E., Bourdette D. 2013. Post marketing adverse drug reactions: A duty to report? *Neurology Clinical Practice*. 3(4):288-294.

Koné M. S. Evaluation de la prescription des antibiotiques en consultation externe au service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel Touré. Thèse de doctorat. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako. Bamako. 2007. 115p.

Konno K., Kurzmann R., Bird K. T. 1957. The metabolism of nicotinic acid in Mycobacteria: a method for differentiating tubercle bacilli of human origin from other Mycobacteria. *American Review of Tuberculosis*. 75(4):529-537.

Koppisch A. T., Fox D. T., Blagg B. S., Poulter C. D. 2002. E. coli MEP synthase: steady-state kinetic analysis and substrate binding. *Biochemistry*. 41 (1):236-43.

Kramer B., Rarey M., Lengauer T. 1999. Evaluation of the FlexX Incremental Construction Algorithm for Protein-Ligand Docking. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*. 37: 228-241.

Krid A. Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant. Mémoire de magister en chimie théorique. Université Mentouri de Constantine. Algérie. 2008.

Kuzuyama T., Takahashi S., Takagi M., Seto H. 2000. Characterization of 1-Deoxy-D-Xylulose 5-Phosphate Reductoisomerase, an Enzyme Involved in Isopentenyl Diphosphate Biosynthesis and Identification of Its Catalytic Amino Acid Residues. *Journal of Biological Chemistry*. 275:19928-19932

Lagarde N. Méthodes de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de doctorat en Bioinformatique. Conservatoire national des arts et métiers, CNAM. France. 2014. 317p.

Lakehal M.S. Etude doking et synthèse de dérivés de xanthone : voie d'accès a de nouveaux inhibiteurs de l' α -glucosidase. Thèse de doctorat en Chimie Organique Appliquée. Université Badji Mokhtar-Annaba. Algérie .2016.147p.

Levin B. R., Antia R. 2001. Why We Don't Get Sick: The Within-Host Population Dynamics of Bacterial Infections. *Science*. 292(5519):1112-5.

Levy S. B., Marshall B. 2004 Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine*. 10 (12 Suppl): 5122-9.

Li A. P. 2001. Screening for human ADME/Tox drug properties in drug discovery. *Drug Discovery Today*. 6: 357-366.

Lionta E., Spyrou G., Vassilatis D., Cournia Z. 2014. Structure-based virtual screening for drug discovery: Principles, applications and recent advances. *Current Topics in Medicinal Chemistry*.14 (16): 1923-1938.

Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W. Feeney P. J. 1997. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 23: 3-26.

Lombardino J.G., Lowe J. A. 2004. The role of the medicinal chemist in drug discovery-then and now. *Nature Reviews Drug Discovery* .3:853-862.

Mac Sweeney A., Lange R., Fernandes R. P., Schulz H., Dale G. E., Douangamath A., Proteau P. J., Oefner C. 2005. The crystal structure of E.coli 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase in a ternary complex with the antimalarial compound fosmidomycin and NADPH reveals a tight-binding closed enzyme conformation. *Journal of Molecular Biology*. 345(1):115-127.

Madan R, Pandit K, Kumar H, Kumari N, Singh S.2020. Principles and aspects of molecular docking: A bird's eye view. *Hans Shodh Sudha*. 1(1): 110-121.

Mager D. E., Jusko W. J. 2001. General pharmacokinetic model for drugs exhibiting target-mediated drug disposition. *Journal Pharmacokinet Pharmacodyn*. 28: 507-32.

Maia E.H.B., Medaglia L.R, da Silva A.M. Taranto A.G .2020.Molecular architect: A user-friendly workflow for virtual screening. *ACS Omega*. 5(12): 6628-6640.

Marion O. Résistance bactérienne aux antibiotiques apports du système national des données de santé. Thèse de doctorat en santé publique-épidémiologie. Université Paris-Saclay. France. 2020. 188p

Mason J.S., Good A.C., Martin E.J.2001. 3-D pharmacophores in drug discovery. *Current Pharmaceutical Design*.7:567–597.

Mazari K., Bendinerad N., Benkhechi C., Fernandez X. 2010. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *Cupressus sempervirens*. *Medicinal Plant Research*. 4 (10) : 959-964.

Merzoug A. Recherche de nouvelles molécules bioactives par criblage virtuel et applications à l'inhibition du peptide déformylase. Thèse de doctorat en Biochimie. Université Mentouri-Constantine I. Algérie. 2018. 193p.

Messiaen A. S., Verbruggen T., Declerck C., Ortmann R., Schlitzer M., Nelis H., Van Calenbergh S., Coenye T. 2011. Resistance of the Burkholderia Cepacia Complex to Fosmidomycin and Fosmidomycin Derivatives. *International journal of antimicrobial agents*. 38:261-264.

Miziorko H. M. 2011. Enzymes of the mevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis. *Archives of biochemistry and biophysics*. 505(2): 131-143.

Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K.,Goodsell D.S., Olson A.J. 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*. 30(16): 2785-2791.

Moussa S. B. évaluation de la prise en charge de la tuberculose de janvier 2009 à mai 2010 dans le centre de sante de référence de la commune VI du district de Bamako. Thèses de doctorat en pharmacie. Université de Bamako. Bamako. 2012. 88p.

Munos J. W., Pu X., Mansoorabadi S. O., Kim H. J., Liu H. 2009. A secondary kinetic isotope effect study of the 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase-catalyzed reaction: evidence for a retroaldol-aldol rearrangement. *Journal of the American Chemical Society*. 131: 2048.

Murray C. J., Ikuta K. S., Sharara F., Swetschinski L., Robles Aguilar G., Gray A. 2022. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*. 399 (10325):629-55.

OMS (World Health Organization). 2015. Global action plan on antimicrobial resistance. [En ligne]. <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/global-action-plan/en/>. Consulté le [11/03/2024].

OMS. 2019. Dix ennemis que l'OMS devra affronter cette année. [En ligne]. <https://www.who.int/fr/newsroom/spotlight/ten-threats-to-global-health-in-2019> . Consulté le [11/03/2024].

OMS. 2023. [En ligne]. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>. Consulté le [27/03/2024].

Pachoulide C. Les méthodes in silico dans la recherche pharmaceutique. Exemple d'application pour l'étude pharmacocinétique post-autorisation de mise sur le marché des β -bloquants utilisés pour le traitement du glaucome. Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie. Université de Limoges. France. 2021.85p.

Perez J. 2005. Managing molecular diversity. *Chemical Society Reviews*.34: 143-152.

Poudyal B. 2021. Molecular Docking Technique. *National Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1(1): 08-14.

Poulos T., Finzel B., Gunsalus I., Wagner G and Kraut J. 1985. The 2.6-Å crystal structure of *Pseudomonas putida* cytochrome P-450. *Journal of Biological Chemistry*. 260 :16122-16130.

Pouyez J. Caractérisation structurale et étude de l'inhibition de 1-déoxy-D-xylulose-5-phosphate réductoisomérase (DXR) de *E. coli* et la DXR-like (DRL) de *B. abortus*, par des analogues de la fosmidomycine. Thèse de doctorat en Sciences Chimiques. Université de Namur. Belgique. 2014.164p.

Qamar M. T. U.I., Alqahtani S. M., Alamri M. A., Chen L. L. 2020. Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 10(4): 313-319.

Rajarshi G., Michael T. H., Geoffrey R. H., Henry R., Steinbeck C., Jörg K. W., Egon L., Willighagen J. 2006. The Blue Obelisk-Interoperability in Chemical Informatics. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 991-998

Ramsay R.R., Popovic-Nikolic M.R., Nikolic K., Uliassi E., Bolognesi M.L. 2018 .A perspective on multi-target drug discovery and design for complex diseases. *Clinical and Translational Medicine* .7 (1): 3.

Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. 1996.A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm. *Journal of Molecular Biology*. 261(3):470-489.

Réau M. Importance des données inactives dans les modèles: application aux méthodes de criblage virtuel en santé humaine et environnementale. Thèse de doctorat en Chimie thérapeutique. Conservatoire national des arts et métiers – CNAM. Université de Caen PhD. France. 2019. 372p.

Réau M., Lagarde N., Zagury J.F., Montes M. 2018. Nuclear Receptors Database Including Negative Data (NR-DBIND): A Database Dedicated to Nuclear Receptors Binding Data Including Negative Data and Pharmacological Profile. *Journal of Medicinal Chemistry*.<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01105>.

Rohdich F., Bacher A., Eisenreich W. 2005. Isoprenoid biosynthetic pathways anti-infective drug targets. *Biochemical Society Transactions*. 33: 785-791.

Ruzicka L. History of the Isoprene Rule. *Proceedings of the Chemical Society*. 1959. 341-376.

Ruzicka L. 1953. The Isoprene Rule and the Biogenesis of Terpenic Compounds. *Experientia*. 9 (10): 357-367.

Salam A. La résistance dans les infections bactériennes : apport de l'entrepôt de données de santé de l'AP-HP. Thèse de doctorat en santé publique – épidémiologie. Université Paris-Saclay. France. 2022. 140p.

Sanchari S. D. 2019. History of Tuberculosis. [En ligne]. <https://www.news-medical.net/health/History-of-Tuberculosis.aspx>. Consulté le [26/03/2024].

Schneider G. 2013. Prediction of Drug-like Properties. Madame Curie Bioscience Database. [En ligne]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6404/>. Consulté le [23/02/2024].

Shigi Y. J. 1989. Inhibition of bacterial isoprenoid synthesis by fosmidomycin, a phosphonic acid-containing antibiotic. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 24: 131-145.

Shivani K., Suresh K. Molecular Docking: A Structure-Based Approach for Drug Repurposing. In *Silico Drug Design. Medicine, Chemistry, Computer Science*. 2019: 161–189.

Spitzer R., Jain A.N. 2012. Surflex-Dock: Docking benchmarks and real-world application. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 26(6):687-699.

Stahl M., Rarey M. 2001. Detailed analysis of scoring functions for virtual screening. *Journal of Medicinal Chemistry*. 44: 1035-1042.

Steinbacher S., Kaiser J., Eisenreich W., Huber R., Bacher A., Rohdich F. 2003. Structural Basis of Fosmidomycin Action Revealed by the Complex with 2-C-Methyl- D-Erythritol 4-Phosphate Synthase (IspC). *Journal of Biological Chemistry*. 278: 18401-18407.

Sunghwan K., Jie C., Tiejun C., Asta G., Jia H., Siqian H., Qingliang L., Benjamin A. S., Paul A. T., Bo Y. U., Leonid Z., Jian Z., Evan E. B. 2023. PubChem 2023 update. *Nucleic Acids Research*. 6: 51.

Sylvie C. 2009. La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! *Pharmactuel*. 42: 6-21.

Takahashi S., Kuzuyama T., Watanabe H., Seto H. 1998. A 1-Deoxy-D-Xylulose 5-Phosphate Reductoisomerase Catalyzing the Formation of 2-C-Methyl-D-Erythritol 4-Phosphate in an Alternative Nonmevalonate Pathway for Terpenoid Biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 95: 9879-9884.

Tu M., Cheng S., Lu W., Du M. 2018. Advancement and prospects of bioinformatics analysis for studying bioactive peptides from food-derived protein: Sequence, structure, and functions. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 105: 7-17

Tuliahun M., esin A.Y. 2022. Molecular docking: principles, advances, and its application in drug discovery. *Letters in drug design discovery*. 5-8.

Umeda T., Tanaka N., Kusakabe Y., Nakanishi M., Kitade Y., Nakamura K. T. 2011. Molecular basis of fosmidomycin's action on the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Scientific Reports*. 1: 1-8.

Van Drie J. H. 2007. Computer-Aided Drug Design: The next 20 Years. *Journal of computer-Aided Molecular*. 21 (10-11):591-601.

Vayer P., Arrault A., Lesur B., Bertrand M., Walther B. 2009. Apports de la chemoinformatique dans la recherche et l'optimisation des molécules d'intérêt thérapeutique. *Médecine /sciences*. 25(10):871-877.

Veber D. F., Johnson S. R., Cheng H. Y., Smith B. R., Ward K. W., Koppel K. D. 2002. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*. 45: 2615-2623.

Verbrugghen T., Cos P., Maes L., Van Calenbergh S. 2010. Synthesis and evaluation of alpha- halogenated analogues of 3-(acetylhydroxyamino) propylphosphonic acid (FR900098) as antimalarial. *Journal of Medicinal Chemistry*. 53(14):5342-5346.

Verdonk M.L., Cole J.C., Hartshorn M.J., Murray C.W., Taylor R.D. 2003, improved .protein-ligand docking using GOLD. *Proteins*. 52(4) : 609-623.

Victor J. D. Point d'actualité sur la Tuberculose. Diplôme d'état de doctorat en pharmacie. Université Bretagne Loire. France. 2021. 94p.

Vogt A. D., Cera E. D. 2013. Conformational selection is a dominant mechanism of ligand binding. *Biochemistry*. 52(34):5723-5729.

Waglechner N., Wright G. D. 2017 Antibiotic resistance: It's bad, but why isn't it worse? *BMC Biology*.15.

Walsh C. 2003. Antibiotics: actions, origins, resistance. *ASM Press*. 345p.

Walters W. P., Stahl M.T., Murcko M. A. 1998. Virtual screening – an overview. *Drug Discovery Today*. 3: 160-178.

Warmke J. W, Ganetzky B. 1994. A family of potassium channel genes related to eag in Drosophila and mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*.91:3438-42.

Wei D., Jiang X., Zhou L., Chen J., Chen Z., He C., Yang K., Liu, Y., Pei, J., Lai L. 2008. Discovery of multitarget inhibitors by combining molecular docking with common pharmacophore matching. *Journal of Medicinal Chemistry*. 51(24):7882-7888.

Welch W., Ruppert J., Jain A.N.1996. Hammerhead: Fast, Fully Automated Docking of Flexible Ligands to Protein Binding Sites. *Chemistry&Biology*. 3: 449-462.

Wong U., Cox R. J. 2007. Biochemistry of the non-mevalonate isoprenoid pathway *Angew. Angewandte Chemie International Edition*. 46: 4926.

Xu X., Huang M., Zou X. 2018. Docking-based inverse virtual screening: Methods, applications, and challenges. *Biophysics Reports*.4 (1):1-16.

Yalcouyé E. Y. Prescription des antibiotiques dans le Service d'Accueil des Urgences du CHU Gabriel Touré. Thèse de doctorat en médecine. Université de Bamako. Bamako. 2020. 78p.

Yu H., Adedoyin A. 2003. ADME-Tox in drug discovery: integration of experimental and computational technologies. *Drug Discovery Today*. 8: 852-61.

Yuriev E., Agostino M., Ramsland P. A. 2011. Challenges and advances in computational docking: 2009 in review. *Journal of Molecular Recognition*.24 (2):149-164.

Zeidler J., Schwender J., Muller C., Wiesner J., Weidemeyer C., Beck E., Jomaa H.Z., Lichtenthaler H.K. 1998. Inhibition of the non-mevalonate 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of plant isoprenoid biosynthesis by fosmidomycin. *Z. Naturforsch.* 53: 980-986.

Zhang M.Q., Wilkinson B. 2007. Drug discovery beyond the 'rule-of-five'. *Current Opinion Biotechnol.* 18: 478-488.

Zhou D., White R. H. 1991. Early steps of isoprenoid biosynthesis in *Escherichia coli*. *The Biochemical Journal.* 273: 627-634.

Besma Kourteli Bayou Insaf	Date de Soutenance : 30 /06/2024						
Thème : Application d'une approche de criblage virtuel pour la découverte de nouveaux agents antibactériens							
Résumé La découverte des antibiotiques a fait naître l'espoir qu'il serait un jour possible de juguler l'ensemble des maladies infectieuses. Cependant, l'utilisation excessive des antibiotiques conduit à l'augmentation du nombre de bactéries multirésistantes est devenue une menace sanitaire essentielle au niveau mondial. Ceci rend nécessaire le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques, basées notamment sur la recherche de nouvelles molécules capables d'agir comme nouveaux agents antibactériens. Au cours de ce travail, nous nous sommes appuyés sur le traitement des infections bactériennes basé sur l'inhibition de la 1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate réducto-isomérase (DXR), une enzyme essentielle de la voie non-mévalonique de synthèse des isoprénoides, chez la plupart des microorganismes pathogènes. L'objectif principal de cette recherche est d'acquérir des compétences en modélisation moléculaire, dont la plus importante est le criblage virtuel qui est basé sur le docking moléculaire par Surflex-dock afin de contribuer au développement in silico de nouveaux inhibiteurs plus puissants et plus sélectifs de la DXR de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>. Nos résultats montrent que le programme Surflex-dock est assez performant pour contribué à la mise au point des nouvelles molécules à activité thérapeutique avec 94,05 % des valeurs de RMSD calculées sont inférieures ou égale à 2 Å. Ce test a été suivi d'une analyse visuelle de la superposition des ligands Co-cristallisés. Ces tests nous permettent de considérer Surflex-dock comme un programme de docking hautement performant. Le docking moléculaire d'une collection de 236 similaires de l'inhibiteur 6JB issus de la chimiothèque PubChem, fait ressortir les composés CID14555675, CID49801563, CID113304440 et CID60701454 comme meilleurs inhibiteurs de la DXR avec des affinités égale à 8,73 M-1, 8,99 M-1, 8,20 M-1 et 8.64 M-1 respectivement. Enfin, l'application de filtrage ADME-Tox nous renseigne de façon positive sur les propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques des inhibiteurs proposés.							
Mot clés : Agents antibactériens, Docking moléculaire, Surflex-dock, DXR, RMSD, Filtrage ADME-Tox							
Devant le jury : <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td>Présidente : KADJOU DJ Nadia</td> <td>M.A.B Centre.Univ.A.Boussouf - Mila</td> </tr> <tr> <td>Promotrice : BOUCHERIT Hanane</td> <td>M.C.B Centre.Univ.A.Boussouf - Mila</td> </tr> <tr> <td>Examinatrice : MERZOU G Amina</td> <td>M.C.A Centre.Univ.A.Boussouf - Mila</td> </tr> </table>		Présidente : KADJOU DJ Nadia	M.A.B Centre.Univ.A.Boussouf - Mila	Promotrice : BOUCHERIT Hanane	M.C.B Centre.Univ.A.Boussouf - Mila	Examinatrice : MERZOU G Amina	M.C.A Centre.Univ.A.Boussouf - Mila
Présidente : KADJOU DJ Nadia	M.A.B Centre.Univ.A.Boussouf - Mila						
Promotrice : BOUCHERIT Hanane	M.C.B Centre.Univ.A.Boussouf - Mila						
Examinatrice : MERZOU G Amina	M.C.A Centre.Univ.A.Boussouf - Mila						