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° Réf :……

Université El Moudjahid Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Faculté 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 : Microbiologie Appliquée

Thème :

Identification de nouveaux agents antibactériens par criblage virtuel et filtrage ADME-Tox : ciblage de la peptide déformylase de *Helicobacter pylori*

Présenté par :

- **Khelil Amani**

Devant le jury :

Boubendir Abdelhafid	**Professeur. Univ. A. Boussouf – Mila**	**Président**
Bousbia Sabri	**M.C.A. Univ. A. Boussouf – Mila**	**Examinateur**
Merzoug Amina	**M.C.A. Univ. A. Boussouf – Mila**	**Promotrice**

Année Universitaire : 2025/2026


بسم الله الرحمن الرحيم

Remerciements

Au préalable, je remercie Dieu Tout-Puissant pour son aide et sa bienveillance, qui m'a accordé la patience, la détermination et la volonté sincère nécessaires à l'accomplissement de ce modeste travail, et m'a permis de mener à terme ce mémoire.

Il me plaît, en cette occasion, d'exprimer mes plus vifs remerciements, ma gratitude et ma profonde reconnaissance à mon encadrante, **Madame Merzoug Amina**, qui n'a ménagé aucun effort pour m'orienter et me guider. Ses précieuses observations, ses conseils avisés et son suivi constant ont eu un impact considérable sur l'aboutissement de ce travail sous sa forme actuelle. Je la remercie également pour sa grande disponibilité et son accueil chaleureux durant toute la période de réalisation de cette recherche.

J'adresse mes sincères remerciements aux honorables membres du jury, pour l'honneur qu'ils me font en acceptant d'examiner et d'évaluer ce travail, ainsi que pour les remarques constructives qu'ils apporteront et qui contribueront à enrichir cette recherche et à en rehausser la valeur scientifique.

Il me plaît également d'exprimer ma profonde gratitude à l'ensemble du corps enseignant et administratif du département des **Sciences de la Nature et de la Vie**, professeurs et personnel, qui ont contribué, d'une manière ou d'une autre, à ma formation scientifique et académique durant tout mon parcours universitaire, et qui ont cultivé en moi le goût de la recherche et du savoir.

Je ne saurais oublier de remercier toutes les personnes qui m'ont apporté leur aide et leur soutien, de près ou de loin, qu'il s'agisse d'informations, de conseils ou d'encouragements, et dont le soutien a eu un effet considérable pour surmonter les difficultés rencontrées tout au long de ce parcours de recherche.

Enfin, j'exprime mes plus sincères témoignages de reconnaissance, d'affection et de gratitude à mes chers parents, à ma famille et à mes amis, qui ont été et demeurent un soutien constant à chaque étape de ce parcours, et auxquels j'adresse toute ma considération et mon respect.

Dédicace

Louange à Dieu qui m'a donné la patience, la force et la détermination pour achever ce modeste travail, et m'a permis, par sa grâce, d'atteindre ce moment tant attendu.

Je dédie ce travail avec tout mon amour et ma fierté à ce que j'ai de plus précieux en ce monde, à mes chers parents **Abdelali** et **Linda**, qui ont été et demeurent le secret de chaque succès que j'ai accompli et la source de toute force que je possède.

À ma chère mère **Linda**, qui a passé des nuits blanches pour mon confort, et qui ne m'a jamais privé de ses prières et de sa tendresse, même un seul instant. Chaque mot de ce mémoire porte l'empreinte de tes prières et de tes encouragements. Que Dieu te garde et t'accorde santé et longue vie.

À mon cher père **Abdelali**, qui m'a appris le sens de la patience et de la persévérance, et qui a toujours été mon soutien dans les moments les plus difficiles. Je te dois ma profonde gratitude, et je prie Dieu de bénir ta vie et de te protéger de tout mal.

À mes chères sœurs **Khadidja**, **Rahaf**, **Oumaima**, **Kawthar**, **Hadil** et **Maram**, compagnes de route et source de joie dans ma vie, merci d'être toujours à mes côtés et de votre soutien constant.

À mes chers frères **Ayman**, **Oussama** et **Yasser**, qui ont toujours été un soutien et une aide pour moi, je vous adresse tout mon amour et ma considération.

À tous les membres de ma chère famille, dont le soutien et l'affection ont eu un effet bienfaisant sur moi tout au long de ce parcours.

À ma chère enseignante, Madame **Merzoug Amina**, Maître de conférences, qui m'a accompagné(e) de ses précieux conseils et de ses orientations avisées durant tout mon parcours universitaire, et qui a été un phare guidant mon chemin.

À mes ami(e)s et collègues qui ont partagé avec moi les moments de travail et de fatigue, et qui ont toujours été une source de soutien et de motivation.

Et à tous ceux qui ont prié pour moi en mon absence, ou qui m'ont aidé d'un mot ou d'un conseil, et dont la contribution a eu un grand impact sur la réalisation de ce travail.

À vous tous, je dédie ce travail, et je prie Dieu de le rendre sincère pour Sa face, et d'en faire profiter autrui.

Abstract

Helicobacter pylori, a bacterium implicated in numerous gastric pathologies constitutes a major public health concern. The increasing emergence of strains resistant to conventional antibiotics highlights the need to develop new therapeutic strategies. In this context, peptide deformylase, an enzyme essential for bacterial protein maturation and absent in mammals, represents a particularly promising therapeutic target. The present work aims to identify new potential inhibitors of *H. pylori* peptide deformylase through a virtual screening approach based on molecular docking using Surflex-Dock software, combined with the evaluation of pharmacokinetic and toxicological properties via the SwissADME and ProTox-II 3.0 platforms.

The reliability of the docking protocol was validated by RMSD calculation, indicating a success rate of 74.26%, as well as by visual analysis of the docking poses and the study of the linear correlation between experimental activities and predicted affinity scores (r = 0.715).

Among the inhibitors studied, actinonin showed the best binding affinity, with a score of 7.06 M^{-1}, and was selected as the reference molecule for screening 192 structural analogs retrieved from the PubChem database. Compound CID_9879394 emerged as the most promising candidate, with a higher affinity score of 8.42 M^{-1}. Analysis of molecular interactions revealed a binding mode similar to that of actinonin, involving several key active-site residues, namely Gln51, Ile45, Gly46, Leu97, and Glu139.

Evaluation of ADME-Tox properties revealed a favorable pharmacokinetic and toxicological profile for this compound, characterized by good oral bioavailability, compliance with Lipinski's rule, no predicted inhibition of the major cytochrome P450 isoforms, and low potential toxicity. The results obtained suggest that compound CID_9879394 represents a promising candidate for the development of new anti-*H. pylori* agents. However, further complementary in vitro and in vivo experimental studies remain necessary to confirm its biological activity and assess its real therapeutic potential.

Keywords: *Helicobacter pylori;* peptide deformylase; molecular docking; virtual screening; Surflex-Dock; ADME-Tox.

Résumé

L'infection à *Helicobacter pylori*, bactérie impliquée dans de nombreuses pathologies gastriques constitue un important problème de santé publique. L'émergence croissante de souches résistantes aux antibiotiques conventionnels souligne la nécessité de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques. Dans ce contexte, la peptide déformylase, enzyme essentielle à la maturation des protéines bactériennes et absente chez les mammifères, représente une cible thérapeutique particulièrement prometteuse. Le présent travail a pour objectif d'identifier de nouveaux inhibiteurs potentiels de la peptide déformylase de *H. pylori* à travers une approche de criblage virtuel basée sur le docking moléculaire à l'aide du logiciel Surflex-Dock, et associée à l'évaluation des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques via les plateformes SwissADME et ProTox-II 3.0.

La fiabilité du protocole de docking a été validée par le test du RMSD, indiquant un taux de réussite de 74,26 %, ainsi que par l'analyse visuelle des poses de docking et l'étude de la corrélation linéaire entre les activités expérimentales et les scores d'affinité prédits ($r = 0,715$).

Parmi les inhibiteurs étudiés, l'actinonin a présenté la meilleure affinité de liaison, avec un score de 7,06 M^{-1}, et a été retenue comme molécule de référence pour le criblage de 192 analogues structuraux issus de la base de données PubChem. Le composé CID_9879394 s'est distingué comme le candidat le plus prometteur, avec un score d'affinité supérieur de 8,42 M^{-1}. L'analyse des interactions moléculaires a révélé un mode de liaison similaire à celui de l'actinonin, impliquant plusieurs résidus clés du site actif, notamment Gln51, Ile45, Gly46, Leu97 et Glu139.

L'évaluation des propriétés ADME-Tox a mis en évidence un profil pharmacocinétique et toxicologique favorable pour ce composé, caractérisé par une bonne biodisponibilité orale, le respect de la règle de Lipinski, l'absence d'inhibition prédite des principales isoformes du cytochrome P450 ainsi qu'une faible toxicité potentielle. Les résultats obtenus suggèrent que le composé CID_9879394 constitue un candidat prometteur pour le développement de nouveaux agents anti-*H. pylori*. Toutefois, des études expérimentales complémentaires *in vitro* et *in vivo* demeurent nécessaires afin de confirmer son activité biologique et d'évaluer son potentiel thérapeutique réel.

Mots-clés : *Helicobacter pylori*; peptide déformylase; docking moléculaire; criblage virtuel; Surflex-Dock; ADME-Tox.

ملخص:

تُعدّ عدوى **الملوية البوابية**(*Helicobacter pylori*) ، وهي بكتيريا متورطة في العديد من الأمراض المعدية، مشكلةً صحيةً عامةً مهمة. إن التزايد المستمر في ظهور سلالات مقاومة للمضادات الحيوية التقليدية يبرز الحاجة إلى تطوير استراتيجيات علاجية جديدة. وفي هذا السياق، يُعدّ إنزيم **ببتيد ديفورميلاز** (Peptide Deformylase)، الضروري لنضج البروتينات البكتيرية والغائب لدى الثدييات، هدفًا علاجيًا واعدًا للغاية.

يهدف هذا العمل إلى تحديد مثبطات جديدة محتملة لإنزيم ببتيد ديفورميلاز لدى بكتيريا الملوية البوابية من خلال اعتماد منهجية الفحص الافتراضي القائمة على الإرساء الجزيئي (Molecular Docking) باستخدام برنامج Surflex-Dock، إلى جانب تقييم الخصائص الدوائية الحركية والسمية عبر منصتي SwissADMEو ProTox-II 3.0.

تم التحقق من موثوقية بروتوكول الإرساء الجزيئي بواسطة اختبار RMSD، حيث أظهر معدل نجاح بلغ 74.26٪، إضافةً إلى التحليل البصري لوضعيات الإرساء ودراسة الارتباط الخطي بين الأنشطة التجريبية ودرجات الألفة المتوقعة.(**r = 0.715**)

ومن بين المثبطات المدروسة، أظهر مركب **الأكتينونين**(Actinonin) أفضل ألفة ارتباط، بدرجة بلغت 7.06 M^{-1}، وتم اعتماده كمركب مرجعي لفحص 192**نظيرًا بنيويًا** مستخرجًا من قاعدة بيانات .PubChemوقد تميز المركب CID_9879394باعتباره المرشح الأكثر واعدية، محققًا درجة ألفة أعلى بلغت .8.42 M^{-1}وكشف تحليل التفاعلات الجزيئية عن نمط ارتباط مماثل لذلك الخاص بالأكتينونين، متضمنًا عدة بقايا أمينية رئيسية في الموقع الفعال، من بينها Gln51 :و Ile45و Gly46و Leu97وGlu139.

وأظهر تقييم خصائص ADME-Toxأن هذا المركب يتمتع بملف دوائي وحركي وسمي ملائم، يتمثل في توافر حيوي فموي جيد، والالتزام بقاعدة **ليبنسكي**(Lipinski) ، وعدم وجود تثبيط متوقع للأنماط الرئيسية لإنزيمات **السيتوكروم** P450 ، إضافة إلى انخفاض السمية المحتملة.

وتشير النتائج المتحصل عليها إلى أن المركب CID_9879394يمثل مرشحًا واعدًا لتطوير عوامل علاجية جديدة ضد بكتيريا الملوية البوابية. ومع ذلك، تبقى هناك حاجة إلى دراسات تجريبية إضافية **داخل المختبر** *in* **vitro**)و**داخل الكائن الحي**(*in vivo*) لتأكيد نشاطه البيولوجي وتقييم إمكاناته العلاجية الفعلية.

الكلمات المفتاحية:الملوية البوابية(*Helicobacter pylori*) ، ببتيد ديفورميلاز، الإرساء الجزيئي، الفحص الافتراضي، Surflex-Dock، ADME-Tox.

Table des matières

Remerciement

Dédicace

Summary

Résumé

ملخص

Tables des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction …….…….....1

CHAPITRE I. *Helicobacter pylori*

I. Généralité…… 4

II. Caractères généraux sur *H. pylori*…….…….4

II.1.Taxonomie……....4

II.2.Caractères bactériologiques, biochimiques et génotypiques de *H. pylori*……..……..4

II.3. Morphologie et mobilité……..……4

III. Physiopathologie de l'infection …….……..5

IV. Facteur de virulence…….…….6

IV.1.Facteurs de colonisation ……..……..6

IV.2.Facteurs de persistance……..…….6

IV.3.Facteurs de pathogénicité……6

V. Mode de transmission……..……..7

V.1.Transmission oro-orale ……..…..7

V.2.Transmission féco-orale……..….8

V.3.Transmission par les sources d'eau et les aliments……..……8

VI. Maladies liées à l'infection par *H.pylori*…….…….8

VII. Diagnostic……9

Table des matières

VIII. Traitement……..……11

VIII.1. Traitement chimique……11

CHAPITRE II. PEPTIDE DEFORMYLASE

I. Définition 14

II. Mécanisme d'action.....14

III. Classification de la peptide déformylase.....15

III.1. Classe I (PDF1).....16

III.2. Classe II (PDF2).....16

III.3. Classe III (PDF3).....16

IV. Structure tridimensionnelle.....17

V. Site actif et poches de liaison.....18

VI. Les inhibiteurs de la peptide déformylase.....19

VI.1 Inhibiteur naturel 20

VI.2Inhibiteurs synthétiques.....21

VI.2.1BB-83698.....21

VI.2.2. LBM415.....21

VI.2.3. GSK1322322.....21

CHAPITRE III.DOCKING MOLECULAIRE

I. Le principe du docking moléculaire……..26

I.1.Algorithme de recherche……..27

I.2. Fonction de score…….....…….27

II. Types de docking moléculaire……..……...27

II.1. Docking rigide……...27

II.2. Docking flexible……28

II.3. Docking semi-flexible (ligand flexible)……..…….28

III. Les applications……...29

IV. Les programmes de docking moléculaire ……..……30

Table des matières

IV.1. AutoDock……30

IV. 2. Dock……...30

IV.3. FlexX……...30

IV.4. Gold……31

IV.5. Glide……....31

IV.6. Surflex-dock……31

V. Étapes du docking moléculaire……..……..32

V.1 Préparation du récepteur……32

V.2. Identification du site de liaison…….....……..33

V.3. Préparation du ligand……..…….…….33

V.4. Réalisation du docking……..33

VI. Efficacité du docking moléculaire dans l'amélioration de la découverte des composés médicamenteux…….…….. 34

CHAPITRE IV. MATERIEL ET METHODES

I. Matériel……..36

I.1. Micro-ordinateur…….……36

I.2. Banques de données……36

I.3. Programme utilisés…….……38

I.4. Serveurs en ligne…….……41

II. Méthodes……..45

II.1. Tests de fiabilité du programme Surflex-Dock…….45

II.2. Procédure de docking moléculaire par Surflex-Dock……...……47

II.3. Prédiction de la similarité médicamenteuse…….…….50

II.3.1. Propriétés physicochimiques……..51

II.3.2. Propriétés pharmacocinétiques……...52

CHAPITRE V. RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Test de fiabilité du programme Surflex-Dock……..…….55

Table des matières

I.1. l'écart quadratique moyen……..…….55

I.2. L'analyse visuelle ……...…59

I.3. Le coefficient de corrélation ……..……62

II. Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de la PDF par diverses molécules provenant de la PDB……...……..64

II.1. Choix du complexe 4E9A……..……...65

II.2. Docking moléculaire des meilleurs inhibiteurs connus de la PDF…….……..65

III. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la PDF……..……68

IV. Prédiction des propriétés physicochimiques et ADME-Tox …….72

CONCLUSION…….…...77

Références bibliographiques

Liste des tableaux

Tableau	titre	page
II.1	Récapitulatif de la classification de la PDF	17
V.1	Liste des 101 complexes protéine-ligand utilisés pour tester la fiabilité de programme Surflex-Dock à l'aide du RMSD.	55
V.2	Valeurs de RMSD des trois complexes protéine-ligand sélectionnés.	59
V.3	Inhibiteurs de la PDF avec leurs activités biologiques reportées et leurs affinités de liaison.	62
V.4	Les caractéristiques de l'enzyme PDF	65
V.5	Les scores des 4 inhibiteurs obtenus suite au docking moléculaire avec Surflex	66
V.6	Les liaisons hydrogène formées par l'actinonin.	68
V.7	Résultats du docking moléculaire des inhibiteurs au niveau du site actif de la protéine 4E9A obtenus par Surflex-Dock.	69
V.8	Les liaisons hydrogène formées par le composé CID_9879394	72
V.9	Prédiction des profils ADME-Tox du meilleur inhibiteur comparée à celle de l'inhibiteur de référence.	74

Liste des figures

Figure	titre	page
I.1	Représentation schématique de la morphologie et de la mobilité de *H. pylori*	5
I.2	Représentation schématique des principaux facteurs de virulence de *H. pylori* et de leur rôle dans la colonisation, la persistance et l'induction des lésions gastriques	7
I.3	Principales voies de transmission de *H. pylori*, colonisation gastrique et progression des pathologies associées	9
I.4	Schéma récapitulatif des principales méthodes diagnostiques de l'infection à *H. pylori* et de leurs indications cliniques	10
I.5	Schéma du traitement d'éradication de *H. pylori* basé sur l'association IPP–antibiotiques	12
II.1	Mécanisme d'action de la PDF dans la maturation protéique bactérienne	15
II.2	Structure cristallographique de la PDF de *H. pylori*	18
II.3.	Représentation schématique du site actif, des poches de liaison et des déterminants structuraux impliqués dans la reconnaissance des inhibiteurs de la PDF	19
II.4	Représentation schématique des principaux inhibiteurs synthétiques de la PDF (BB-83698, LBM415 et GSK1322322)	23
III.1	Processus de docking moléculaire	25
III.2	Schéma illustratif du principe du docking moléculaire	26
III.3	Principaux types de docking moléculaire utilisés en modélisation moléculaire	29
III.4	Schéma illustratif du principe du docking moléculaire	32
III.5	Représentation schématique du processus de docking moléculaire appliqué à l'identification d'inhibiteurs potentiels de la PDF	33
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

Liste des figures

IV.4	Conversion de fichiers par le programme Open Babel	40
IV.5	Visualisation par le logiciel ViewerLite	41
IV.6	Interface graphique du serveur SwissADME	42
IV.7	Prédiction des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques par le serveur SwissADME	43
IV.8	Interface graphique du serveur ProTox-II 3.0.	44
IV.9	Prédiction de toxicité par le serveur ProTox-II 3.0	44
IV.10	Capture d'écran des résultats du docking obtenus par le logiciel Surflex-Dock	49
IV.11	Résultat du calcule le RMSD par le programme Surflex-Dock	49
V.1	Résultats en % du test RMSD à deux intervalles	58
V.2	Résultats (%) obtenu par Surflex-dock selon différents intervalles de RMSD	
V.3	Superposition du ligand Y13 du complexe 2EW6simulé par Surflex-dock (coloré en rose) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en vert).	60
V.4	Superposition du ligand BB2du complexe 9QFTsimulé par Surflex-dock (coloré en rose) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en vert)	60
V.5	Superposition du ligand SB9du complexe 2AIEsimulé par Surflex-dock (coloré en rose) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en vert)	71

Liste des graphes

V.6	Corrélation entre l'activité expérimentale (Log IC_{50}) et les valeurs d'affinité de divers inhibiteurs de la PDF.	64
V.7	Mode de liaison de l'actinonin au site actif de la PDF de *H. pylori.* Les tirets discontinus verts représentent les liaisons hydrogène.	68
V.8	Docking du composé CID_9879394 dans le site de liaison de la PDF de *H. pylori*.	72

Liste des abréviations

3D : Tridimensionnel

Å : Angström

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

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

CADD : Conception assistée par ordinateur de médicaments

CYP450: Cytochrome P450

DL50 : Dose létale médiane

FDA : Food and Drug Administration

H. pylori : Helicobacter pylori

IC50 : Concentration inhibitrice médiane

logP : Coefficient de partage octanol/eau

M^{-1} : Molarité$^{-1}$

MALT: Mucosa-associated lymphoid tissue

NCBI : National Center for Biotechnology Information

PAINS : *Pan-Assay Interference Compounds*

PDB : Protein Data Bank.

PDF: Peptide déformylase

RMSD : Root Mean Square Deviation.

Introduction

Introduction

L'infection à *Helicobacter pylori* constitue un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Cette bactérie pathogène colonise la muqueuse gastrique humaine et est impliquée dans le développement de nombreuses affections gastro-intestinales, notamment la gastrite chronique, l'ulcère gastroduodénal ainsi que diverses complications sévères. En outre, plusieurs études ont démontré son implication dans l'apparition de l'adénocarcinome gastrique et du lymphome gastrique, faisant de *H. pylori* l'un des principaux facteurs de risque du cancer de l'estomac (Tee *et al.*,1995 ; Cover et Blaser, 1996).

Actuellement, l'éradication de *H. pylori* repose principalement sur des thérapies combinées associant un inhibiteur de la pompe à protons à deux ou plusieurs antibiotiques. Bien que ces traitements aient permis d'améliorer les taux de guérison, leur efficacité demeure limitée en raison de l'émergence croissante de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques couramment utilisés. Par ailleurs, ces traitements peuvent perturber l'équilibre du microbiote intestinal et provoquer divers effets indésirables, réduisant ainsi leur efficacité clinique et leur tolérance (Cai *et al.*,2006).

Face à ces limitations, le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques apparaît indispensable. L'identification de nouvelles cibles moléculaires constitue aujourd'hui une approche prometteuse pour la conception de médicaments plus sélectifs et plus efficaces contre *H. pylori*. Dans ce contexte, les méthodes computationnelles et les approches de modélisation moléculaire occupent une place de plus en plus importante dans la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques et de molécules bioactives. Ces techniques permettent d'explorer les interactions moléculaires à l'échelle atomique, d'identifier des protéines d'intérêt biologique et de sélectionner rapidement des composés candidats avant leur validation expérimentale (Cai *et al*., 2006).

Parmi les cibles thérapeutiques récemment proposées, la peptide déformylase suscite un intérêt particulier. Cette métalloprotéase bactérienne joue un rôle essentiel dans la maturation des protéines naissantes en catalysant l'élimination du groupement formyle de la méthionine N-terminale des polypeptides nouvellement synthétisés. Cette étape est indispensable au bon fonctionnement cellulaire et à la survie bactérienne. La peptide déformylase représente une cible thérapeutique particulièrement attractive pour plusieurs raisons : son gène est essentiel à la croissance bactérienne-; le cycle de formylation-déformylation de la méthionine est absent

de la synthèse protéique cytoplasmique eucaryote, constituant ainsi une base solide pour une toxicité sélective (Chen *et al*., 2000; Pei, 2001).

L'intérêt porté à cette enzyme a conduit à l'identification de plusieurs inhibiteurs potentiels. Parmi eux, l'actinonin, un composé naturel doté d'une activité antibactérienne, a été identifiée comme un inhibiteur puissant de la peptide déformylase, présentant une très forte affinité pour son site actif. Des études expérimentales ont montré que cette enzyme constitue une cible moléculaire pertinente pour le développement de nouveaux agents antibactériens (Chen *et al*., 2000).

Dans cette perspective, la recherche de nouveaux inhibiteurs de la peptide déformylase représente une voie prometteuse pour lutter contre les infections à *H. pylori*. L'utilisation des approches *in silico*, notamment le criblage virtuel par docking moléculaire et l'évaluation des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques, permet d'identifier et de sélectionner efficacement des composés susceptibles d'interagir avec le site actif de l'enzyme. Ces stratégies contribuent ainsi à accélérer le processus de découverte de nouvelles molécules thérapeutiques capables de répondre au défi croissant de la résistance bactérienne (Cai *et al*., 2006).

C'est dans cette optique que s'inscrit le présent travail, dont l'objectif est d'identifier, par criblage virtuel basé sur le docking moléculaire et le filtrage ADME-Tox, de nouveaux inhibiteurs potentiels de la peptide déformylase de *H. pylori*.

Ainsi, la problématique centrale de cette étude peut être formulée comme suit :

Dans quelle mesure le criblage virtuel par docking moléculaire, couplé au filtrage ADME-Tox, permet-il d'identifier de nouveaux inhibiteurs potentiels de la peptide déformylase de *H. pylori*, dotés de propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques compatibles avec un usage thérapeutique ?

Chapitre I :

Helicobacter pylori

I. Généralité

Helicobacter pylori est une bactérie reconnue comme un agent carcinogène chez l'homme, pouvant entraîner des adénocarcinomes gastriques. Elle constitue également la principale cause de gastrites et d'ulcères gastroduodénaux à l'échelle mondiale. Cette bactérie se développe dans la couche de mucus recouvrant la muqueuse gastrique, ce qui la protège des sécrétions acides de l'estomac. Par ailleurs, plusieurs facteurs facilitent sa colonisation de la muqueuse gastrique, notamment la production d'uréase, sa motilité et sa capacité d'adhérence (Doubabi-,2025).

II. Caractères généraux sur *H. pylori*

II.1. Classification

La classification actuelle de *H. pylori* la place dans le règne des *Bacteria,* la division des *Proteobacteria*, la classe des *Epsilonproteobacteria*, l'ordre des *Campylobacterales*, la famille des *Helicobacteraceae,* le genre *Helicobacter* et l'espèce *Helicobacter pylori* (Garrity *et al.*, 2005).

II.2. Caractères bactériologiques, biochimiques et génotypiques de *H. pylori*

H. pylori est une bactérie microaérophile se développant à 37°C et nécessitant des milieux de culture enrichis ; ses colonies sont petites, rondes et luisantes (Lin *et al.,* 1994 ; Elios *et al.,* 2005, CherkaouiMalki, 2018 ; Raaf, 2018). Elle possède plusieurs enzymes (uréase, catalase, oxydase, nitrate réductase) favorisant sa colonisation, mais reste asaccharolytique et chimioorganotrophe (Gueneau *et al.,* 2002; Ferrand, 2009 ;Bessede, 2012 ; CherkaouiMalki, 2018). Son génome est très variable, avec un fort taux de mutation et de recombinaison, ce qui facilite son adaptation ainsi que le développement de résistances aux antibiotiques (Leclerc, 2006; Guyane et Bastaraud, 2017).

II.3. Morphologie et mobilité

H. pylori est un bacille hélicoïdal à Gram négatif, présentant une forme spiralée, mesurant de 3 à 5 µm de long pour environ 1 µm de diamètre. Cette bactérie se déplace grâce à 4 à 6 flagelles polaires engainés (Ferrand, 2009). Après isolement par culture *in vitro,* sa morphologie peut varier et adopter des formes bacillaires notamment en U, en C ou en O (MiendjeDeyi, 2011).

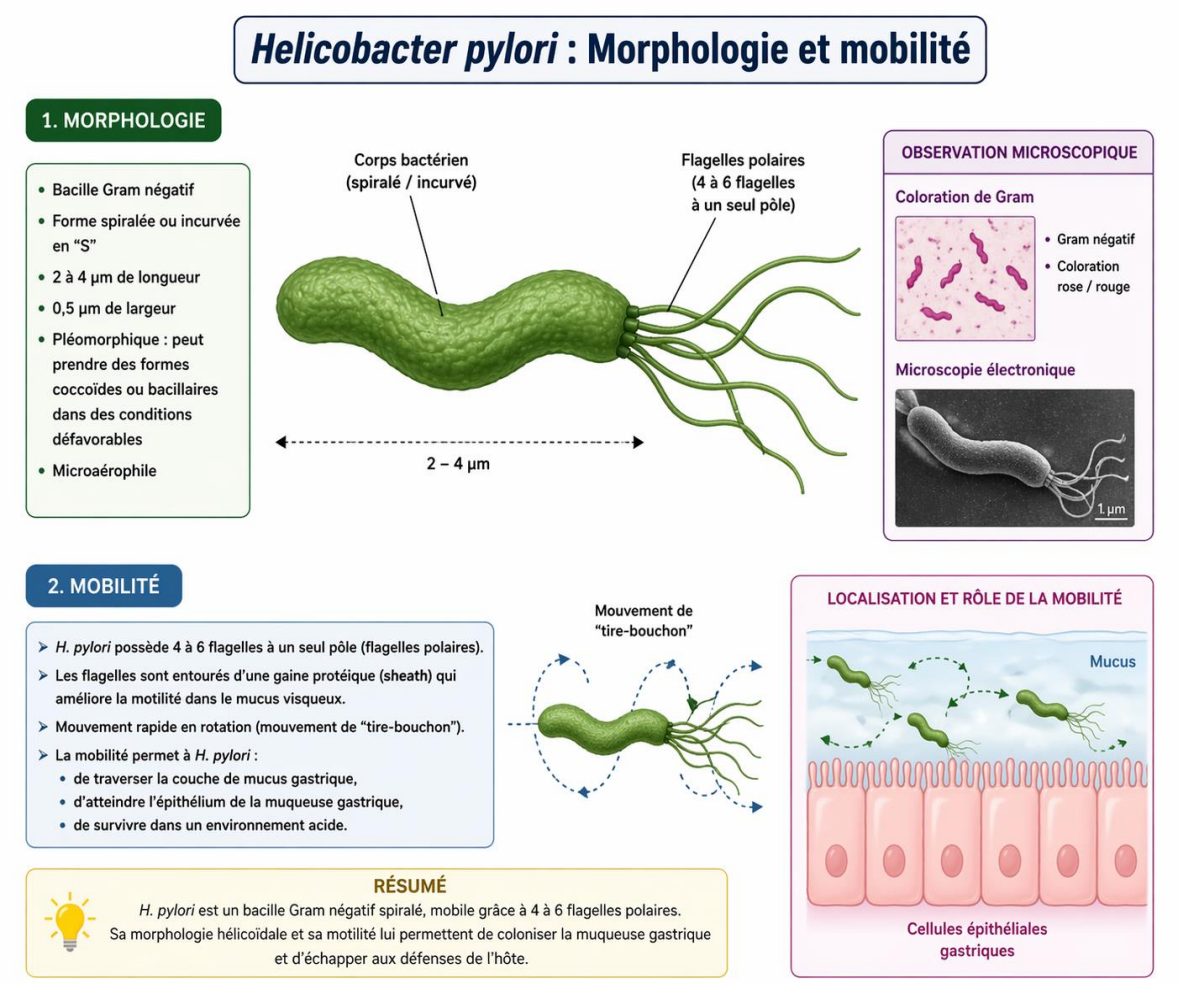


Figure I.1 . Représentation schématique de la morphologie et de la mobilité de *H. pylori* (MiendjeDeyi, 2011).

III. Physiopathologie de l'infection

H. pylori se localise naturellement au niveau du pylore, mais peut également coloniser d'autres régions de l'estomac. Elle survit à l'acidité gastrique grâce à son uréase, enzyme qui hydrolyse l'urée en ammoniac, permettant ainsi de neutraliser localement l'acidité. Grâce à ses flagelles, la bactérie pénètre dans le mucus gastrique, s'y multiplie et échappe au système immunitaire, ce qui lui permet de persister pendant plusieurs années et d'induire une inflammation chronique de la muqueuse gastrique (De Korwin, 1993 ; Fauchere, 1994; Trouillas, 2010).

IV. Facteur de virulence

H. pylori possède plusieurs facteurs essentiels à sa survie dans l'environnement gastrique, regroupés en trois catégories :

IV.1. Facteurs de colonisation

Sa mobilité et sa morphologie spiralée facilitent la colonisation de la muqueuse gastrique. Les LPS, porteurs d'antigènes Lewis, permettent à la bactérie d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte, tandis que l'uréase neutralise l'acidité gastrique, favorisant l'implantation et la survie de la bactérie. Les adhésines BabA et SabA, multiples et très variables, assurent une adaptation continue face à la réponse immunitaire intense (Zacharie, 2014 ; Libbey, 2017).

IV.2. Facteurs de persistance

Des enzymes antioxydantes telles que la catalase, l'alkyl hydroperoxyde réductase, la protéine NapA et la thioredoxine permettent à la bactérie de réduire le stress oxydatif et de survivre dans l'environnement hostile de l'estomac (Zacharie, 2014).

IV.3. Facteurs de pathogénicité

Ll'îlot de pathogénicité *cag* permet la translocation de la protéine *CagA* dans les cellules épithéliales et induit la production d'IL-8, participant également à l'adhésion bactérienne (Lacave *et al.*, 2005; Cover et Blaser, 2009). La cytotoxine vacuolisante *VacA* est responsable de la formation de canaux membranaires, de la perturbation des fonctions endosomales et lysosomales, de l'apoptose et exerce un effet immunosuppresseur (Isomoto *et al.*, 2010)

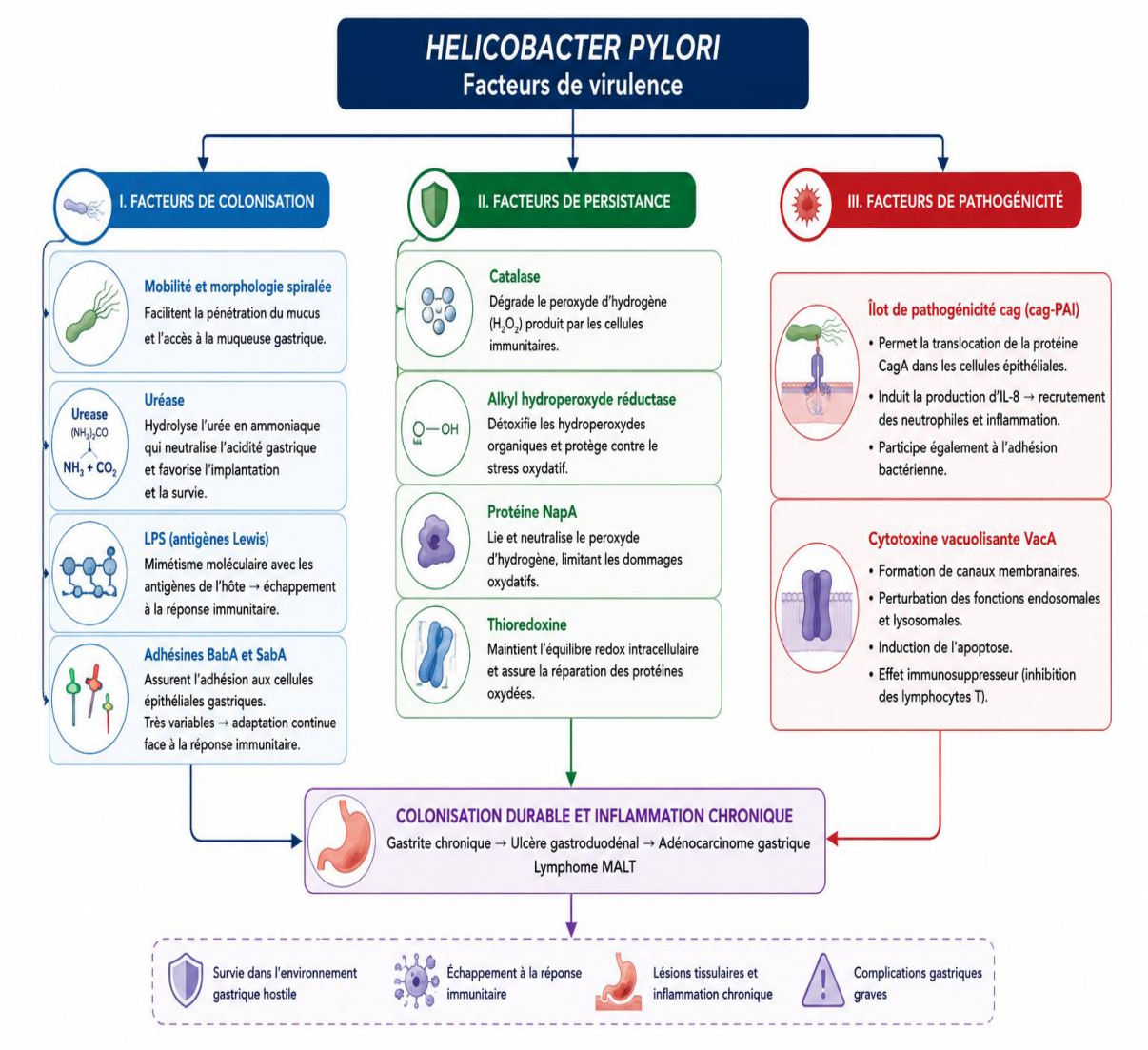


Figure I.2. Représentation schématique des principaux facteurs de virulence de *H. pylori* et de leur rôle dans la colonisation, la persistance et l'induction des lésions gastriques. Adapté de Lacave et al. (2005), Cover et Blaser (2009), Isomoto *et al.* (2010), Zacharie (2014), et Libbey (2017).

V. Mode de transmission

V.1. Transmission oro-orale

La transmission oro-orale de *H. pylori* se fait par la salive, de manière accidentelle ou temporaire, notamment lors de régurgitations du contenu gastrique ou de vomissements (Zine-Charaf, 2007).

V.2. Transmission féco-orale

La bactérie peut également se transmettre d'un hôte à un autre via les selles, principalement par contact direct avec les mains en cas d'hygiène déficiente (CherkaouiMalki, 2018).

V.3. Transmission par les sources d'eau et les aliments

H. pylori a été détectée dans l'eau des canaux d'égouts, ce qui constitue une voie possible de transmission via l'eau et les aliments (Guyane et Bastaraud, 2017).

V.4. Transmission iatrogène

La contamination peut également survenir à partir d'appareils médicaux contaminés, tels que les endoscopes, lorsqu'ils ne sont pas correctement désinfectés entre deux patients (CherkaouiMalki, 2018)

VI. Maladies liées à l'infection par *H. pylori*

Les infections à *H. pylori* non diagnostiquées peuvent entraîner des inflammations chroniques, notamment une gastrite non atrophique évoluant vers une gastrite atrophique, c'est-à-dire une inflammation de la muqueuse gastrique. Cette gastrite chronique est souvent associée au développement de cancers gastriques, notamment les adénocarcinomes et les lymphomes de type MALT. Environ 10 % des individus infectés développent des ulcères gastroduodénaux, tandis que l'adénocarcinome gastrique survient chez près de 3 % des patients. *H. pylori* est également associée à plusieurs troubles gastriques, dont la dyspepsie, caractérisée par des douleurs ou un inconfort abdominal. Elle est considérée comme l'un des deux principaux facteurs de risque du développement de l'ulcère gastroduodénal. De plus, l'infection à *H. pylori* est fortement impliquée dans le cancer gastrique, représentant plus de 90 % des cas de cancer gastrique non cardial (Asghar Ali et AlHussaini, 2024).

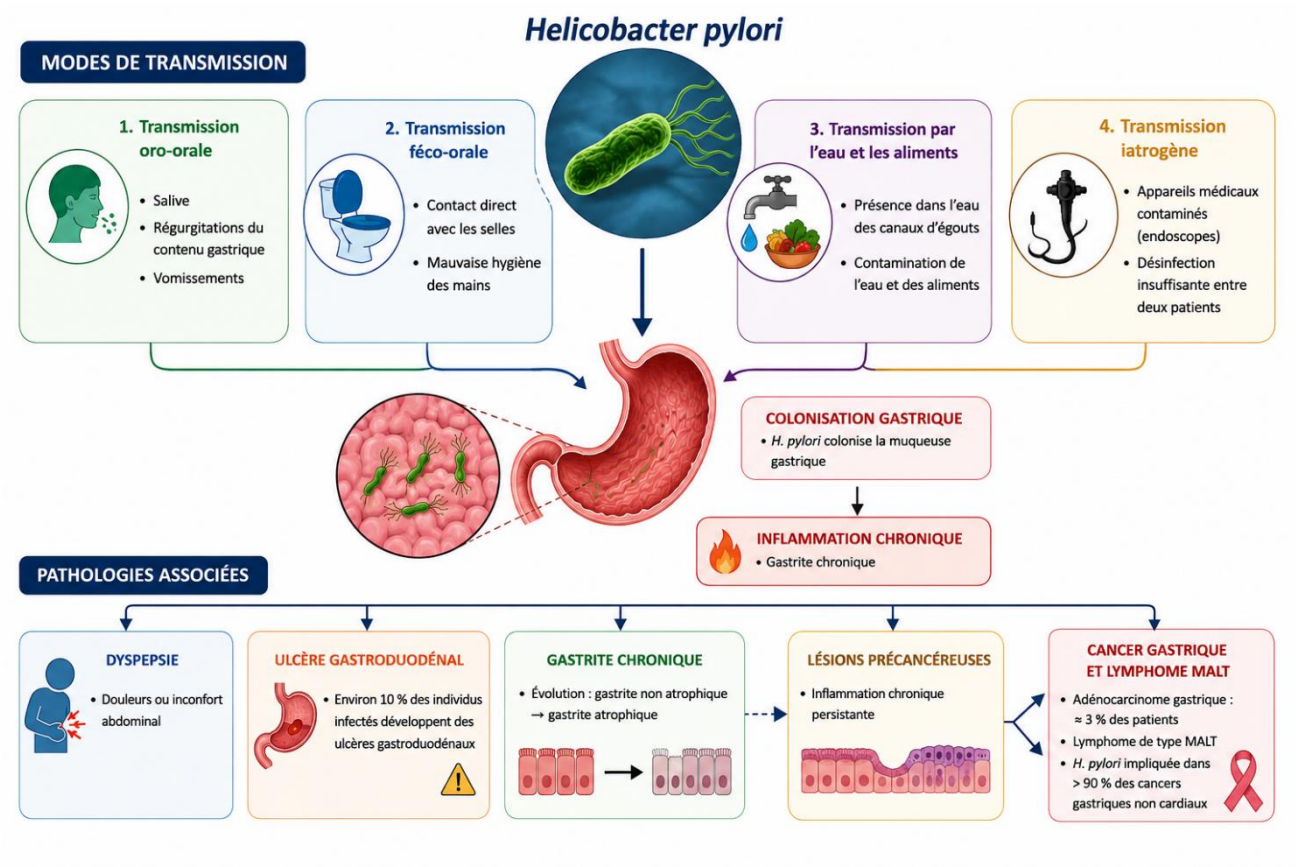


Figure I.3. Principales voies de transmission de *H. pylori*, colonisation gastrique et progression des pathologies associées (d'après Zine-Charaf, 2007 ; Guyane et Bastaraud, 2017 ; Cherkaoui-Malki, 2018 ; Asghar Ali et AlHussaini, 2024).

VII. Diagnostic

Le diagnostic de l'infection à *H. pylori* repose sur une stratégie «test-and-treat», étant donné que la majorité des infections sont asymptomatiques mais peuvent évoluer vers une gastrite chronique, des ulcères gastro-duodénaux, un lymphome MALT ou un cancer gastrique. Le dépistage est recommandé en cas d'ulcère gastro-duodénal, de dyspepsie, de lymphome MALT et de cancer gastrique, en particulier en présence de signes d'alarme tels que des vomissements, une hémorragie digestive, une dysphagie ou une perte de poids.

Les méthodes diagnostiques comprennent des tests non invasifs, tels que la sérologie (IgG), utile pour le diagnostic initial mais non adaptée au contrôle de l'éradication, le test respiratoire à l'urée, reconnu pour sa haute sensibilité et spécificité et utilisable avant et après traitement, ainsi que le test des antigènes fécaux, également fiable. Les méthodes invasives reposent sur l'endoscopie avec biopsie, suivie d'un examen histologique (l'un des plus précis), du test rapide à l'uréase, de la culture bactérienne (permettant de déterminer la

sensibilité aux antibiotiques malgré une faible sensibilité) et des techniques moléculaires comme la PCR.

Aucun test unique n'étant considéré comme un standard absolu, une approche combinée (par exemple le test rapide à l'uréase associé à l'histologie et à la culture) est recommandée afin d'améliorer la précision diagnostique et de prévenir l'évolution vers des complications graves (Khalid I. AlHussain et Asghar Ali, 2024).

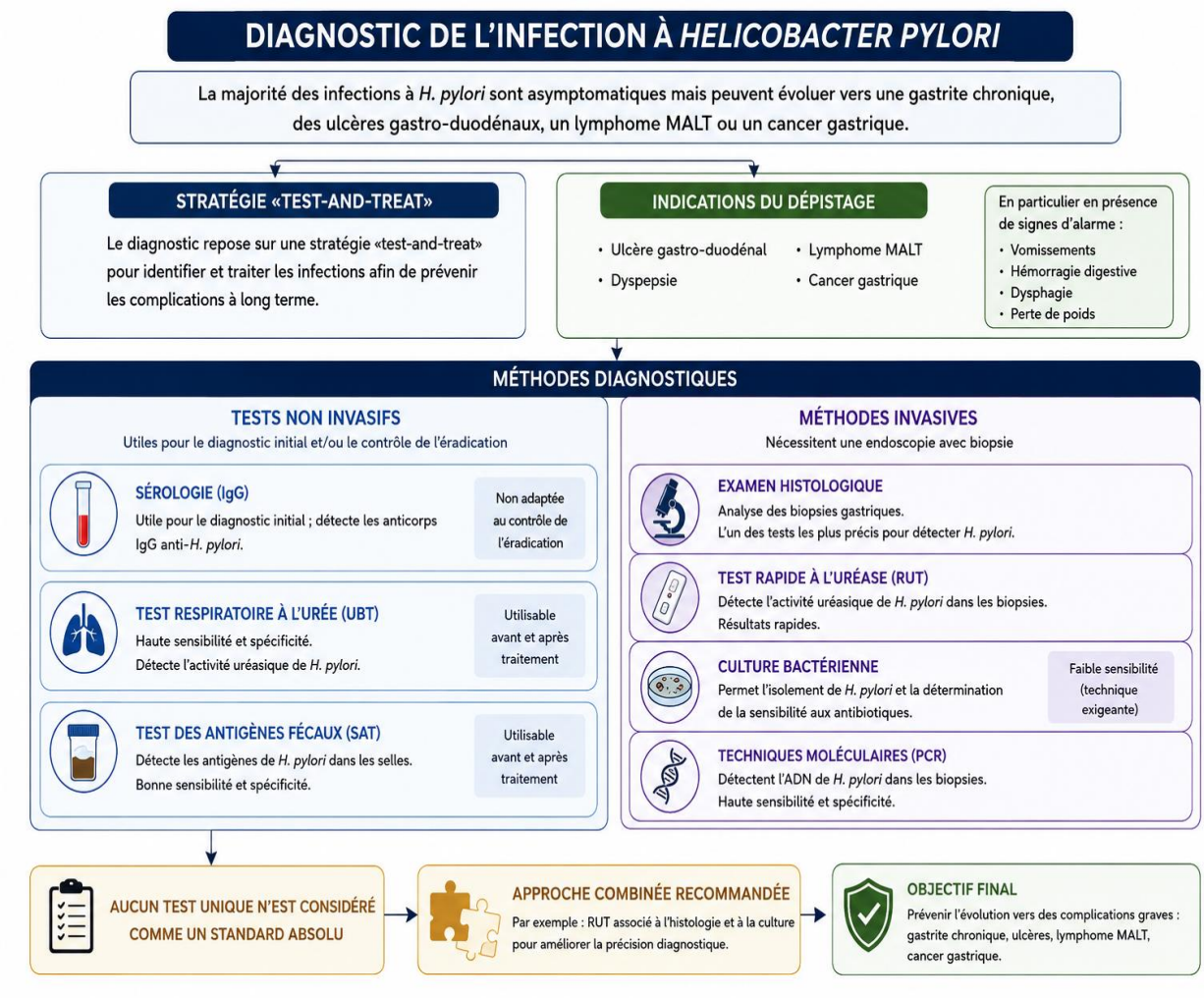


Figure I.4. Schéma récapitulatif des principales méthodes diagnostiques de l'infection à *H. pylori* et de leurs indications cliniques (Khalid I. AlHussain et Asghar Ali, 2024).

VIII. Traitement

VIII.1. Traitement chimique

Pour éradiquer *H. pylori*, on utilise généralement un inhibiteur de la pompe à protons en association avec un ou plusieurs antibiotiques tels que l'amoxicilline, la clarithromycine, le métronidazole, la tétracycline, la lévofloxacine ou la rifampicine, parfois complétés par des sels de bismuth (Raaf, 2018). Ce schéma thérapeutique est notamment utilisé dans des médicaments commerciaux tels que Pylera (Fakhar, 2018). Cependant, le succès thérapeutique peut être limité par le développement de résistances aux antibiotiques ou par une mauvaise observance liée aux effets secondaires, ce qui réduit son efficacité (Raaf, 2018).

Dans ce contexte, la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques devient essentielle. Parmi celles-ci, l'enzyme Peptide deformylase (PDF) constitue une cible prometteuse pour le développement de nouveaux agents antibactériens. Cette enzyme joue un rôle clé dans la synthèse des protéines bactériennes, en assurant l'élimination du groupement formyle de la N-formylméthionine au début des chaînes polypeptidiques naissantes, une étape indispensable à la maturation des protéines (Sangshetti *et al.,* 2015). Ce mécanisme est spécifique aux bactéries et n'existe pas sous la même forme dans les cellules humaines, ce qui confère aux inhibiteurs de la PDF une grande sélectivité (Leeds et Dean, 2006).

Par ailleurs, plusieurs études ont montré que des composés tels que les hydroxamates et l'actinonin sont capables d'inhiber efficacement cette enzyme, entraînant ainsi une inhibition de la croissance bactérienne (Sangshetti *et al.,* 2015). De plus, les approches informatiques, notamment le docking moléculaire, ont permis d'accélérer l'identification de nouveaux inhibiteurs potentiels en analysant les interactions ligand–récepteur (Leeds et Dean, 2006). Ainsi, la PDF représente une cible stratégique majeure pour le développement de thérapies innovantes et efficaces contre *H. pylori* (Cai *et al.,* 2006).

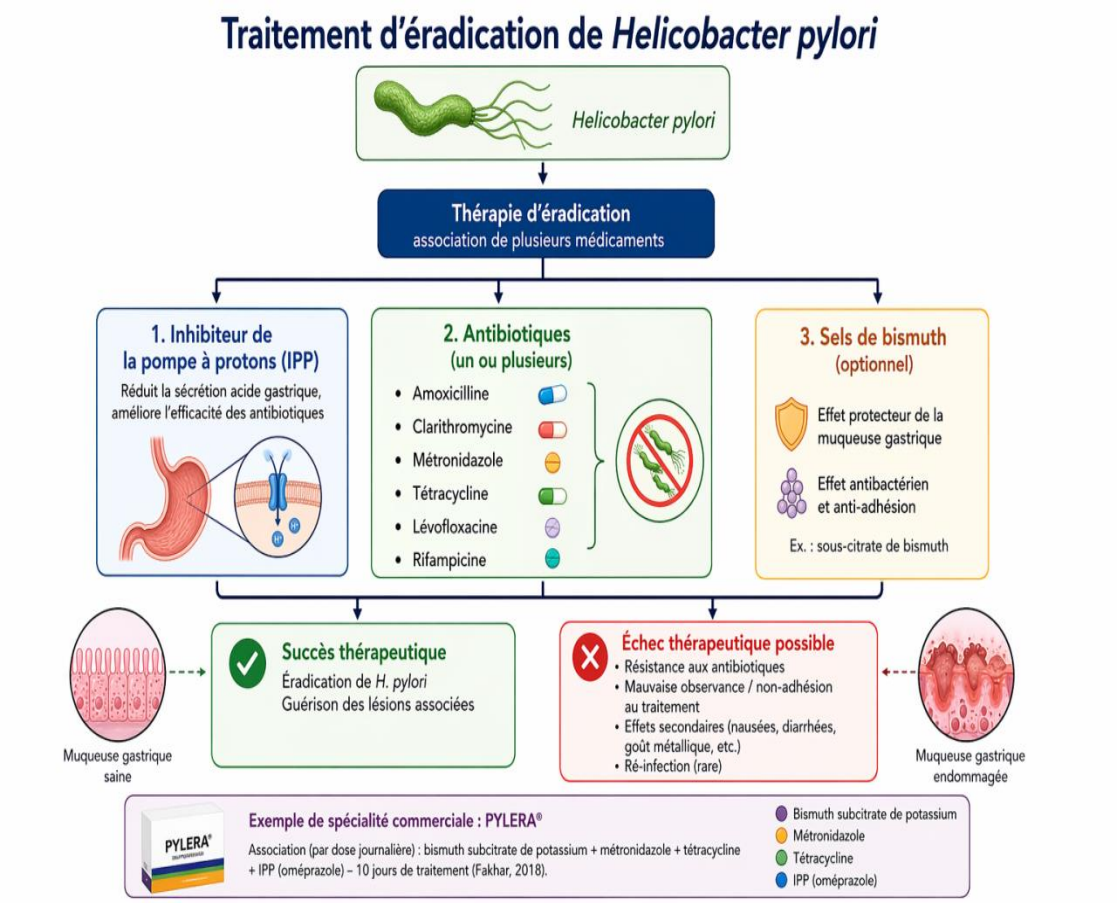


Figure I.5. Schéma du traitement d'éradication de *H. pylori* basé sur l'association IPP–antibiotiques. Adapté de Raaf(2018), Fakhar (2018), Sangshetti et al. (2015), Leeds et Dean (2006) et Cai et al. (2006).

Chapitre II :

Peptide déformylase

La peptide déformylase est une enzyme bactérienne essentielle qui intervient dans les étapes post-traductionnelles précoces de la synthèse protéique. En raison de son caractère indispensable au métabolisme bactérien et de son absence chez les cellules des mammifères, cette enzyme suscite un intérêt croissant en tant que cible moléculaire de choix pour le développement de nouveaux agents antibactériens. Les sections suivantes présentent son mécanisme d'action, sa définition, sa classification phylogénétique, ainsi que les caractéristiques structurales de son site actif et les mécanismes de résistance qui lui sont associés.

I. Définition

La peptide déformylase est une métalloenzyme indispensable qui catalyse l'élimination du groupement formyle en position N-terminale des protéines néosynthétisées chez les bactéries, ainsi que dans certains organites de cellules eucaryotes tels que les mitochondries et les chloroplastes. Elle se présente sous plusieurs isoformes structuralement et phylogénétiquement distinctes selon l'organisme considéré, et peut coordonner différents ions métalliques dans son site actif.

Du point de vue pharmacologique, la PDF représente une cible de premier plan pour l'élaboration de nouvelles molécules antibactériennes aux mécanismes d'action innovants. Toutefois, les inhibiteurs actuellement connus, présentent une toxicité systémique incompatible avec un usage clinique, ce qui justifie la recherche active de composés inhibiteurs dotés d'une meilleure sélectivité et d'un profil de sécurité acceptable (Grzela et al., 2017).

II. Mécanisme d'action

Chez les bactéries, l'initiation de la synthèse protéique repose sur un acide aminé particulier, la méthionine formylée, produite par l'enzyme transformylase codée par le gène *fmt* qui transfère un groupement formyle (-CHO) à la méthionine initiatrice. Cette forme modifiée de méthionine est spécifiquement requise pour amorcer la traduction et demeure incorporée à la chaîne peptidique naissante tout au long de l'élongation.

Afin d'obtenir une protéine mature et fonctionnelle, ce groupement formyle doit être éliminé en post-traduction par la PDF, au cours d'une réaction d'hydrolyse spécifique. L'exclusivité de ce cycle formylation-déformylation au règne procaryote absent des cellules

eucaryotes des mammifères confère à la PDF un profil de cible thérapeutique hautement sélectif, limitant ainsi les risques de toxicité pour l'hôte (Dubreuil, 2002).

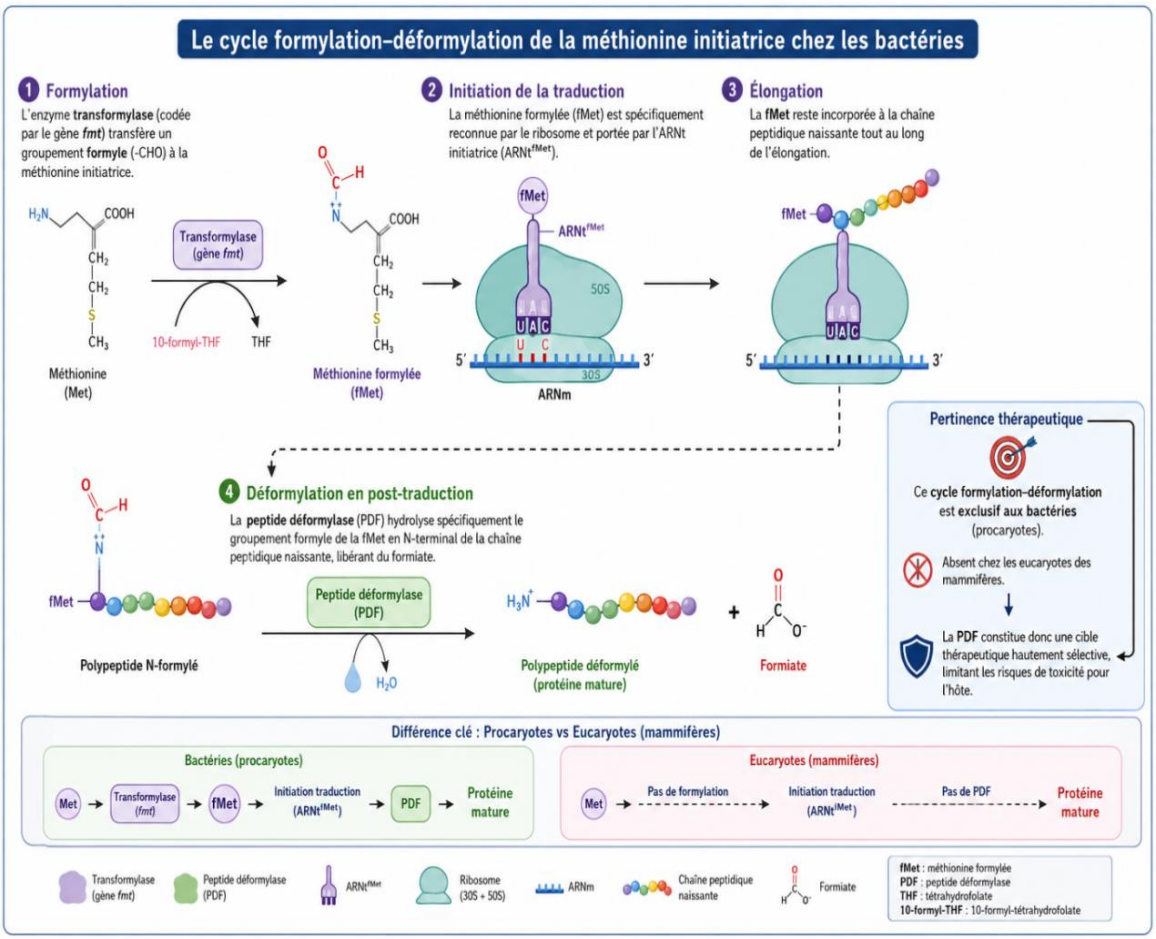


Figure II.1. Mécanisme d'action de la PDF dans la maturation protéique bactérienne (Dubreuil, 2002)

III. Classification de la peptide déformylase

Les analyses phylogénétiques comparatives des séquences de PDFs bactériennes et de leurs homologues eucaryotes ont conduit à l'établissement d'une classification en trois grandes classes : PDF1, PDF2 et PDF3. La répartition de ces classes selon les grands domaines du vivant se présente comme suit :

- Les eucaryotes possèdent exclusivement des PDFs de classe I (PDF1).
- Les procaryotes peuvent exprimer des PDFs appartenant à la classe I ou à la classe II (PDF1 ou PDF2).

- Les archées et les trypanosomatides sont caractérisés par des PDFs de classe III (PDF3).

III.1. Classe I (PDF1)

La classe I se subdivise en deux sous-classes fonctionnellement et localement distinctes :

- **PDF1A :** Cette sous-classe regroupe les PDFs homologues aux formes eucaryotes, adressées sélectivement vers les mitochondries. Contrairement aux PDF1B, qui sont spécifiques aux végétaux, les PDF1A sont largement distribuées chez la majorité des organismes eucaryotes.
- **PDF1B :** Cette sous-classe comprend les PDFs localisées dans les mitochondries et les chloroplastes des plantes, ainsi que celles de nombreuses bactéries, principalement les bactéries à Gram négatif.

III.2. Classe II (PDF2)

La classe II est constituée exclusivement de PDFs propres aux bactéries à Gram positif. Les séquences de type 2 présentent un taux de similarité compris entre 30 % et 36 % avec les séquences de type 1, témoignant d'une divergence évolutive notable tout en conservant des motifs fonctionnels essentiels (Merzoug, 2012).

III.3. Classe III (PDF3)

La classe III regroupe les PDFs des archées et des trypanosomatides. Ces enzymes se distinguent par l'absence d'activité déformylase, conséquence de substitutions d'acides aminés au niveau des trois motifs conservés constituant le site catalytique, rendant ces formes enzymatiquement inactives (Merzoug, 2012).

Tableau II.1. : Récapitulatif de la classification de la PDF.

Classe	Organismes	Localisation cellulaire	Activité déformylase
PDF1A	Eucaryotes (majorité)	Mitochondries	Oui
PDF1B	Plantes + Bactéries Gram négatif	Mitochondries / Chloroplastes	Oui
PDF2	Bactéries Gram positif	Cytoplasme	Oui
PDF3	Archées + Trypanosomatides	Variable	Non

IV. Structure tridimensionnelle

La PDF présente une architecture tridimensionnelle bien définie, comprenant trois hélices α principales, trois régions en feuillets β antiparallèles, ainsi qu'une hélice caractéristique de type 3-10. L'ion métallique du site actif est coordonné selon une géométrie tétraédrique distordue par les résidus Cys90, His132 et His136, ainsi qu'une molécule d'eau servant de quatrième ligand — configuration remarquablement conservée à travers les espèces bactériennes (Jain *et al.*, 2005).

Bien que la PDF partage certaines similitudes structurales avec les métalloprotéases de type thermolysine, elle s'en distingue de manière fondamentalement par la présence d'une cystéine en tant que troisième ligand de coordination du métal, remplaçant le glutamate ou l'histidine habituellement observés dans cette famille enzymatique. Par ailleurs, les résidus Glu133 et Gln50 jouent un rôle déterminant dans le transfert de protons au cours de la catalyse, facilitant l'hydrolyse du groupement N-formyle et soulignant l'importance de l'architecture précise du site actif dans l'activité enzymatique (Jain *et al.*, 2005).

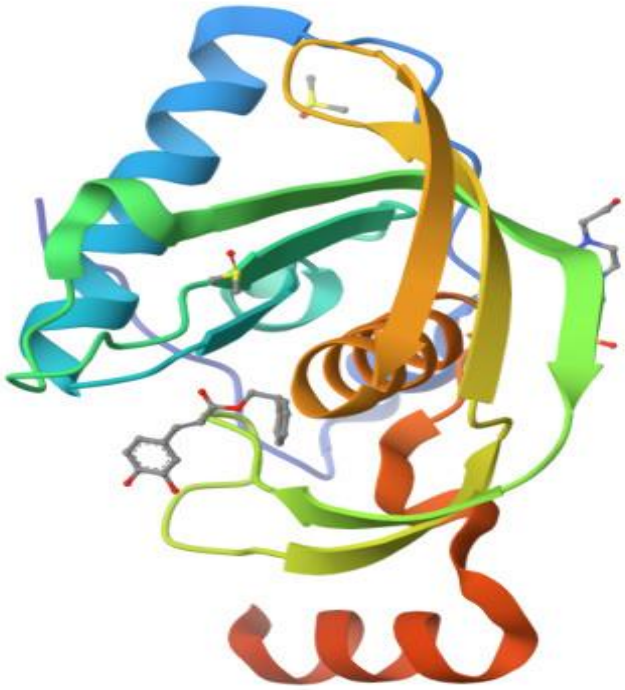


Figure II.2. Structure cristallographique de la PDF de *H. pylori. https://www.rcsb.org/*

V. Site actif et poches de liaison

Le site actif de la PDF est défini par trois régions séquentielles conservées chez les eubactéries : GΦGΦAAxQ, EGCΦS et HEΦDH (où Φ désigne un acide aminé hydrophobe et x un résidu quelconque), formant collectivement le cœur catalytique de l'enzyme. L'ion métallique est coordonné de façon tétraédrique par deux histidines du motif HEΦDH, une cystéine du motif EGCΦS et une molécule d'eau catalytiquement active. La glutamine du motif GΦGΦAAxQ et le glutamate du motif HEΦDH, tous deux hautement conservés, participent directement à la reconnaissance du groupement formyle du substrat.

Le site actif se subdivise en trois poches de liaison distinctes S1', S2' et S3' dont les propriétés structurales et chimiques présentent des degrés variables de conservation interspécifique. La poche S1', de nature hydrophobe, accueille spécifiquement la chaîne latérale de la méthionine du substrat et présente une géométrie conservée entre les espèces. La poche S2' est légèrement plus large dans les PDF de type 1 que dans celles de type 2, tout en conservant des propriétés physicochimiques globalement similaires. En revanche, la poche S3' affiche une variabilité structurale et chimique marquée selon les espèces, offrant ainsi un

espace exploitable pour le développement d'inhibiteurs à spectre étroit et à haute sélectivité (Merzoug, 2012).

Cette hétérogénéité des poches de liaison constitue un atout majeur pour la conception rationnelle de molécules inhibitrices : les inhibiteurs à large spectre ciblent les régions conservées (S1'), tandis que les inhibiteurs spécifiques à certaines espèces exploitent la diversité des poches S2' et S3'.

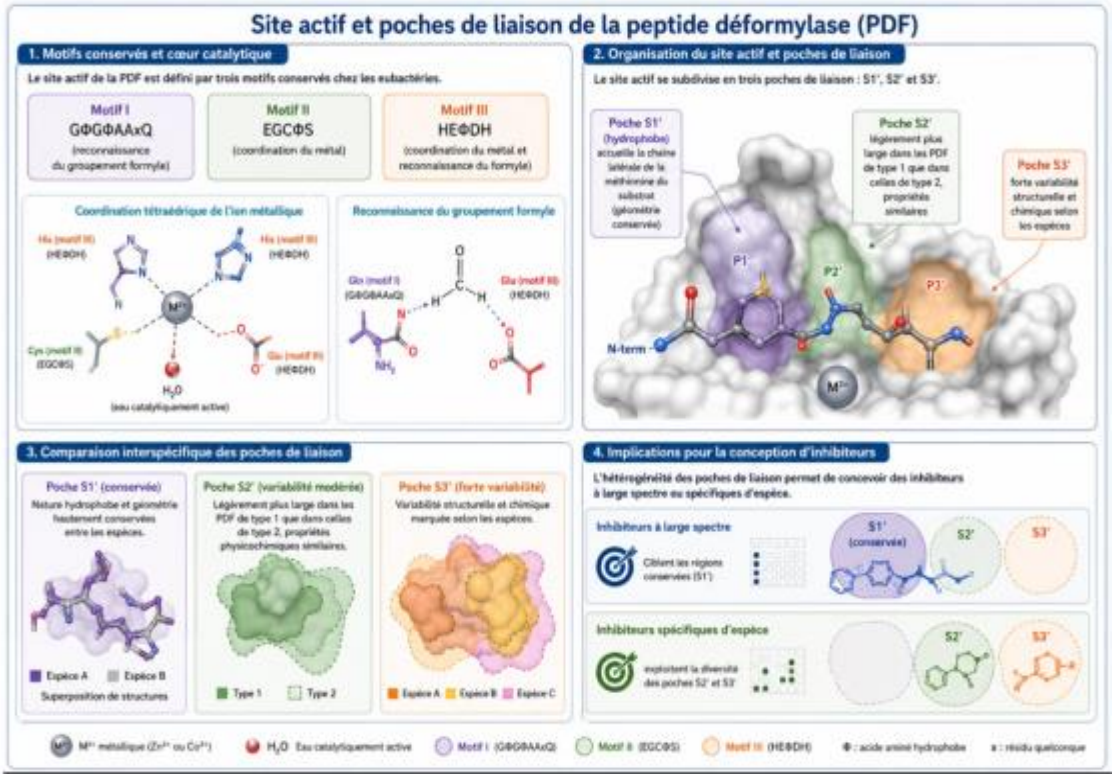


Figure II.3. : Représentation schématique du site actif, des poches de liaison et des déterminants structuraux impliqués dans la reconnaissance des inhibiteurs de la PDF. (Adapté de Merzoug, 2012).

VI. Les inhibiteurs de la peptide déformylase

La PDF est une enzyme essentielle à la survie bactérienne, ce qui en fait une cible thérapeutique particulièrement intéressante pour le développement de nouveaux agents antibactériens. Les inhibiteurs de la PDF présentent une activité puissante contre un large spectre de bactéries, notamment *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus viridans*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Bacteroides fragilis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Helicobacter*

pylori et *Pseudomonas aeruginosa*, ainsi que plusieurs bactéries anaérobies. Tous les inhibiteurs de la PDF décrits à ce jour possèdent un groupement capable de se coordonner avec l'ion métallique présent dans le site catalytique de l'enzyme. Les futurs inhibiteurs devront conserver un groupement hydrophobe en position P1', mimant la chaîne latérale de la méthionine du substrat afin d'occuper la poche S1' et de renforcer l'affinité de liaison. En revanche, les poches S2' et S3' offrent davantage de possibilités de modifications structurales. Les inhibiteurs actuels de la PDF se distinguent principalement par les groupements occupant ces poches, lesquelles constituent des éléments déterminants pour la sélectivité et l'optimisation des futurs inhibiteurs (Merzoug. 2012).

VI.1. Inhibiteur naturel

Parmi les inhibiteurs de la PDF identifiés à ce jour, l'actinonin représente le prototype naturel le plus étudié. Il s'agit d'un antibiotique naturel isolé pour la première fois en 1962 à partir de bactéries actinomycètes, présentant une activité antibactérienne significative contre un large spectre d'espèces bactériennes. La caractérisation structurale de cette molécule a montré que son groupement hydroxamate est indispensable au maintien de l'activité antibactérienne, tandis que le squelette pseudopeptidique tolère différentes modifications structurales.

Les premières études ont suggéré que l'actinonin pouvait interférer avec la synthèse de l'ARN, bien que cette hypothèse n'ait pas été confirmée de manière concluante. Outre ses propriétés antibactériennes, cette molécule inhibe également plusieurs aminopeptidases, notamment l'alanyl-aminopeptidase séminale humaine, et présente un potentiel antitumoral intéressant. Des travaux ultérieurs ont démontré que l'activité antibactérienne de l'actinonin résulte principalement d'une inhibition puissante et réversible de la PDF, entraînant l'accumulation intracellulaire de peptides contenant de la formyl-méthionine non déformylée, ce qui conduit finalement à l'inhibition de la croissance et de la prolifération bactériennes *(Chen et al., 2000).*

VI.2.Inhibiteurs synthétiques

VI.2.1.BB-83698

Le BB-83698 est le premier inhibiteur de la PDF à avoir atteint le stade des essais cliniques, suivi peu après par le LBM415. Son activité antibactérienne repose sur une inhibition puissante de cette métalloenzyme bactérienne impliquée dans la maturation des protéines. Le BB-83698 a démontré une activité antibactérienne à large spectre, particulièrement contre les streptocoques et *Moraxella catarrhalis*, y compris plusieurs souches résistantes aux antibiotiques conventionnels. Aucune résistance croisée avec les classes d'antibiotiques actuellement disponibles n'a été observée, soulignant ainsi son intérêt thérapeutique en tant qu'agent antibactérien doté d'un mécanisme d'action original*(*Lofland *et al.,* 2004).

VI.2.2. LBM415

Le LBM415, également connu sous le nom de NVP PDF-713, est l'un des premiers inhibiteurs de la PDF développés pour une administration orale et parentérale dans le traitement des infections respiratoires, cutanées et des tissus mous causées par des bactéries Gram-positives et Gram-négatives sensibles. Sur le plan chimique, il appartient à la famille des acides hydroxamiques de N-alkylurée, représentant ainsi une nouvelle classe structurale d'agents antimicrobiens.

L'inhibition de la PDF par le LBM415 perturbe le processus de maturation protéique bactérienne, entraînant l'accumulation de protéines non déformylées et l'arrêt de la croissance bactérienne. Ce mécanisme explique son activité principalement bactériostatique (Fritsche *et al.,* 2005).

VI.2.3.GSK1322322

Le GSK1322322 est un antibiotique innovant appartenant à la famille des hydrazinopyrimidines, développé grâce à une approche de conception rationnelle basée sur la structure. Il agit par inhibition sélective de la PDF et présente plusieurs propriétés pharmacologiques particulièrement intéressantes.

Cet inhibiteur ne présente aucune résistance croisée avec les antibiotiques actuellement disponibles et conserve une activité importante contre des pathogènes résistants aux bêta-lactamines, aux macrolides et aux quinolones. Son spectre d'activité couvre plusieurs pathogènes communautaires majeurs, notamment le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline et le *Streptococcus pneumoniae* multirésistant.

Par ailleurs, le GSK1322322 présente un effet marqué à des concentrations inférieures à la concentration minimale inhibitrice contre la majorité des souches de *S. aureus*. *(*Naderer *et al.*, 2013*)*.

Ainsi, les inhibiteurs de la PDF représentent une classe prometteuse d'agents antibactériens capables de contourner certains mécanismes classiques de résistance bactérienne. Malgré des résultats précliniques et cliniques encourageants, l'optimisation de leur sélectivité, de leurs propriétés pharmacocinétiques et de leur sécurité demeure nécessaire afin de favoriser leur développement thérapeutique futur.

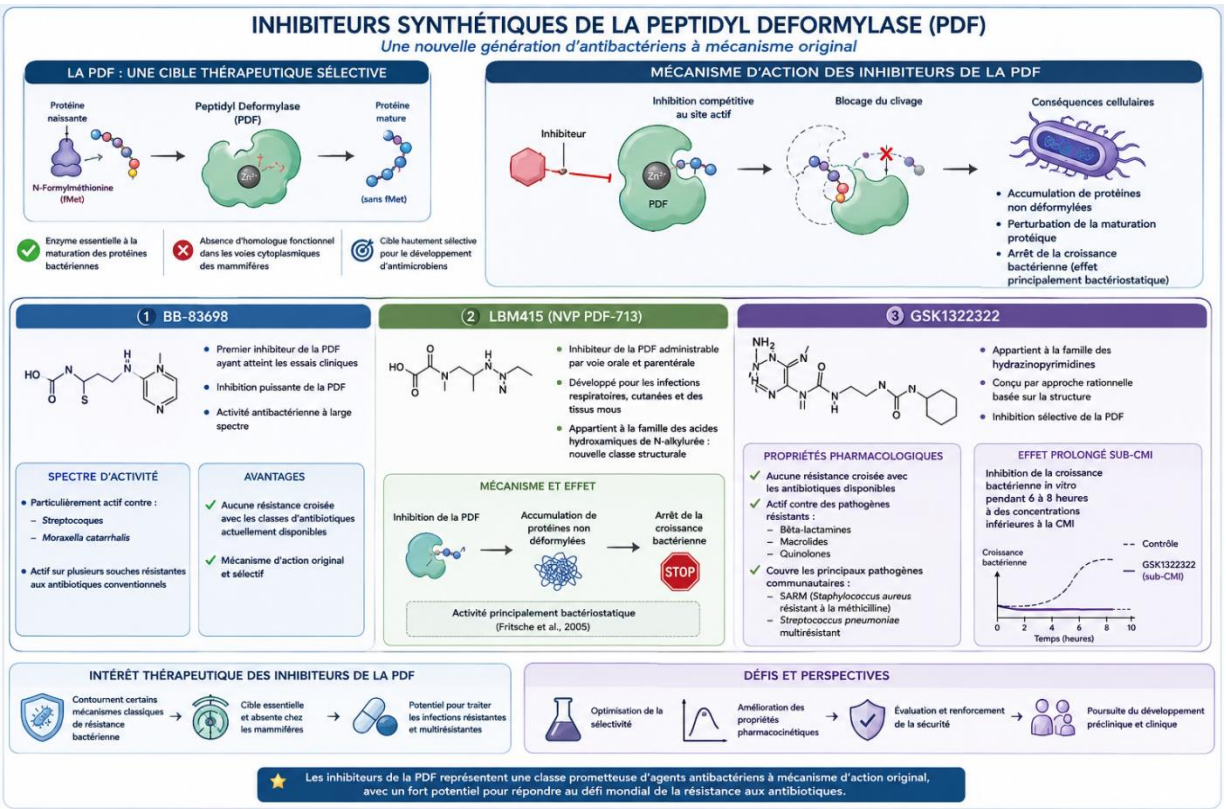


Figure II.4. Représentation schématique des principaux inhibiteurs synthétiques de la PDF (BB-83698, LBM415 et GSK1322322). (Adapté de Lofland *et al.*, 2004 ; Fritsche *et al.*, 2005; Naderer *et al.*, 2013).

En conclusion, la PDF réunit les caractéristiques d'une cible thérapeutique idéale : une distribution ubiquitaire chez les bactéries, une absence chez les mammifères, une structure tridimensionnelle bien caractérisée, propice à l'exploration computationnelle par docking moléculaire, ainsi que des poches de liaison présentant une variabilité exploitable pour la conception d'inhibiteurs sélectifs. La recherche de nouveaux inhibiteurs de la PDF par criblage *in silico*, couplé à l'évaluation des propriétés ADME-Tox, constitue donc une approche scientifiquement fondée et prometteuse dans le contexte actuel de lutte contre la résistance aux antibiotiques.

Chapitre III :

Docking moléculaire

Définition

Le docking moléculaire est une technique de simulation informatique visant à prédire l'interaction entre deux molécules, généralement un ligand et une cible biologique telle qu'une protéine ou un ADN, afin de former un complexe stable avec une structure tridimensionnelle optimale (Raval et Ganatra, 2022).

Cette méthode génère différentes conformations possibles de liaison, qui sont ensuite évaluées et classées à l'aide de fonctions de scores basées sur l'énergie de liaison. Cela permet d'identifier les interactions les plus stables et biologiquement pertinentes (Raval et Ganatra, 2022 ; Chaudhary et Tyagi, 2024).

Le docking moléculaire est largement utilisé dans la conception rationnelle de médicaments, le criblage virtuel et l'optimisation des composés principaux. Il facilite la prédiction de l'affinité de liaison, l'analyse des interactions moléculaires, et soutient la découverte de nouveaux candidats médicaments, tout en réduisant les délais et coûts associés au développement pharmaceutique (Chaudhary et Tyagi, 2024).

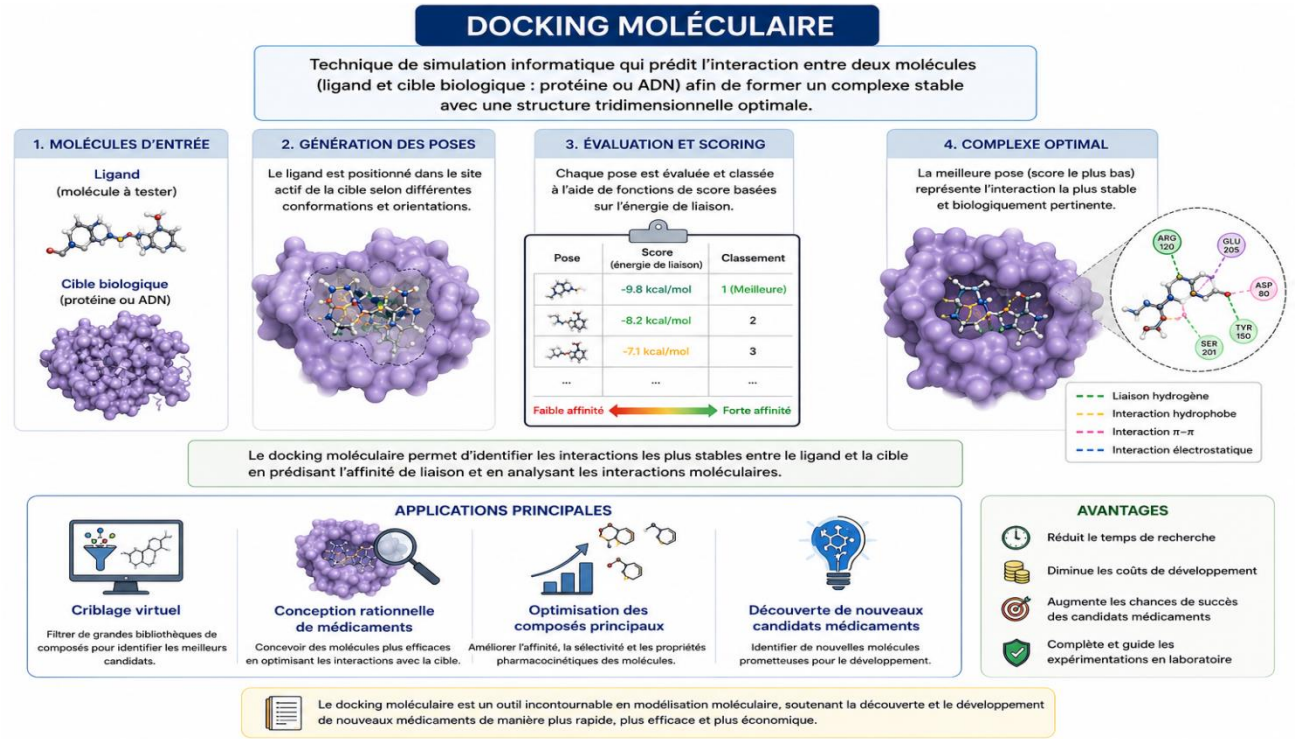


Figure III.1. Représentation schématique du processus de docking moléculaire (Raval et Ganatra, 2022 ; Chaudhary et Tyagi, 2024).

I. Le principe du docking moléculaire

Le principe du docking moléculaire repose sur des approches mathématiques et informatiques visant à identifier la meilleure orientation spatiale entre une petite molécule (ligand) et sa cible biologique (protéine) afin de former un complexe stable, en recherchant la conformation présentant l'énergie libre la plus faible (Raval et Ganatra, 2022).

Cette technique s'appuie sur les concepts fondamentaux de la reconnaissance moléculaire et de la thermodynamique, qui régissent la formation de complexes stables entre un ligand et sa protéine cible. Elle permet de prédire les modes de liaison et les affinités d'interaction en prenant en compte la complémentarité géométrique, les interactions moléculaires, ainsi que les variations énergétiques, notamment celles de l'énergie libre de Gibbs (Vaghela, 2026).

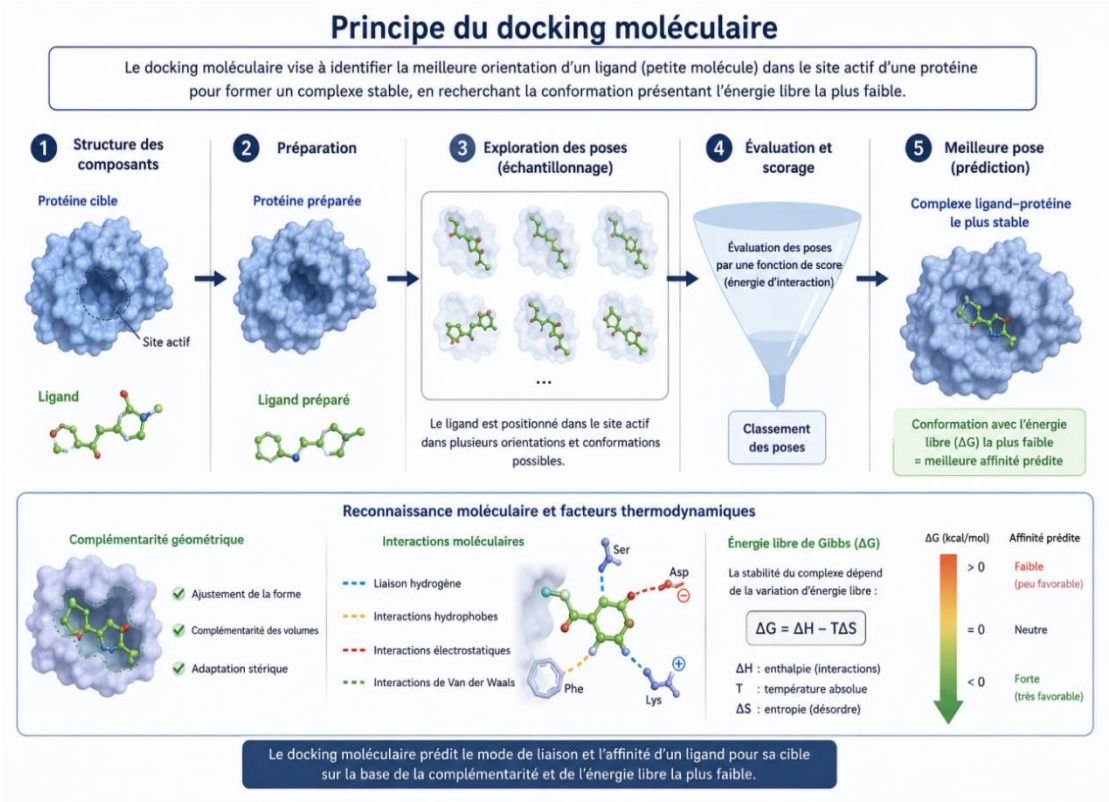


Figure III.2. Schéma illustratif du principe du docking moléculaire(adapté de Raval et Ganatra, 2022 ; Vaghela, 2026)

I.1. Algorithme de recherche

Les algorithmes de recherche en docking moléculaire explorent l'espace conformationnel des ligands au sein du site de liaison du récepteur, en générant diverses

modes de liaison possibles tout en prenant en compte les degrés de liberté liés à la translation, la rotation et à la conformation (Leach *et* Gillet, 2007).

Étant donné que la recherche exhaustive nécessite d'importantes ressources informatiques, des stratégies optimisées sont indispensables. Ces méthodes se répartissent en approches systématiques, stochastiques (telles que les algorithmes génétiques et la méthode de Monte Carlo) et basées sur la simulation (comme la dynamique moléculaire) (Moitessier *et al.*, 2009). Chaque approche représente un compromis entre précision et coût de calcul, et le choix de l'algorithme a un impact majeur sur les performances du docking (Bielska *et al.*, 2011).

I.2. Fonction de score

Les fonctions de score sont des modèles mathématiques employés en docking moléculaire et dans le criblage virtuel pour estimer l'affinité de liaison entre un ligand et son récepteur. Elles évaluent l'énergie d'interaction en se basant sur des paramètres physico-chimiques clés tels que les interactions électrostatiques, les liaisons hydrogène, les forces de van der Waals et les interactions hydrophobes (Leach et Gillet, 2007 ; Bielska *et al.*, 2011).

Leur principal objectif est de classer les différentes poses des ligands afin d'identifier le mode de liaison le plus favorable. Ces fonctions de score sont généralement regroupées en trois grandes catégories : les fonctions basées sur les champs de force, les fonctions empiriques et les fonctions basées sur la connaissance (Huang *et al.*, 2010). Bien qu'elles soient largement utilisées, elles restent des approximations et sont souvent combinées à d'autres méthodes pour améliorer la précision des prédictions (Cheng *et al.*, 2009).

II. Types de docking moléculaire

II.1. Docking rigide

Le docking rigide considère que le ligand et le récepteur sont des structures fixes, dépourvues de flexibilité. L'interaction est déterminée en recherchant la meilleure orientation spatiale dans un espace tridimensionnel à l'aide d'une fonction de score, sans prendre en compte les changements conformationnels (Raval et Ganatra, 2022 ; Chaudhary et Tyagi, 2024).

Cette méthode, basée sur le modèle de la « clé et de la serrure » proposé par Emil Fischer, est efficace sur le plan computationnel. Toutefois, sa précision reste limitée en raison de l'absence de prise en compte de la flexibilité moléculaire (Chaudhary et Tyagi, 2024).

II.2. Docking flexible

Le docking flexible prend en compte la flexibilité des molécules pendant le processus d'amarrage, en permettant des changements de structure aussi bien pour le ligand que pour le récepteur, afin de mieux représenter les interactions biologiques réelles (Khemnar *et al.,* 2021 ; Raval & Ganatra, 2022). Cette approche utilise différentes méthodes, comme l'ajustement induit, le docking sur plusieurs structures (ensemble ou croisé) et d'autres stratégies de flexibilité, ce qui permet d'obtenir des prédictions plus précises, mais avec un coût computationnel plus élevé (Khemnar *et al.,* 2021).

II.3. Docking semi-flexible

Le docking semi-flexible (ligand flexible) constitue une approche intermédiaire dans laquelle seul le ligand est considéré comme flexible, tandis que le récepteur demeure rigide. Le ligand peut adopter plusieurs conformations grâce à la rotation de ses liaisons, offrant ainsi un compromis entre efficacité computationnelle et réalisme biologique. Cependant, cette méthode ne permet pas de capturer entièrement la dynamique complète des interactions ligand-récepteur (Raval et Ganatra, 2022).

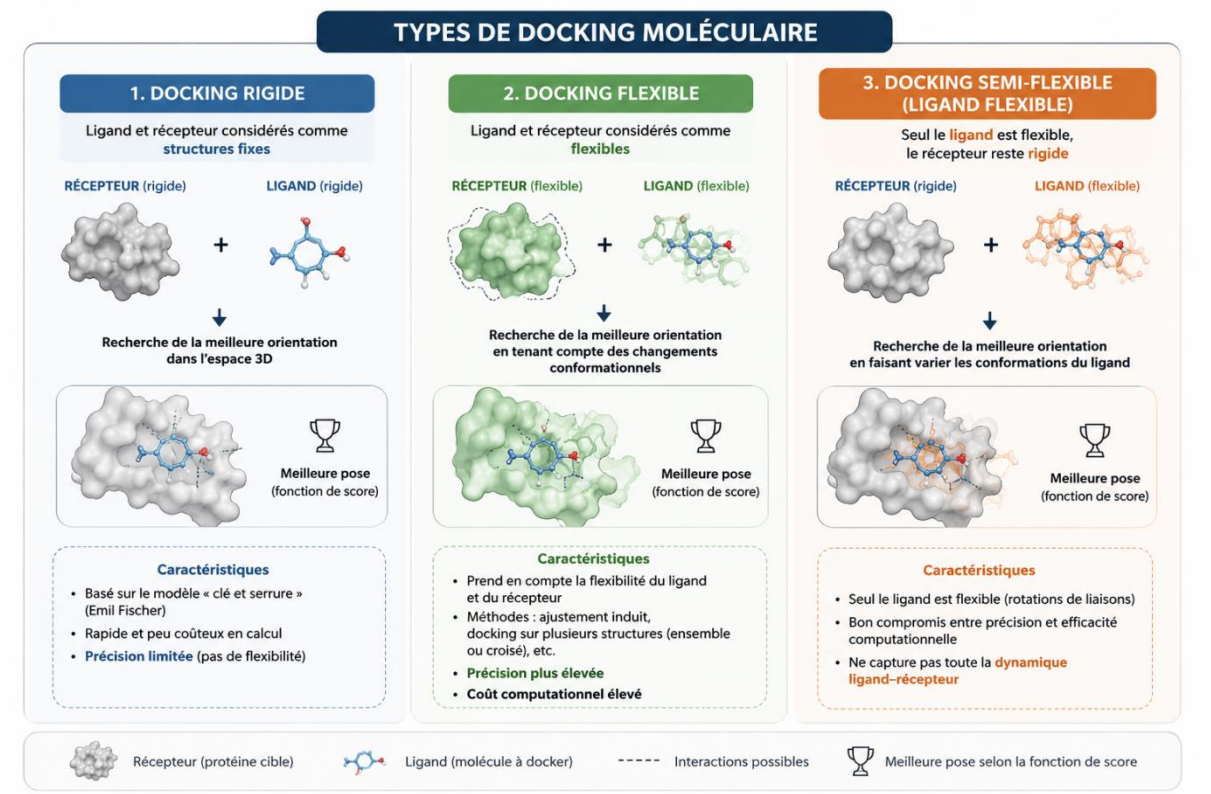


Figure III.3. Principaux types de docking moléculaire utilisés en modélisation moléculaire (adapté de Khemnar et al., 2021 ; Raval et Ganatra, 2022 ; Chaudhary et Tyagi, 2024)

III. Les applications

Le docking moléculaire est un outil clé dans la découverte et le développement de médicaments. Il est notamment utilisé pour le criblage virtuel, permettant une évaluation rapide *in silico* de vastes bibliothèques de composés (Shoichet, 2004). Il sert également à l'optimisation des composés prometteurs afin d'améliorer leur affinité de liaison et leur sélectivité (Jorgensen, 2004), ainsi qu'à la réorientation thérapeutique, qui consiste à identifier de nouvelles utilisations pour des médicaments existants tout en réduisant les délais de développement (Pushpakom *et al.,* 2019).

Le docking moléculaire joue aussi un rôle important dans l'analyse des interactions protéine-protéine, notamment pour caractériser les interfaces (Vakser, 2014) et prédire la structure des complexes (Zhang *et al.,* 2014). Par ailleurs, il contribue à la recherche sur les produits naturels en explorant les médecines traditionnelles (Newman et Cragg, 2020) et en identifiant des composés bioactifs (Harvey *et al.,* 2015).Dans le domaine de la science des

matériaux, cette technique est utilisée pour étudier les interactions hôte-invité ainsi que la chimie des surfaces (Dsouza *et al.,* 2011 ; Heinz et Ramezani-Dakhel, 2016).

Enfin, le docking moléculaire soutient des applications environnementales telles que les études de biodégradation (Karigar et Rao, 2011) et les évaluations toxicologiques (Allen *et al.*, 2014 ; Vamathevan *et al.,* 2019), en aidant à prédire les interactions entre polluants et systèmes biologiques.

IV. Les programmes de docking moléculaire

Le docking moléculaire est une méthode de chimie computationnelle permettant d'étudier les interactions entre un ligand et une protéine. Plusieurs logiciels open source ont été développés pour prédire les modes de liaison et les affinités d'interaction protéine–ligand **(**Biesiada *et al.,* 2011).

IV.1. AutoDock

AutoDock est l'un des logiciels de docking open source les plus populaires. Il utilise des algorithmes génétiques pour explorer les différentes conformations des ligands. Sa fonction de notation combine des champs de force issus de la mécanique moléculaire avec des termes empiriques, ce qui permet de prédire de manière fiable les énergies de liaison (Anusha et Govinda Rao Kamala, 2025).

IV. 2. DOCK

DOCK est un programme pionnier dans le domaine du docking, ayant introduit les algorithmes d'ajustement de forme. Il modélise les surfaces moléculaires à l'aide d'ensembles de sphères et propose plusieurs fonctions de score, telles que ChemScore. Sa conception modulaire facilite l'intégration de nouvelles méthodes, ce qui en fait un outil largement utilisé en recherche académique (Anusha et Govinda Rao Kamala, 2025).

IV.3. FlexX

FlexX adopte une approche de construction incrémentale dans laquelle les ligands sont décomposés en fragments, puis reconstruits dans le site de liaison. Il intègre plusieurs fonctions de score, telles que FlexX-Score et DrugScore, et est reconnu pour sa rapidité et son efficacité dans les opérations de criblage virtuel (Anusha et Govinda Rao Kamala, 2025).

IV.4. GOLD

GOLD utilise des algorithmes génétiques avancés pour la recherche conformationnelle. Il propose diverses fonctions de score ainsi que des paramètres flexibles pour l'ancrage. Ce programme est particulièrement performant pour prendre en compte la flexibilité des protéines et prédire les interactions protéine-ligand (Anusha et Govinda Rao Kamala, 2025).

IV.5. Glide

Glide emploie une méthode de filtrage hiérarchique pour identifier les positions de liaison des ligands dans les sites actifs des récepteurs. Il combine des techniques d'échantillonnage de type Monte Carlo avec des fonctions de score spécialisées, offrant des résultats très précis, notamment dans le domaine pharmaceutique (Anusha et Govinda Rao Kamala, 2025).

IV.6. Surflex-Dock

Surflex-Dock est un algorithme d'amarrage moléculaire flexible entièrement automatisé. Il combine la fonction de score du système d'amarrage Hammerhead avec un moteur de recherche basé sur une méthode de similarité moléculaire fondée sur la surface. Cette approche permet de générer rapidement des poses putatives adaptées aux fragments moléculaires. Le procédé repose sur la construction d'une pseudo-molécule, appelée protomol, servant de cible pour aligner le ligand par une approche de construction incrémentale. Cette pseudo-molécule est constituée de fragments placés dans le site actif de manière à occuper ce dernier de façon optimale et redondante, selon des critères morphologiques. Il est important de noter que la protomol peut être construite soit à partir du ligand co-cristallisé présent dans le site actif, lorsqu'une structure est disponible, soit à partir du récepteur seul, en l'absence de ligand (Jain, 2003 ; Welch *et al.*, 1996).

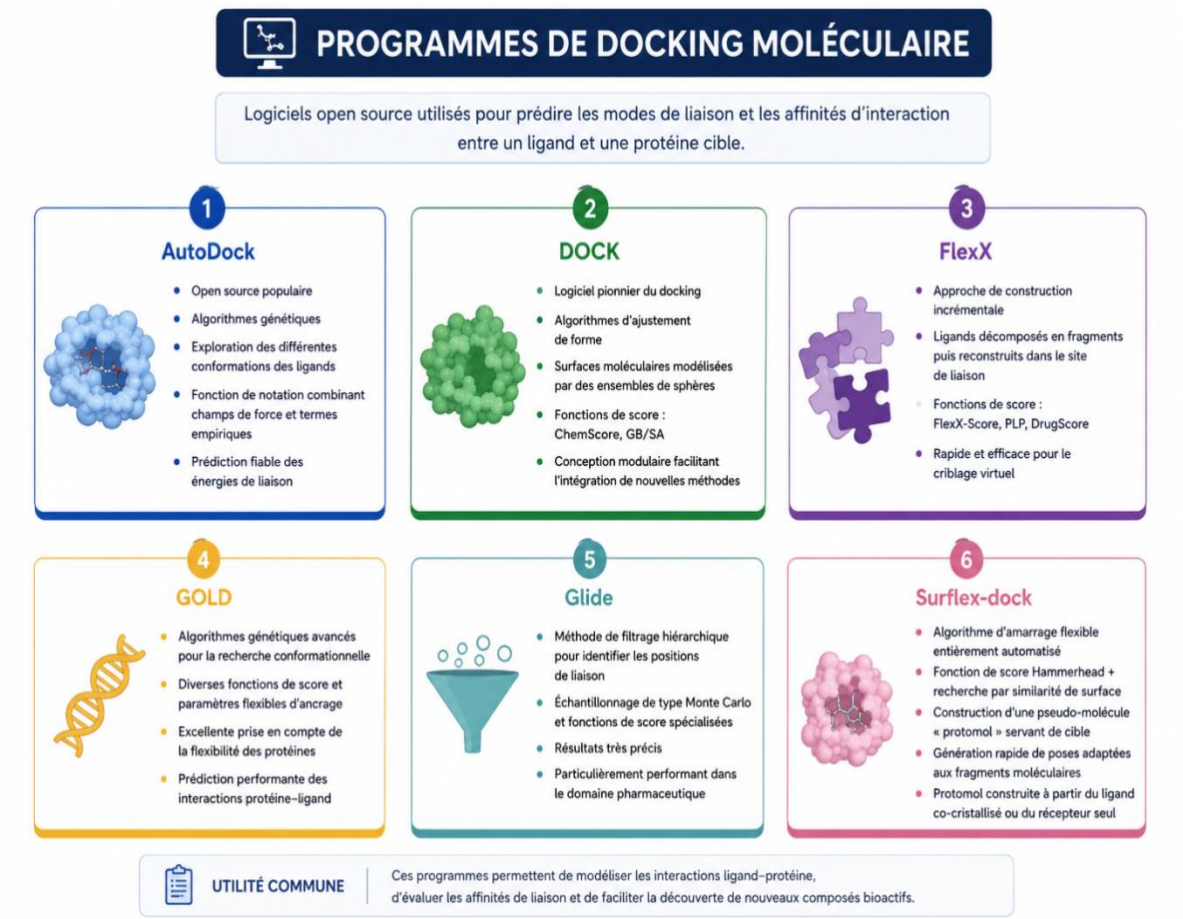


Figure III.4. Principaux types de docking moléculaire utilisés en modélisation moléculaire. (adapté de Khemnar *et al*., 2021 ; Raval *et* Ganatra, 2022 ; Chaudhary *et* Tyagi, 2024)

V. Étapes du docking moléculaire

Le docking moléculaire consiste en une étude *in silico* des interactions entre une macromolécule et une petite molécule. Avant de procéder à l'analyse, des étapes préparatoires sont réalisées sur les deux molécules (Madan *et al.*, 2020).

V.1. Préparation du récepteur

La structure tridimensionnelle de la protéine est obtenue depuis la *Protein Data Bank* (PDB). Ensuite, les molécules d'eau sont éliminées, les charges sont ajustées, les résidus manquants sont comblés et les chaînes latérales sont reconstruites (Madan *et al.*, 2020).

V.2. Identification du site de liaison

Étant donné qu'un récepteur peut posséder plusieurs sites de liaison, la cavité appropriée est déterminée à partir des coordonnées issues d'une structure récepteur-ligand co-cristallisée (Madan *et al.*, 2020).

V.3. Préparation du ligand

Les ligands sont extraits de bases de données telles que ZINC ou PubChem, ou bien conçus à l'aide d'outils comme ChemSketch. Ils sont ensuite enregistrés dans des formats standard tels que .mol, .pdb ou .pdbqt (Madan *et al.*, 2020).

V.4. Réalisation du docking

Après sélection du récepteur et du ligand, l'amarrage est effectué en ajustant divers paramètres tels que le nombre d'itérations et de cycles. L'interaction est ensuite analysée, et des fonctions de score attribuent des scores énergétiques basés sur la qualité de la liaison (Madan *et al.*, 2020).

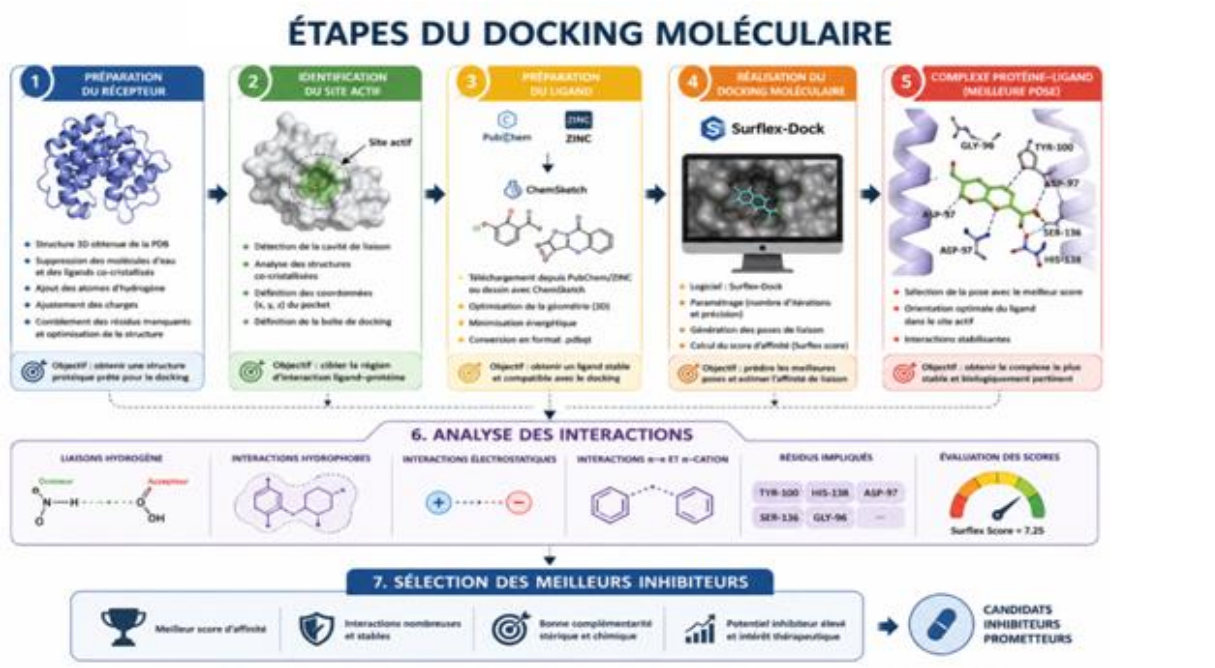


Figure III.5. Représentation schématique du processus de docking moléculaire appliqué à l'identification d'inhibiteurs potentiels de la PDF (Madan *et al.*, 2020**)**

VI. Efficacité du docking moléculaire dans l'amélioration de la découverte des composés médicamenteux

L'efficacité du docking moléculaire dans l'amélioration de la découverte de composés médicamenteux est largement reconnue. Cette technique de modélisation moléculaire a permis des avancées significatives, notamment la découverte de nouveaux inhibiteurs de l'enzyme ADN gyrase après l'échec des approches traditionnelles, ainsi qu'une meilleure précision dans la prédiction des interactions dans des systèmes complexes tels que le cytochrome P450. (Meng *et al.,* 2011).

Comparé au criblage à haut débit, le docking moléculaire s'est révélé nettement plus performant, en augmentant de manière significative le taux d'identification de composés actifs. Grâce à sa précision, sa rapidité et son efficacité, le docking moléculaire constitue aujourd'hui un outil essentiel et performant dans la conception moderne de médicaments (Meng *et al.,* 2011).

Chapitre IV :

Matériel et Méthodes

I. Matériel

I.1. Micro-ordinateur

Dans le cadre de cette étude, les analyses ont été réalisées à l'aide de programmes informatiques installés sur un micro-ordinateur de marque Dell, choisi pour ses performances adaptées aux exigences de ce travail. Ce poste de travail est équipé d'une mémoire vive de 8 Go (RAM), d'un processeur Intel(R) Core™ i5 vPro, et fonctionne sous le système d'exploitation Windows 10 Professionnel 64 bits.

I.2. Banques de données

I.2.1. Protéine data banque

La base de données *Protein Data Bank* (PDB) est une archive mondiale en libre accès créée en 1971, qui regroupent les structures tridimensionnelles des macromolécules biologiques telles que les protéines, l'ADN et l'ARN *(Berman et al., 2000)*. Elle est gérée par l'organisation wwPDB, en collaboration avec plusieurs centres internationaux chargés de la collecte, de la validation et de la diffusion standardisée des données *(wwPDB Consortium, 2019).*

Ces structures sont déterminées à l'aide de techniques expérimentales telles que la cristallographie aux rayons X, la résonance magnétique nucléaire (RMN) et la microscopie électronique cryogénique *(Burley et al., 2019)*. La PDB est largement utilisée en recherche scientifique pour comprendre la fonction des biomolécules et pour le développement de médicaments. Elle évolue continuellement vers l'intégration de données biologiques de plus en plus complexes et diversifiées *(Burley et al., 2019; wwPDB Consortium, 2019).*

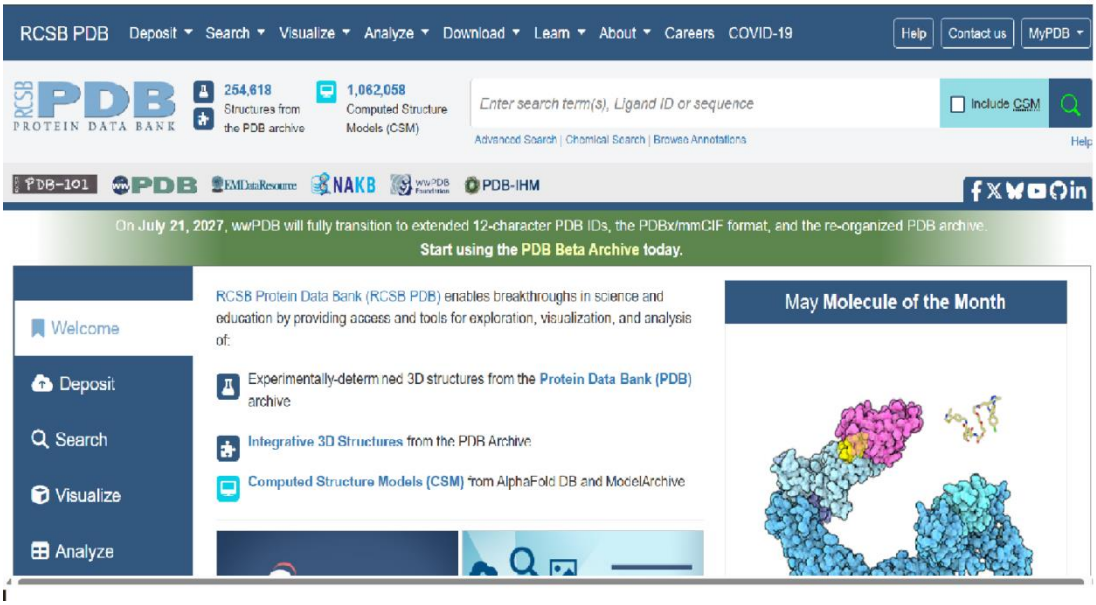


Figure IV.1. Site internet de la base des données PDB.

I.2.2. Pubchem

PubChem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov) est une base de données publique de chimie biologique développée par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) et largement utilisée par diverses communautés scientifiques (Kim *et al.*, 2021; Sayers *et al.*, 2021). Elle se distingue par la richesse de ses données, issues de centaines de sources, incluant des informations sur les composés chimiques, leurs activités biologiques, ainsi que leurs interactions avec les gènes, les protéines et les voies biologiques.

Ces données sont organisées en trois collections principales : Substance, Compound et BioAssay, avec une réduction de la redondance assurée par la conversion des substances en composés uniques (Kim *et al.*, 2016; Hähnke et al., 2018). La base offre également plusieurs modes d'accès, soit via une interface web, soit par des interfaces programmatiques spécialisées (Kim *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2019), ainsi que la possibilité de télécharger les données sous différents formats (Fu *et al.*, 2015).

Elle constitue ainsi une ressource essentielle pour la recherche scientifique, notamment en chimie biologique et en découverte de médicaments, grâce à l'abondance de données issues du criblage à haut débit et de la littérature scientifique (Kim, 2016; Kim *et al.*, 2016; Mendez *et al.*, 2019).



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

I.3. Programme utilisés

I.3.1. Surflex-Dock

Surflex-Dock (version 1.3, 2005) est un algorithme de docking rapide, capable de positionner des ligands au sein d'un site de liaison constitué d'acides aminés avec une précision satisfaisante. Dans le cadre de cette étude, les paramètres standards du logiciel ont été conservés par défaut.

Le processus de docking s'effectue en trois étapes principales (Boucherit *et al.*, 2014):

- l'identification du site actif, qui peut être déterminé à partir du ligand,
- la construction d'une pseudo-molécule, appelée « protomol », servant de cible pour l'ancrage des différents ligands ;
- la réalisation du docking d'un ou de plusieurs ligands.

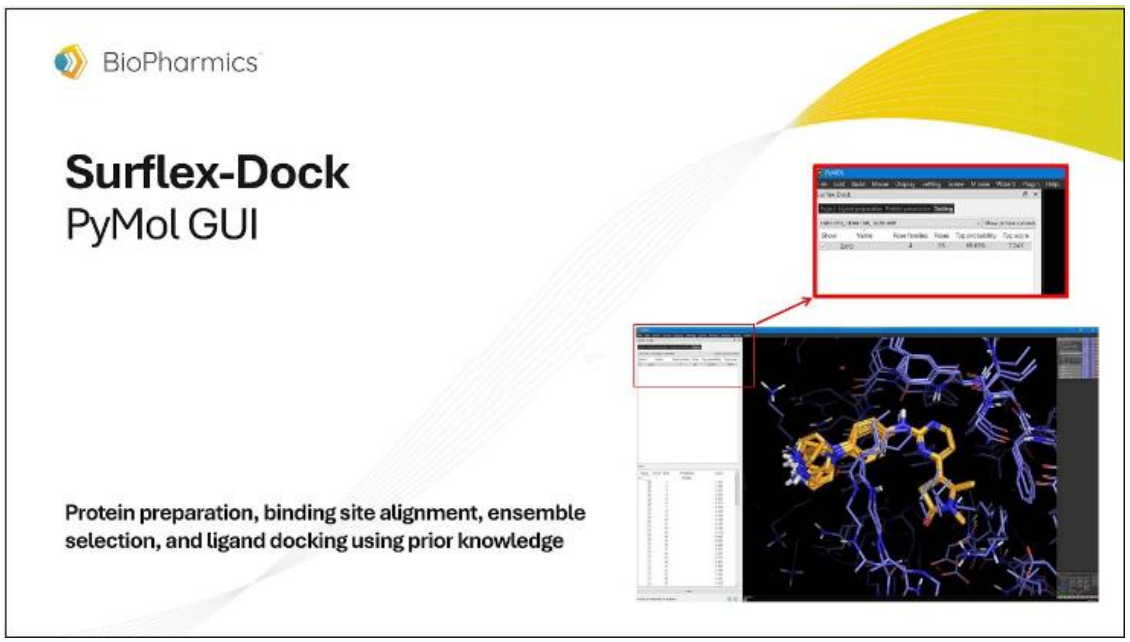


Figure IV.3. Programme Surflex-Dock.

I.3.2. Microsoft Excel

Microsoft Excel est un logiciel de feuilles de calcule permettant de saisir, organiser et traiter des données sous forme de tableaux. Il offre également la possibilité d'effectuer automatiquement des calculs et de mettre à jour les résultats en fonction des modifications apportées aux données, facilitant ainsi l'analyse et l'interprétation des informations **(**Divisi *et al.*, 2017).

I.3.3. Open Babel

Open Babel est un logiciel libre de chimie computationnelle, principalement utilisé pour la conversion de formats de fichiers chimiques et la préparation des ligands en modélisation moléculaire. Il prend en charge plus de 110 formats de fichiers, notamment les formats couramment utilisés tels que SMILES, mol, sdf, pdb, mol2, xyz, cif et InChI**.**

Il offre également plusieurs fonctionnalités avancées, notamment la génération de structures tridimensionnelles, l'optimisation géométrique ainsi que la recherche de similarité moléculaire. Ces outils facilitent la préparation des molécules pour les études de docking moléculaire (O'Boyle *et al.*, 2011).

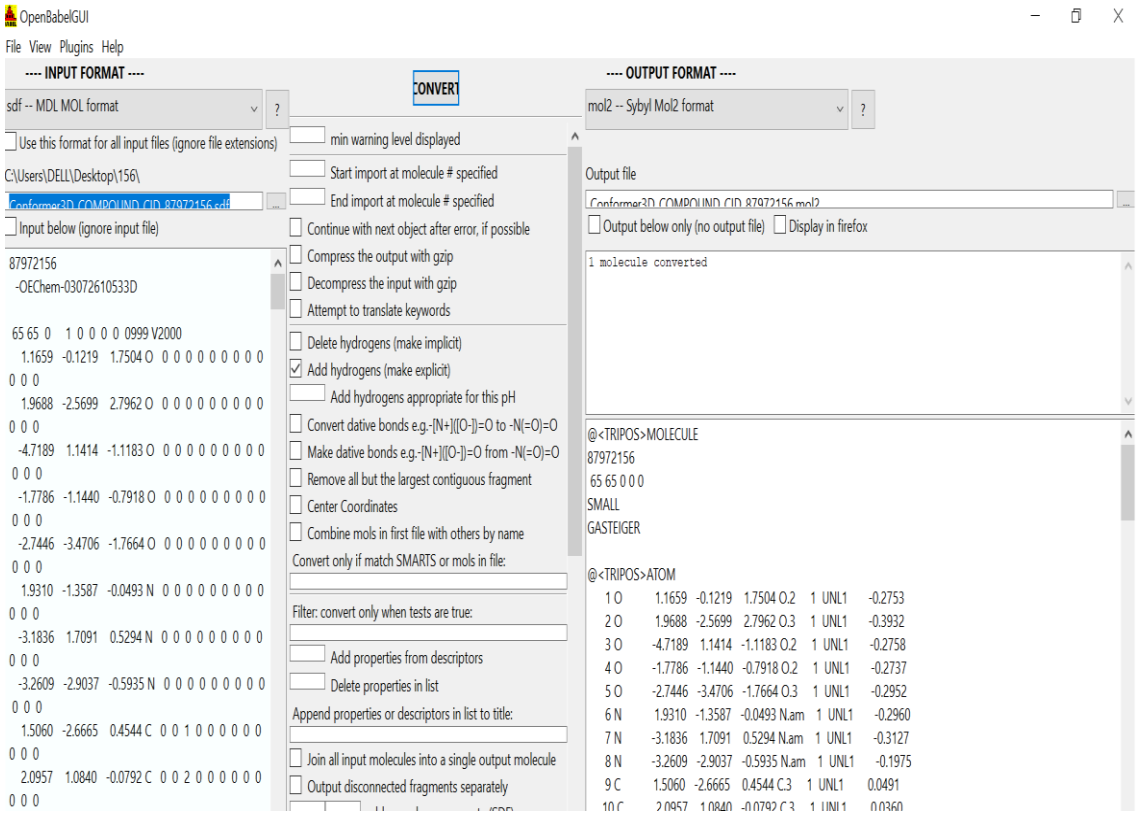


Figure IV.4. Conversion de fichiers par le programme Open Babel.

I.3.4. ViewerLite 4.2

C'est un logiciel gratuit de visualisation moléculaire permettant l'affichage et l'analyse tridimensionnelle (3D) de structures biologiques. Il prend en charge plusieurs formats de fichiers, notamment pdb, mol2 et sdf, et offre des outils de visualisation des complexes protéine–ligand.

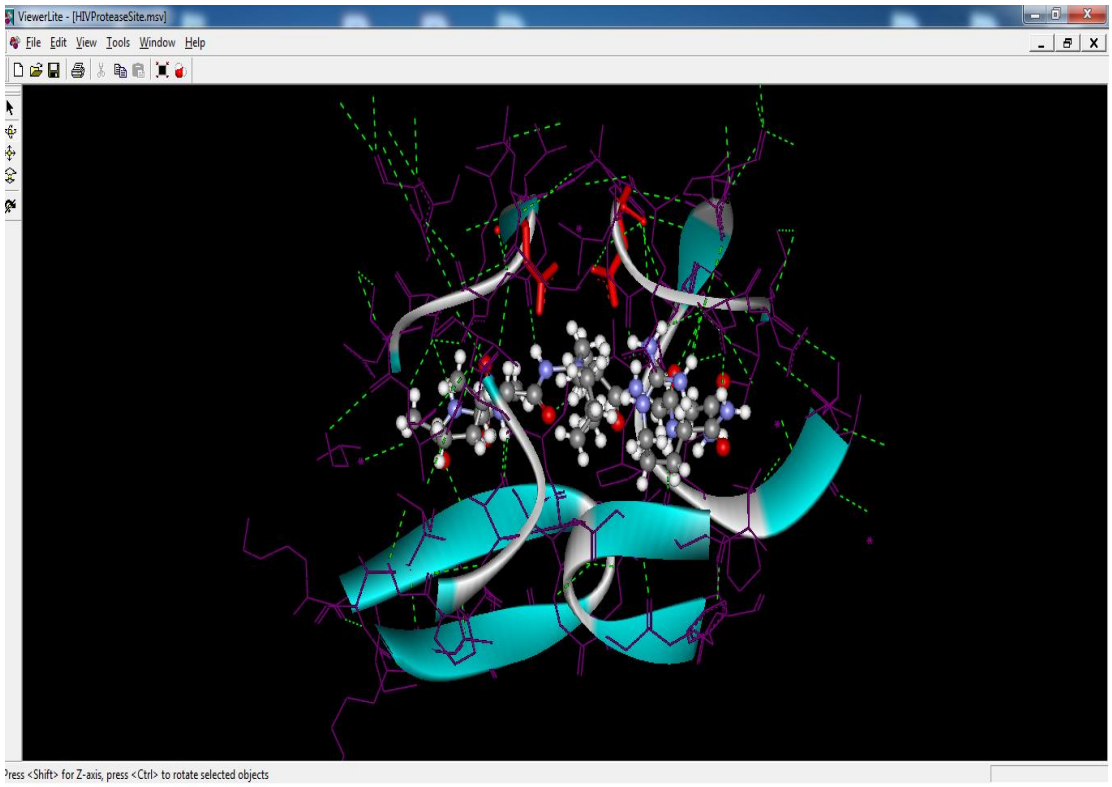


Figure IV.5. Visualisation par le logiciel ViewerLite.

I.4. Serveurs en ligne

I.4.1. SwissADME

SwissADME (https://www.swissadme.ch/) est une plateforme en ligne gratuite, développée pour offrir une interface intuitive et accessible, permettant aux utilisateurs même sans expertise approfondie en conception assistée par ordinateur de médicaments (CADD),de soumettre et d'analyser facilement des molécules. Elle se distingue des autres plateformes gratuites dédiées à l'évaluation des propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination (ADME) par l'intégration de plusieurs méthodes computationnelles performantes, permettant ainsi une évaluation globale du profil pharmacocinétique des petites molécules.

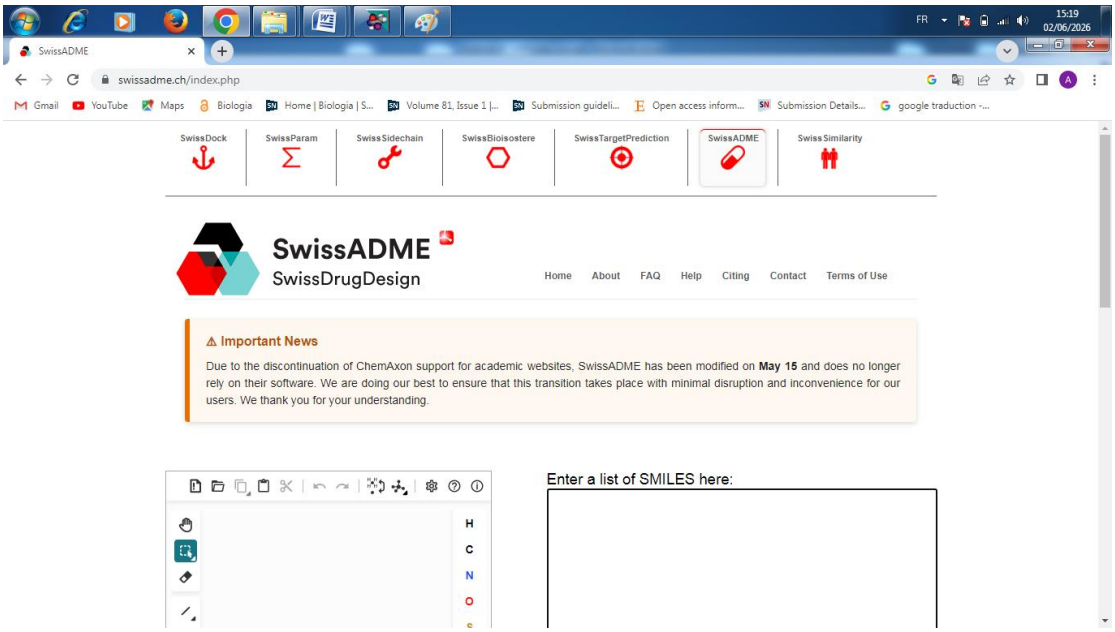


Figure IV.6. Interface graphique du serveur SwissADME.

La plateforme permet de calculer un large éventail de paramètres essentiels, notamment les propriétés physicochimiques, le caractère médicamenteux (*drug-likeness*), ainsi que divers indicateurs pertinents en chimie médicinale. Elle prend également en charge plusieurs applications de CADD, telles que le criblage virtuel, la prédiction de cibles biologiques, le docking moléculaire, et la mécanique moléculaire.

Parmi ses principales fonctionnalités, SwissADME permet d'estimer la lipophilie et la solubilité aqueuse, de prédire certains comportements pharmacocinétiques, notamment l'absorption gastro-intestinale et la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, ainsi que de détecter des alertes structurales en chimie médicinale, telles que les composés PAINS *(Pan-Assay Interference Compounds)* et d'autres motifs potentiellement problématiques (Daina *et al.*, 2017).

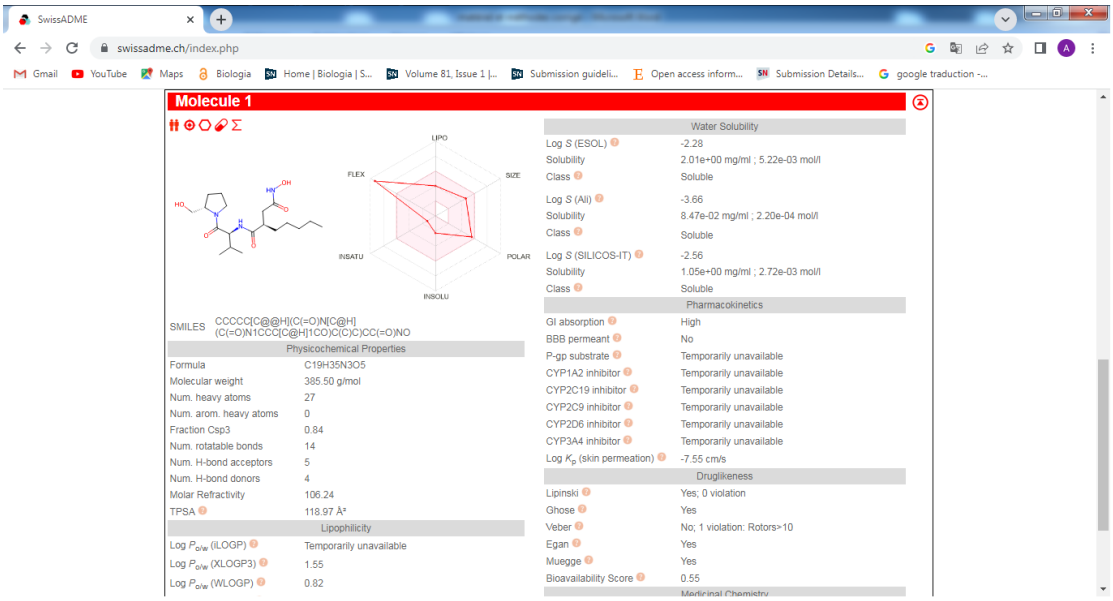


Figure IV.7. Prédiction des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques par le serveur SwissADME.

Néanmoins, il convient de souligner que les prédictions fournies par SwissADME sont de nature computationnelle et doivent être interprétées avec prudence, en complément de validations expérimentales, en particulier pour les molécules présentant des structures chimiques atypiques ou complexes (Daina *et al.*, 2017.)

I.4.2. ProTox-II 3.0

ProTox-II 3.0 (https://tox.charite.de/protox3) est une plateforme web de calcul en libre accès, conçue pour la prédiction complète de la toxicité, offrant l'une des gammes les plus étendues d'endpoints toxicologiques actuellement disponibles. La plateforme intègre les propriétés chimiques, les connaissances sur les cibles moléculaires, les voies métaboliques ainsi que les voies des effets indésirables au sein d'une interface unique et unifiée. Son interface utilisateur intuitive requiert une expérience préalable minimale ; les utilisateurs peuvent simplement fournir un nom de composé (compatible PubChem), une chaîne SMILES canonique ou dessiner directement la structure moléculaire à l'aide de l'éditeur intégré.

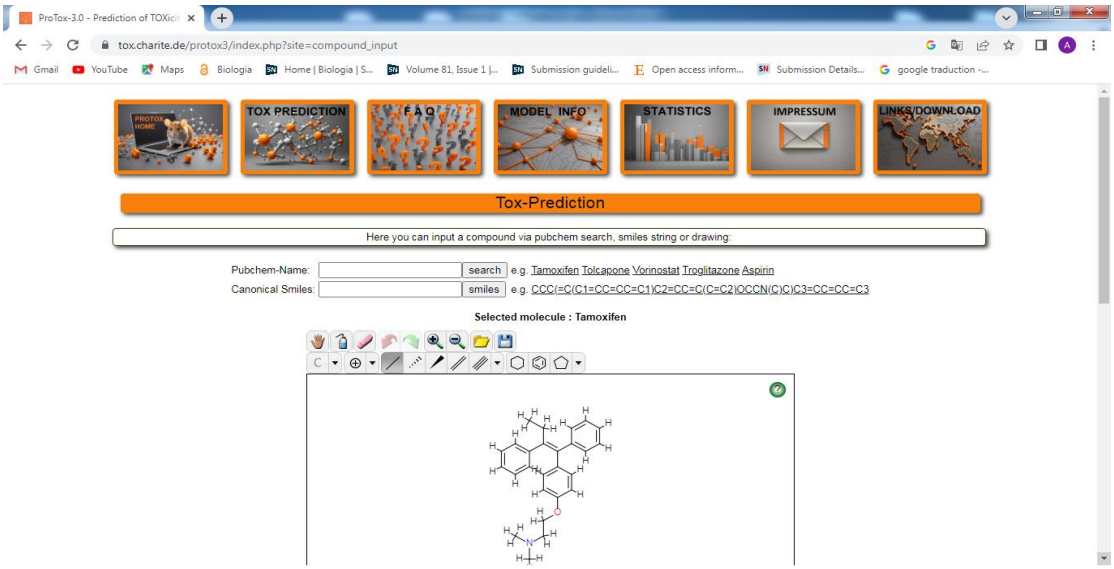


Figure IV.8. Interface graphique du serveur ProTox-II 3.0.

Le serveur prédit un large éventail de profils toxicologiques, notamment la toxicité orale aiguë (classée selon six niveaux de gravité avec des valeurs de LD50 estimées), la toxicité spécifique à certains organes (hépatotoxicité, neurotoxicité, néphrotoxicité, cardiotoxicité et toxicité respiratoire), ainsi que des endpoints toxicologiques plus larges tels que la cancérogénicité, la mutagénicité, la cytotoxicité, l'immunotoxicité, la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, l'écotoxicité, la toxicité clinique et la toxicité nutritionnelle.

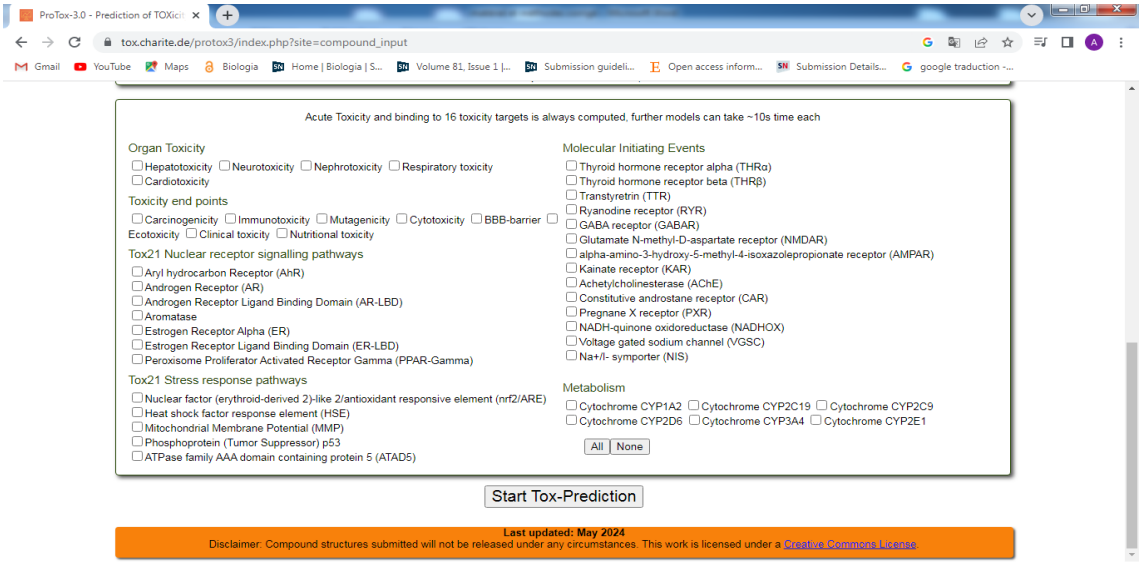


Figure IV.9. Prédiction de toxicité par le serveur ProTox-II 3.0.

De plus, ProTox-II 3.0 fournit une analyse des voies toxicologiques, des événements moléculaires initiateurs, une prédiction du métabolisme ainsi qu'une identification des cibles de toxicité, offrant des informations mécanistiques sur les réponses toxiques.

Les résultats sont présentés via une interface interactive comprenant des valeurs de LD50 prédites, une classification de la toxicité avec des scores de confiance, des composés structurellement similaires, ainsi que des diagrammes radar et des visualisations en réseau, exportables aux formats CSV, PDF et image. Les études de référence indiquent que ProTox-II 3.0 présente un équilibre favorable entre sensibilité et spécificité, surpassant à la fois certains outils commerciaux tels que TOPKAT et des alternatives en libre accès comme T.E.S.T (Banerjee *et al.,* 2024).

II. Méthodes

II.1. Tests de fiabilité du programme Surflex-Dock

Avant d'exploiter les résultats du docking moléculaire, il est nécessaire de vérifier la fiabilité du logiciel de docking moléculaire Surflex-Dock. À cet effet, trois tests ont été réalisés afin d'évaluer les performances de ce programme d'amarrage moléculaire :

- l'écart quadratique moyen (RMSD)
- l'analyse visuelle
- le coefficient de corrélation linéaire (r).

II.1.1. L'écart quadratique moyen

Le RMSD (*Root Mean Square Deviation*) est une mesure géométrique correspondant à la moyenne des écarts entre les positions atomiques d'une structure expérimentale et celles d'une structure prédite d'un complexe ligand/site actif. Il constitue un paramètre fondamental pour évaluer les performances des programmes de docking moléculaire, dont l'objectif est de reproduire le plus fidèlement possible les complexes expérimentaux (Hawkins *et al.,* 2008).

Plus la valeur du RMSD entre la pose calculée et la conformation expérimentale du ligand est faible, plus la prédiction du positionnement est considérée comme précise. Cette précision dépend notamment de l'identification correcte du site de liaison sur la protéine, ainsi que de l'orientation et de la conformation adoptées par le ligand dans le site actif.

Le calcul du RMSD est généralement réalisé par une procédure de « *cognate docking* » ou « *self-docking* », consistant à extraire le ligand co-cristallisé puis à le repositionner, par docking moléculaire, dans le site actif de la cible enzymatique (Hawkins *et al.,* 2008). Pour l'évaluation de la qualité du positionnement, seuls les atomes lourds du ligand sont généralement pris en considération (Kirchmair *et al.,* 2008).

En pratique, une valeur de RMSD inférieure ou égale à 2 Å est généralement considérée comme satisfaisante, tandis qu'une valeur proche de 0 Å indique une superposition quasi parfaite entre la structure prédite et la structure de référence. Actuellement, les performances des logiciels de docking sont le plus souvent évaluées sur un grand ensemble de complexes protéine–ligand cristallisés, généralement de l'ordre d'une centaine (Kramer *et al.,* 1999 ; Kellenberger *et al.,* 2004).

II.1.2. Analyse visuel

L'analyse visuelle constitue le deuxième critère d'évaluation des performances du programme Surflex-Dock. Elle permet de vérifier si la pose simulée du ligand se superpose fidèlement au ligand co-cristallisé au sein du site actif de la cible enzymatique. Lorsque cette superposition est satisfaisante, elle confirme que le programme positionne correctement les ligands simulés, ce qui témoigne de la fiabilité du logiciel dans la prédiction des différentes interactions enzyme-inhibiteur .Cette analyse est réalisée à l'aide du programme de visualisation ViewerLite 4.2

II.1.3. Coefficient de corrélation

En statistiques, l'étude de la corrélation entre deux variables numériques consiste à analyser l'intensité de la relation pouvant exister entre elles, généralement modélisée par une régression linéaire. Cette intensité est quantifiée par le coefficient de corrélation de Bravais-Pearson (r), défini comme le rapport entre la covariance des deux variables et le produit de leurs écarts-types respectifs. Sa valeur est comprise entre −1 et 1 ; plus elle se rapproche des valeurs extrêmes, plus la relation entre les variables est forte (Fox, 1999).

Dans ce cadre, le coefficient de corrélation a été utilisé afin d'évaluer le degré de relation entre les scores d'affinité obtenus par docking moléculaire à l'aide du programme Surflex-Dock et les valeurs d'IC50, définies comme la concentration d'inhibiteur entraînant 50 % d'inhibition enzymatique, déterminées expérimentalement par des essais *in vitro* et

rapportées dans la littérature **(**Hansch et Fujita, 1964). Pour cette analyse, un ensemble de 44 complexes PDF–inhibiteur, extraits de la PDB, a été sélectionné, la disponibilité des valeurs d'IC50 constituant l'un des principaux critères de sélection.

II.2. Procédure de docking moléculaire par Surflex-Dock

II.2.1. Préparation de la protéine cible

La structure tridimensionnelle de l'enzyme PDF a été récupérée à partir de la Protéine Data Banque sous le code 4E9A, présentant une résolution cristallographique de 1,66 Å, ce qui garantit une bonne qualité structurale pour les études de modélisation moléculaire. La structure initiale du complexe contenait deux chaînes polypeptidiques (A et B) ; seule la chaîne A, correspondant à l'unité fonctionnelle d'intérêt, a été conservée. Les molécules d'eau ainsi que les composés de cristallisation ont été supprimés afin d'éviter toute interférence avec les calculs de docking.

La protéine réceptrice et le ligand co-cristallisé ont ensuite été séparés dans des fichiers distincts pour leur préparation individuelle. Etant donné que Surflex-Dock nécessite des fichiers au format mol2, la conversion des structures a été réalisée à l'aide du logiciel Open Babel. Cette étape a également permis l'ajout des atomes d'hydrogène manquants à la protéine et aux inhibiteurs étudiés, tout en respectant l'état de protonation physiologique des résidus d'acides aminés.

II.2.2. Préparation des inhibiteurs

Un total de 192 molécules similaires à l'actinonin a été téléchargé à partir de la base de données PubChem au format sdf (3D), puis converti au format mol2 à l'aide du logiciel Open Babel afin de les préparer pour les études de docking moléculaire.

II.2.3. Docking moléculaire par Surflex-Dock

II.2.3.1 Génération de protomol

Dans Surflex-Dock, le protomol est utilisé comme une pseudo-cible guidant l'amarrage du ligand dans le site actif de la protéine. Il est généré automatiquement à partir de fragments moléculaires tels que CH_4, N-H et C=O, positionnés dans les zones accessibles du site actif définies par les résidus protéiques voisins du ligand natif. Après optimisation par la fonction

de score, seuls les fragments présentant les interactions les plus favorables sont conservés afin de modéliser au mieux le site de liaison de la cible enzymatique *(Jain, 2003).*

Dans notre cas, la chaine A de la structure 4E9A (au format .mol2) ainsi que le ligand de référence (au format .mol2) ont été utilisé pour générer le protomol, à l'aide de la commande suivante :

surflex-dock proto ligand.mol2 protéine.mol2 pl

II.2.3.2 Docking moléculaire

Cette étape nécessite la disponibilité de la protéine au format .mol2, du protomol généré lors de l'étape précédente, ainsi que des ligands également au format .mol2. Le docking moléculaire repose sur un processus d'alignement et de recherche par similarité moléculaire, permettant de générer plusieurs conformations possibles du ligand au sein du site actif de l'enzyme.

Les dix meilleures poses sont retenues et classées selon leur score (final-0, final-1 … final-9). Chaque conformation est associée à trois scores : le premier correspond à l'affinité de liaison, le deuxième, appelé « crash score », évalue les contacts stériquement défavorables entre le ligand et la protéine, et le troisième, nommé « polar score », reflète la contribution des interactions polaires. Cette étape a été réalisée à l'aide de la commande suivante :

surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 protéine.mol2

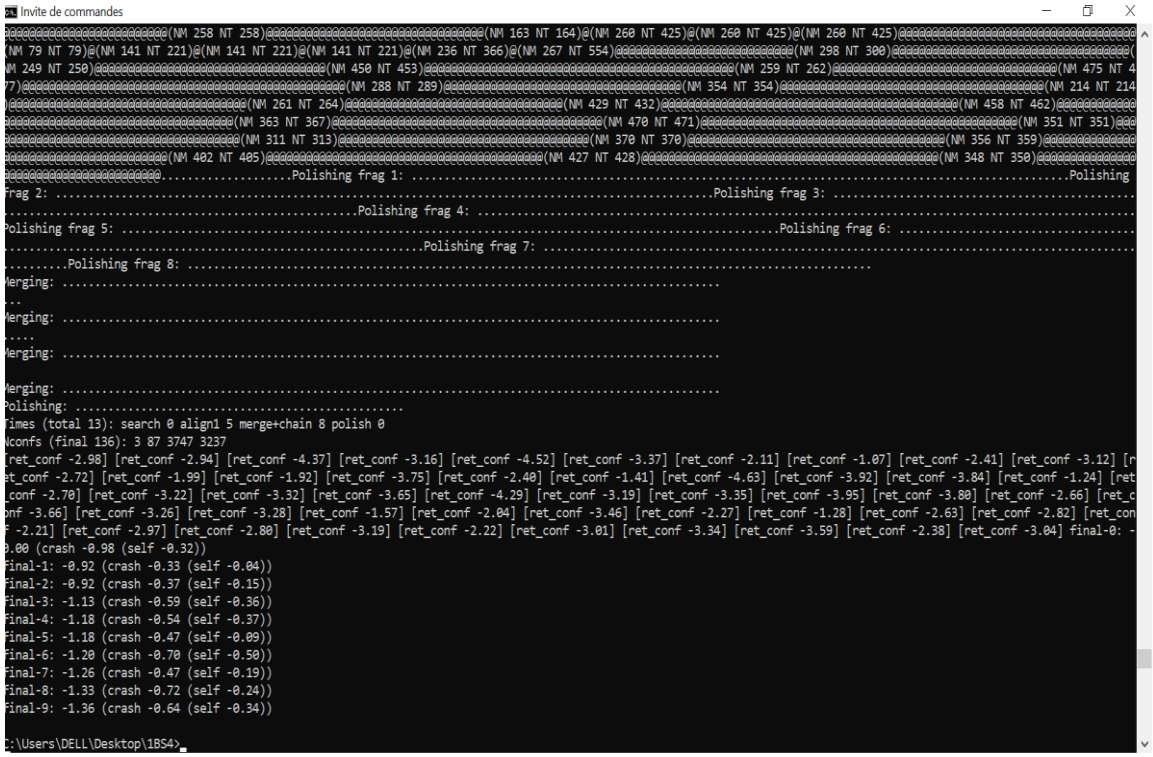


Figure IV.10. Capture d'écran des résultats du docking obtenus par le logiciel Surflex-Dock.

II.2.3.3 Calcul du RMSD

La qualité de l'amarrage des ligands dans le site de liaison est évaluée par le calcul du RMSD entre la conformation du ligand co-cristallisé extraite de la PDB et les poses obtenues par Surflex-Dock, afin de valider la précision du protocole de docking. Ce calcul a été effectué à l'aide de la commande suivante :

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

```
C:\Users\DELL\Desktop\1BS4>surflex-dock rms final-0.mol2 2PE.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: 25 25
Actual rmsd:     14.496
Heavy atom rmsd: 9.812
Similarity: 0.084

C:\Users\DELL\Desktop\1BS4>
```

Figure IV.11. Résultat du calcule le RMSD par le programme Surflex-Dock.

II.3. Prédiction de la similarité médicamenteuse

Dans le cadre de cette étude, la prédiction de la similarité médicamenteuse repose sur l'application du filtrage ADME-Tox, une étape incontournable pour évaluer le potentiel thérapeutique des composés sélectionnés. À cet effet, les plateformes SwissADME et PreADMET ont été exploitées afin de prédire les propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques des meilleurs inhibiteurs retenus.

Le profil ADME-Tox regroupe l'ensemble des paramètres décrivant le devenir d'une molécule au sein de l'organisme, notamment son absorption, sa distribution, son métabolisme, son excrétion ainsi que sa toxicité. Lorsqu'un médicament est administré par voie orale, le principe actif traverse la muqueuse intestinale par diffusion passive ou transport actif avant d'être biotransformé en différents métabolites. Ces mécanismes influencent plusieurs aspects fondamentaux de la pharmacothérapie (Li, 2001), notamment :

- la posologie, puisque la vitesse de dégradation du composé détermine la fréquence d'administration nécessaire ;
- les interactions médicamenteuses, pouvant résulter d'interférences entre les voies métaboliques de différentes substances administrées simultanément ;
- la toxicité, la biotransformation étant susceptible d'augmenter ou de diminuer le potentiel toxique du médicament.

L'évaluation de la toxicité constitue également un critère déterminant dans le développement des candidats médicaments. En effet, un composé thérapeutique doit présenter un index thérapeutique suffisamment élevé, de sorte que la concentration plasmatique toxique demeure largement supérieure à la concentration thérapeutique efficace (Li, 2001).

Dans ce contexte, l'essor du criblage virtuel a favorisé l'intégration des approches ADME-Tox dès les premières étapes du développement pharmaceutique. Ces méthodes permettent d'éliminer précocement les molécules dont les propriétés physicochimiques s'écartent de celles généralement observées chez les médicaments commercialisés (Schneider, 2013). Par ailleurs, les prédictions ADME-Tox facilitent l'identification des limites potentielles des composés issus du criblage virtuel et orientent leur optimisation structurale ultérieure. À ce stade d'identification des têtes de série, les approches expérimentales et *in silico* peuvent être combinées de manière itérative afin d'établir un profil ADME-Tox complet et fiable (Yu, 2003).

II.3.1. Propriétés physicochimiques

Plusieurs règles empiriques ont été proposées afin de prédire la biodisponibilité orale potentielle des composés chimiques. Parmi les plus utilisées figurent les règles de Lipinski et de Veber.

II.3.1.1. Règle de Lipinski

En 1997, Christopher A. Lipinski et ses collaborateurs ont établi un ensemble de critères destinés à identifier rapidement les molécules présentant un caractère « *drug-like* », c'est-à-dire susceptibles de posséder des propriétés favorables à une administration orale. Connue sous le nom de « règle des cinq », cette approche repose sur quatre paramètres physicochimiques principaux :

- un poids moléculaire ≤ 500 Da ;
- un logP ≤ 5 ;
- un nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène ≤ 10 ;
- un nombre de donneurs de liaisons hydrogène ≤ 5.

Le coefficient de partage octanol/eau (logP) constitue un paramètre particulièrement important, puisqu'il reflète la polarité du composé et permet d'estimer sa répartition dans les différents compartiments biologiques de l'organisme (Lipinski *et al.,* 1997).

II.3.1.2. Règle de Veber

Dans la continuité des travaux de Lipinski, Dennis F. Veber et ses collaborateurs ont proposé deux descripteurs supplémentaires associés à une bonne biodisponibilité orale (Veber *et al.,* 2002) :

- une surface polaire topologique inférieure à 140 $Å^2$;
- un nombre de liaisons rotables ne dépassant pas 15.

Ces règles demeurent largement utilisées dans les études de criblage virtuel et d'optimisation moléculaire. Toutefois, leur application stricte peut parfois limiter l'exploration de nouveaux espaces chimiques et réduire la diversité structurale des candidats potentiels,

notamment pour certaines molécules récemment approuvées par la FDA (*Food and Drug Administration*) (Zhang *et al.,* 2007 ; Doak *et al.,* 2014).

II.3.2. Propriétés pharmacocinétiques

La pharmacocinétique étudie l'évolution quantitative et qualitative d'un médicament dans l'organisme au cours du temps. Elle décrit les processus d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination dans différents systèmes biologiques, qu'il s'agisse d'organismes humains, animaux ou de modèles cellulaires et moléculaires (Agoram *et al.,* 2007 ; Mager et Jusko, 2001).

II.3.2.1. Absorption gastro-intestinale

L'absorption correspond au passage du principe actif sous sa forme inchangée depuis son site d'administration jusqu'à la circulation systémique, après franchissement d'une barrière physiologique. Cette dernière varie selon la voie d'administration considérée : muqueuse intestinale pour la voie orale, barrière cutanée pour la voie transdermique ou épithélium pulmonaire dans le cas de l'inhalation (Mager et Jusko, 2001 ; Agoram *et al.,* 2007). L'absorption gastro-intestinale constitue aujourd'hui l'un des principaux paramètres utilisés dans les prédictions *in silico* de la biodisponibilité des candidats médicaments.

II.3.2.2. Inhibition des Cytochromes P450

Les cytochromes P450 (CYP450) sont des enzymes essentielles impliquées dans le métabolisme des médicaments. Dans le cadre de cette étude, la capacité des composés étudiés à inhiber les principales isoformes humaines du CYP450 (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 et CYP3A4) a été évaluée à l'aide de l'outil de prédiction ADMET utilisé. Cette analyse permet d'estimer le risque potentiel d'interactions médicamenteuses et le profil pharmacocinétique des molécules étudiées (Boucherit, 2020)

II.3.2.3. Toxicité

La toxicité constitue l'un des paramètres les plus critiques et préoccupants dans le développement pharmaceutique, notamment lors de l'entrée d'un candidat-médicament en phases cliniques. En effet, tout composé provoquant des effets indésirables sévères au cours des essais cliniques est généralement écarté du processus de développement. Il est donc

essentiel d'évaluer et de prédire précocement le profil toxique des molécules à partir de leur structure chimique afin de limiter les risques d'échec et de réduire les coûts de développement.

La toxicité peut être classée selon l'organe cible affecté, telle que l'hépatotoxicité, la néphrotoxicité ou la cardiotoxicité, mais également selon le mécanisme impliqué, comme la génotoxicité, la mutagénicité ou la carcinogénicité. Dans ce contexte, de nombreuses approches *in silico* ont été développées afin de prédire les effets toxiques potentiels des composés chimiques ; cette discipline est connue sous le nom de toxicologie *in silico* ou toxicologie computationnelle (Lagarde, 2014).

Chapitre V :

Résultats et discussion

I. Test de fiabilité du programme Surflex-Dock

Afin de valider le protocole de docking moléculaire adopté dans cette étude et d'évaluer les performances du logiciel Surflex-Dock, plusieurs tests ont été mis en oeuvre, à savoir :

- La racine de l'écart quadratique moyen (RMSD), ainsi que l'analyse visuelle des poses générées.
- Le coefficient de corrélation linéaire (r).

L'ensemble de ces tests vise à garantir la fiabilité et la précision du protocole de docking retenu.

I.1. l'écart quadratique moyen

La prédiction du mode d'interaction consiste à déterminer le positionnement correct d'un ligand au sein du site actif de son récepteur. La performance d'un programme de docking moléculaire dans cette tâche est généralement évaluée par l'écart quadratique moyen ou RMSD (*Root Mean Square Deviation*), qui mesure la différence entre la conformation du ligand co-cristallisé, déterminée expérimentalement, et celle prédite par le logiciel Surflex-Dock.

Une prédiction est considérée comme acceptable lorsque la valeur du RMSD est inférieure ou égale à 2,0 Å (Grosdidier, 2007 ; Boucherit *et al*., 2014). Dans ce contexte, le test de fiabilité basé sur le RMSD a été réalisé sur 101 complexes protéine–ligand (Kellenberger *et al*., 2004)sélectionnés à partir de la *Protein Data Bank*. Les structures récupérées au format .pdb ont ensuite été converties au format .mol2 à l'aide du logiciel Open Babel. Les valeurs du RMSD obtenues sont présentées dans le tableau V.1 ci-dessous :

Tableau V.1. Liste des 101 complexes protéine-ligand utilisés pour tester la fiabilité de programme Surflex-Dock à l'aide du RMSD.

Code de l'enzyme	Code de l'inhibiteur	RMSD (Å)	Code de l'enzyme	Code de l'inhibiteur	RMSD (Å)
8H46	ASN	0,989	2OKL	BB2	1,614
5N4S	R38	1,912	1LRY	BB2	1,706
5K48	S5Z	0,371	4E9B	BB2	3,923
7AT4	NPX	2,212	2OS1	BB2	1,596
6O57	2NC	1,701	3O3J	BB4	0 ,758
6KXO	NO9	3,926	3U7N	UHF	1,851
7C8X	ASN	1 ,23	5NTH	BB2	1,730
8F47	XDF	0,072	3U7M	FHF	1,394

5LM6	H32	0,096	1G27	BB1	3,896
5WKS	NAR	1,051	5CWY	4WL	2,317
8H4F	DSG	2,194	9QFR	BB2	1,339
8H48	ASN	1,252	5MTE	BB2	1,416
9BZQ	NXL	1,442	1BSK	MLN	1,947
9CP7	NAI	1,512	5CWX	56K	0,063
1RNN	C5P	0,671	5CVP	56F	4,283
3LTW	HLZ	1,123	5CXJ	56T	5,372
3TSH	FDA	0,995	3PN4	BB2	1,689
2FHN	BNI	1,890	5JF1	BB2	0,459
6V5M	BTB	0,727	5JF6	BB4	1,163
7DUZ	HMO	0,040	2AI7	SB7	2,151
7DUB	HKU	0,431	2EW5	Y12	2,156
7DV1	HN9	0,146	1BS4	2PE	1,255
7DUE	HL3	0,184	2AIE	SB9	4,479
7DU1	HKR	0,931	9QFT	BB2	2,187
4ISA	GVR	1,454	3M6Q	BB2	1,367
7CJL	G0O	2,596	3UWB	BB2	1,607
6TGI	N8Z	1,699	5CY7	56U	2,207
7CHV	FZX	2,115	3E3U	NVC	0,796
6KZN	E1C	0,930	2AIA	SB8	2,429
6U10	X8Z	0,552	3SW8	5LI	4,305
7A60	QZH	0,091	6OW7	N9Y	1,668
7CBU	ASP	1,258	2EW6	Y13	0,792
7CBR	DSG	0,125	8RHR	BB4	3,347
2YA5	SIA	1,380	6JF8	LHY	1,626
8H4B	ASN	3,157	6XXI	NAD	1,402
7C91	DSG	1,790	4RDC	PRO	0,322
6SZ4	BDP	1,051	6N9M	DCF	3,163
6WGM	PCA	1,065	6EW3	S3C	0,068
1DPM	EBP	3,561	SFJZ	S3P	4,992
8HY2	5ZX	3,626	6KW1	9RX	1,501
2YA6	DAN	1,484	4DR9	GBB2	0 ,39
8H4E	DSG	0 ,070	3U7L	UDB	1,502
6V61	X8Z	1,319	1LRU	BB2	1,477
8F65	QF6	1,064	1IX1	BB2	1,544
7UF5	N52	3,413	1G27	BB1	3,896
8JUA	HEM	0,362	1BSZ	2PE	1,352
8JOO	HEM	0,404	2KMN	BB2	1,702
4PVT	S3C	1,181	5I2B	BB2	1,323
4C1D	X8Z	3,815	3M6P	BB2	1,470
4PVO	SVB	0,063	5CVQ	BB2	1,566

5N4T	R59	1,307			

Les graphes ci-dessous représentent le pourcentage des résultats obtenus pour les 101 complexes utilisés dans le test RMSD du programme Surflex-Dock.

Le graphe V.1 illustre l'évaluation de la capacité du logiciel à prédire le mode d'interaction du ligand au niveau du site actif de l'enzyme, selon deux intervalles de RMSD représentés en couleur bleue et rouge.

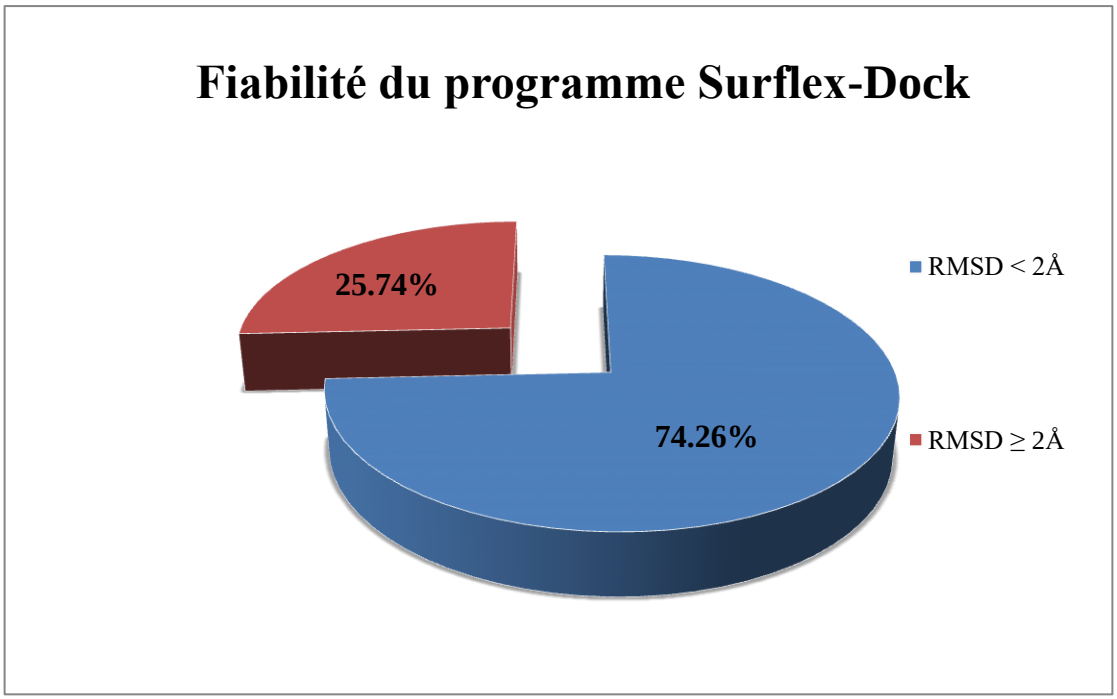
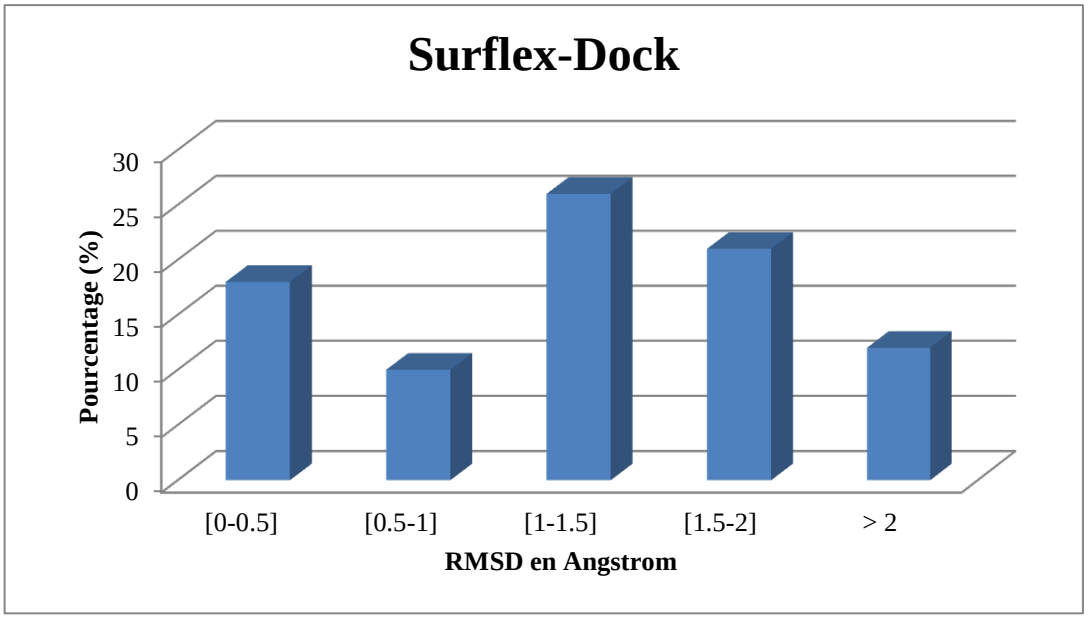


Figure V.1. Résultats en % du test RMSD à deux intervalles.



FigureV.2. Résultats (%) obtenu par Surflex-dock selon différents intervalles de RMSD.

Les résultats obtenus démontrent que le logiciel Surflex-Dock possède une capacité satisfaisante de prédiction des interactions protéine–ligand. En effet, parmi les 101 complexes étudiés, 74,26 % présentent des valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2 Å, seuil universellement admis en docking moléculaire comme critère de succès, traduisant une reproduction fidèle de la pose cristallographique du ligand dans le site actif de la protéine. Les 25,74 % restants, présentant des valeurs supérieures à ce seuil, peuvent être attribués à plusieurs facteurs inhérents à la complexité des systèmes étudiés, notamment la flexibilité conformationnelle de certains ligands, la géométrie particulière des sites actifs, ainsi que les limitations de la fonction de scoring utilisée.

Ces résultats s'inscrivent globalement dans la continuité des travaux antérieurs portant sur les performances de Surflex-Dock, bien que des variations notables soient observées en fonction de la nature des jeux de données et les protocoles adoptés. Kellenberger *et al.* (2004), dans une étude comparative impliquant huit logiciels de docking, ont rapporté des taux de succès compris entre 80 et 90 % pour Surflex-Dock, classant ce dernier parmi les programmes les plus performants en termes de précision de pose et de criblage virtuel. De même, Chikhi. (2007), sur un ensemble de 126 complexes protéine–ligand, a obtenu 88,4 % de valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2 Å.

En revanche, Boucherit *et al.* (2014) ont rapporté un taux de 66 % avec Surflex-Dock, contre 79,16 % pour GOLD, un résultat plus proche de celui obtenu dans notre étude, ce qui

suggère que les performances du logiciel peuvent être influencées de manière significative par la diversité structurale des complexes analysés.

Par ailleurs, les travaux de Spitzer et Jain (2012) ont montré que les performances de Surflex-Dock dépendent fortement des conditions de préparation des structures avant le docking. De légères variations des coordonnées atomiques, des états de protonation ou de la conformation du site actif peuvent modifier significativement les valeurs de RMSD ainsi que le classement des poses générées.

I.2. L'analyse visuelle

Suite au test du RMSD, l'analyse visuelle constitue une étape essentielle pour confirmer la performance du programme Surflex-Dock. Elle permet de vérifier si les conformations simulées des ligands se superposent correctement à celles des ligands co-cristallisés au niveau du site actif de la protéine. Cette analyse a été réalisée à l'aide du logiciel ViewerLite 4.2 sur les complexes protéine-ligand sélectionnés, afin d'évaluer la fiabilité du protocole de docking utilisé.

En effet, l'analyse visuelle a porté sur plusieurs complexes issus de la *Protein Data Bank*. Les codes des protéines étudiées, les ligands testés ainsi que les valeurs de RMSD obtenues sont présentés dans le tableau correspondant. La comparaison entre les conformations expérimentales des ligands co-cristallisés (représentées en rose) et les meilleures conformations prédites par Surflex-Dock (représentées en vert) met en évidence une bonne superposition dans la majorité des cas, confirmant ainsi la capacité du logiciel à reproduire correctement le mode de liaison des ligans au sein du site actif.

Tableau V.2. Valeurs de RMSD des trois complexes protéine-ligand sélectionnés.

Code de l'enzyme	Code de l'inhibiteur	RMSD (Å)
2AIE	SB9	4 ,479
2EW6	Y13	0,72
9QFT	BB2	2,187

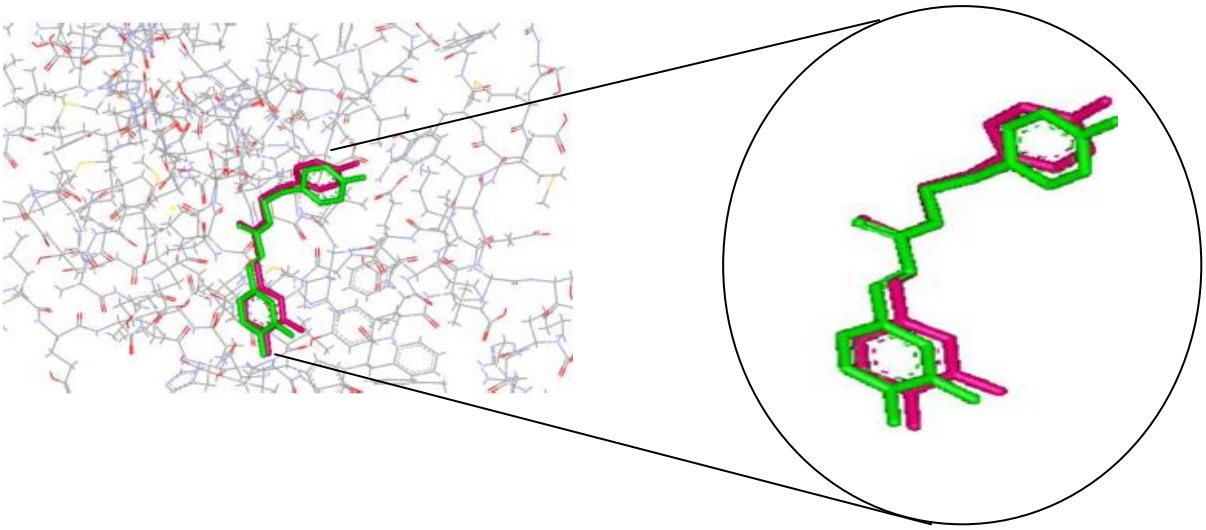


Figure V.3. Superposition du ligand Y13 du complexe 2EW6 simulé par Surflex-Dock (coloré en rose) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en vert).

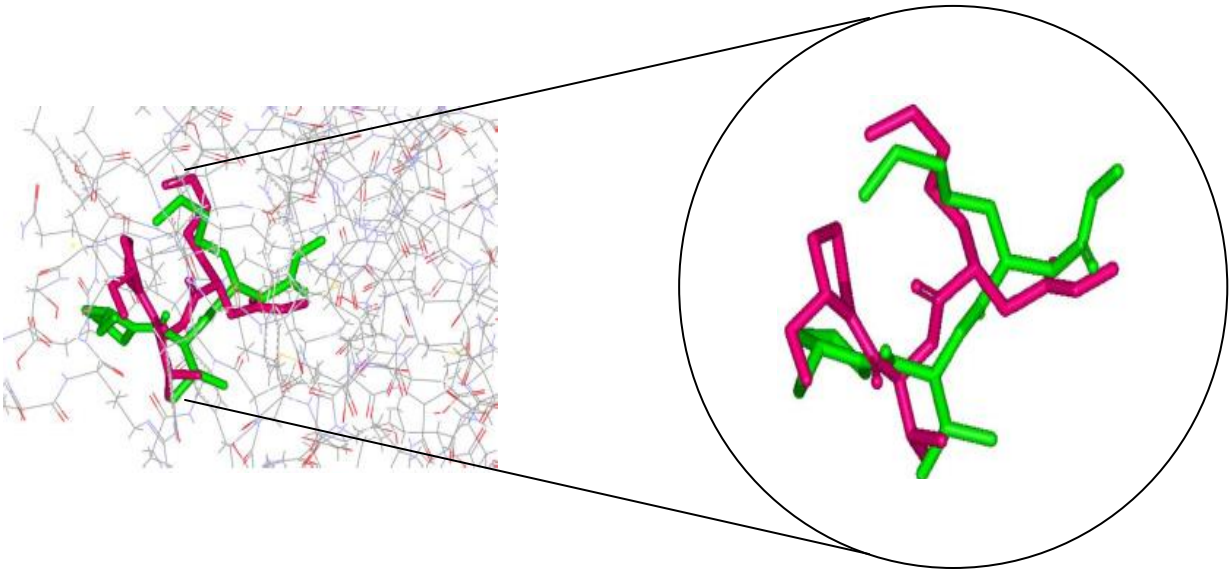


Figure V.4. Superposition du ligand BB2 du complexe 9QFT simulé par Surflex-Dock (coloré en rose) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en vert).

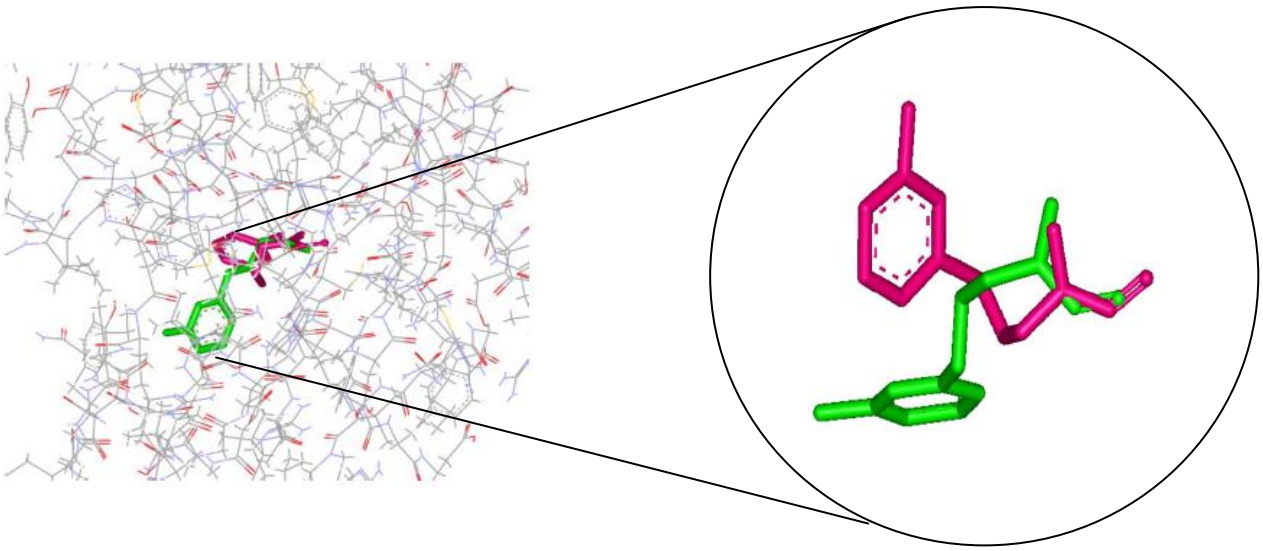


Figure V.5. Superposition du ligand SB9 du complexe 2AIE simulé par Surflex-Dock (coloré en rose) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en vert).

D'après les résultats du docking moléculaire, on observe que :

- Dans le cas du ligand 2EW6, avec un RMSD de 0,792 Å, la superposition est excellente. La conformation obtenue par docking est très proche de la conformation expérimentale.
- Dans le cas du ligand 9QFT, avec un RMSD de 2,187 Å, la superposition est acceptable, mais moins précise que celle observée pour le ligand 2EW6. Le ligand docké présente quelques différences de positionnement par rapport au ligand co-cristallisé.
- Dans le cas du ligand 2AIE, avec un RMSD de 4,479 Å, la superposition entre le ligand docké et le ligand co-cristallisé est faible. Le ligand prédit n'occupe pas correctement la même position que celle observée expérimentalement.

Ainsi, le protocole de docking présente une excellente capacité de reproduction pour le ligand 2EW6, une précision moyenne pour le ligand 9QFT et une faible précision pour le ligand 2AIE.

I.3. Le coefficient de corrélation

L'analyse par régression linéaire a été réalisée sur un ensemble de 44 composés présentant des activités biologiques expérimentales déjà connues. Cette approche permet d'évaluer la relation entre les résultats issus du docking moléculaire, obtenu à l'aide du logiciel Surflex-Dock, et les activités biologiques réelles des molécules étudiées.

L'objectif principal de cette analyse est de déterminer le degré de corrélation entre l'affinité de liaison prédite par le docking et l'activité biologique expérimentale, afin d'évaluer la capacité du programme Surflex-Dock à reproduire des tendances biologiques fiables et à prédire correctement le comportement des composés dans un contexte d'étude de type *virtual screening*.

Tableau V.3. Inhibiteurs de la PDF avec leurs activités biologiques reportées et leurs affinités de liaison.

Code de l'enzyme	Code de l'inhibiteur	IC_{50} (µM)	Log IC_{50}	Affinité (M^{-1})
3H0C	Ps4	0,38	-0,42	9,42
2RGU	356	0,1	-1	9,45
1X70	715	120	2,08	4,84
3F8S	PF2	13	1,11	5,24
1N1M	A3M	5400	3,73	5,86
2QOE	448	25	1,39	6,43
2FJP	S14	4,3	0,63	11,91
3HAC	361	67	1,82	6,84
3HAB	677	4,2	0,62	6,86
2QT9	524	2,3	0,68	11,01
2QTB	474	4,8	0,65	10,32
2AJD	BPR	1300	3,11	4
2OPH	277	16	1,2	9,22
2QJR	P7F	37	1,53	5
2BUC	008	23	1,36	3,4
2BUB	FPB	410	2,61	6,68
3KWF	B1Q	6,8	0,83	10,55
3VJK	M51	0,29	-0,53	10,19
3VJL	W94	5,6	0,74	8,1
3VJM	W61	0,37	-0,43	12,18
3GOB	T22	10	1	8,06
4N8E	2KV	20	1,3	7,07
3GOC	RUF	2000	3,3	2,36

4FFW	715	120	2,08	3,94
3C43	315	19	1,27	10,4
3C45	317	0,21	-0,67	9,87
5KBY	6RL	1,3	0,6	7,13
5T4B	75N	0,42	-0,37	14,84
5T4F	75M	10	1	13,73
5I7U	6AJ	1,7	0,23	13,05
6B1E	LF7	80,1	1,9	3,49
3OCO	B2Q	710	2,85	4,36
5ISM	6DG	0,7	-0,15	10,13
1G2A	BB2	140	2,14	5,38
1LRU	BB2	140	2,14	5,82
2AI7	SB7	400	2,6	4,11
2AI8	SB7	160	2,2	5,14
2AIE	SB9	2200	3,34	5,08
2EW5	Y12	1250	3,09	7,9
2KMN	BB2	140	2,14	3,1
3E3U	NVC	13	1,11	12,74
4DR9	BB2	10	1	7,2
4JE7	BB2	27	1,43	3,2
2EW6	Y13	1,08	0,03	8,07

IC_{50} correspond à la concentration d'un composé nécessaire pour inhiber 50 % de l'activité biologique d'une enzyme, d'un récepteur ou d'un système biologique donné.

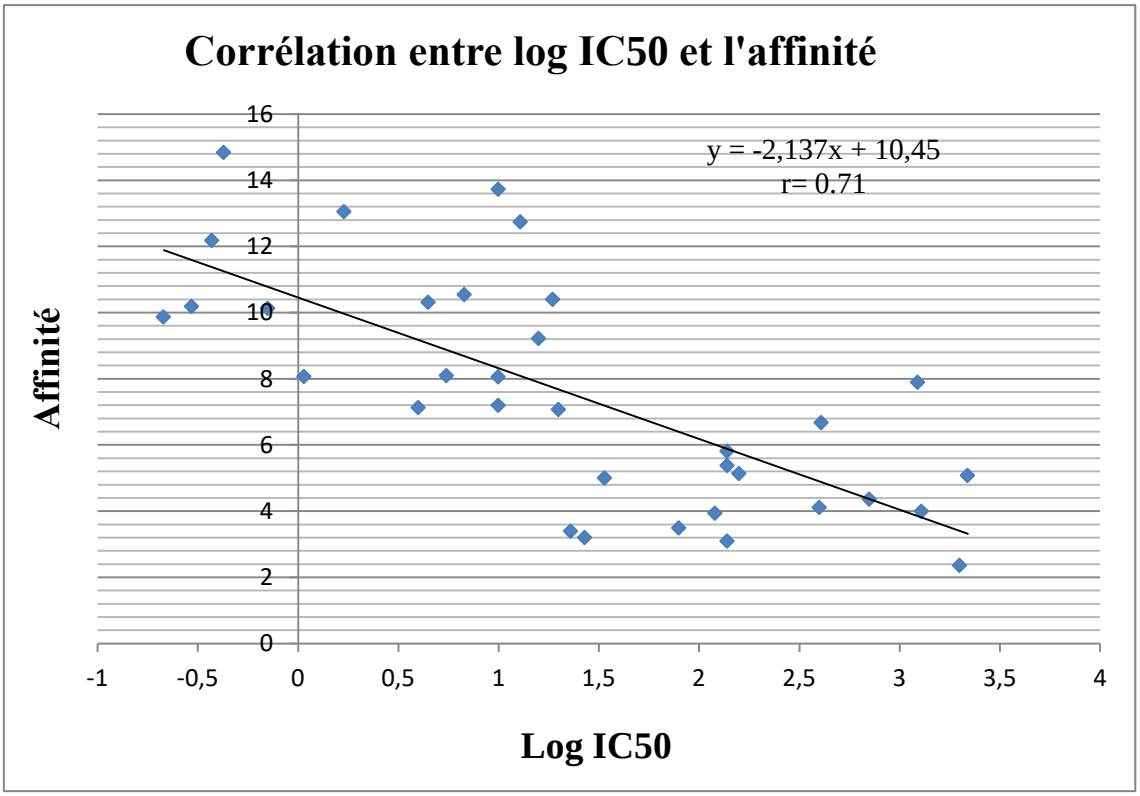


Figure V.6. Corrélation entre l'activité expérimentale (Log IC_{50}) et les valeurs d'affinité de divers inhibiteurs de la PDF.

L'analyse par régression linéaire de la corrélation entre le Log IC_{50} et les scores d'affinité obtenus par Surflex-Dock (v.1.3) met en évidence une corrélation linéaire inverse (r = 0,715). Cette relation indique que plus l'activité biologique est élevée (IC_{50} faible), plus le score d'affinité et favorable.

Ces résultats suggèrent une concordance acceptable entre les valeurs expérimentales et les prédictions issues du docking. Ils sont en accord avec les travaux de Merzoug *et al.* (2015), dans lesquels 23 complexes (peptide déformylase-inhibiteurs) ont été étudiés par Surflex-dock, avec un coefficient de corrélation élevé (r = 0,728), traduisant une bonne cohérence entre les résultats théoriques et expérimentaux.

Boucherit *et al.* (2014) ont docké 100 complexes (méthionine aminopeptidase-inhibiteurs) à l'aide de Surflex, et ont observé une corrélation satisfaisante entre les affinités de liaison calculées et les valeurs expérimentales d'IC50 (r = 0.76).

À la lumière des résultats obtenus lors du test de redocking, de l'analyse visuelle et de l'étude de corrélation linéaire, il apparait que le logiciel Surflex-Dock présente des

performances globalement satisfaisantes et une bonne capacité à prédire les interactions protéine-ligand.

Les résultats obtenus confirment sa fiabilité pour reproduire les conformations expérimentales et estimer l'affinité des composés étudiés. Ainsi, Surflex-Dock peut être utilisé avec un niveau de confiance acceptable pour la réalisation d'études de docking moléculaire et pour le criblage virtuel de nouveaux inhibiteurs de la cible enzymatique étudiée.

II. Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de la PDF *de H. pylori* par diverses molécules provenant de la PDB

Dans le but d'identifier de nouveaux inhibiteurs potentiels de la PDF *de H. pylori*, nous avons utilisé la technique de docking moléculaire à l'aide du logiciel Surflex-Dock. Cette approche nous a permis, d'une part, d'étudier et de modéliser les interactions entre les meilleurs inhibiteurs connus de la PDF et la cible protéique, et d'autre part, d'évaluer l'affinité de liaison des complexes formés.

II.1. Choix du complexe 4E9A

La structure tridimensionnelle de la PDF *de H. pylori*, utilisée dans cette étude, a été obtenue à partir de la PDB, principale base de données regroupant les structures cristallographiques des complexes protéine–ligand. Parmi les différents complexes disponibles pour cette cible enzymatique, nous avons sélectionné le complexe portant le code 4E9A, en raison de sa bonne résolution cristallographique (1,66 Å), ainsi que de la présence d'un inhibiteur co-cristallisé au niveau du site actif.

Les caractéristiques de cette enzyme sont regroupées dans le tableau V.4 ci-dessous.

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

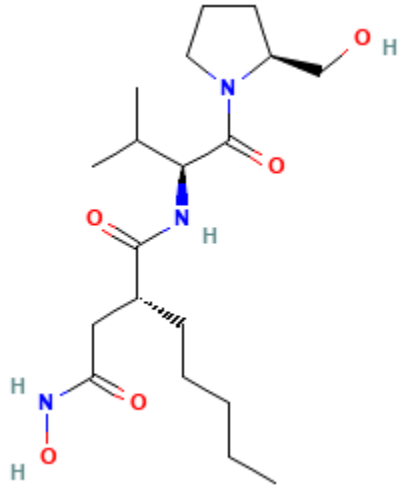
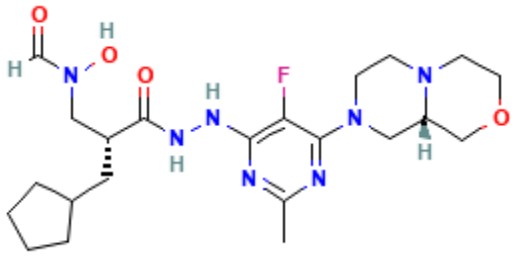
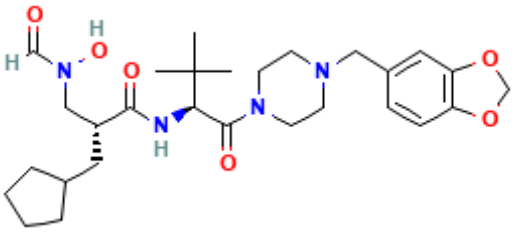
Code de l'enzyme	Code de l'inhibiteur	Organisme	Classification	Nombre de chaine	Résolution (Å)
4E9A	QAP	*Helicobacter pylori*	Hydrolase	1	1.66

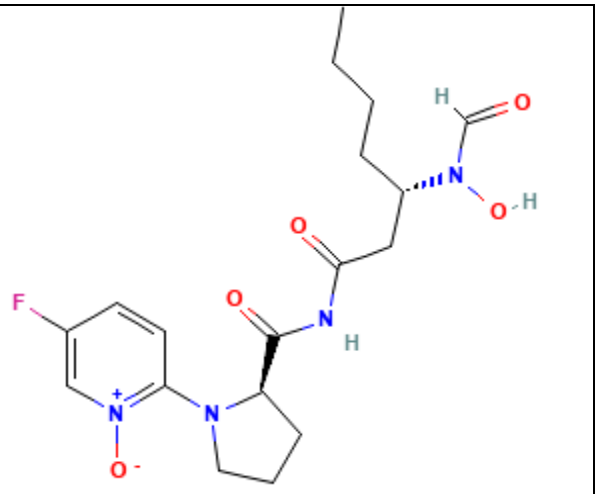
II.2. Docking moléculaire des meilleurs inhibiteurs connus de la PDF

Le docking moléculaire de quatre meilleurs inhibiteurs connus de la PDF a été effectué à l'aide du logiciel Surflex-Dock sur la structure cristallographique de l'enzyme codée 4E9A. Cette étude a permis d'analyser le positionnement des ligands dans le site actif ainsi que leurs interactions avec les résidus clés impliqués dans la reconnaissance moléculaire.

Les structures des inhibiteurs étudiés ainsi que les résultats du docking sont regroupés dans le tableau V.5.

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

L'inhibiteur	L'affinité (M^{-1})	Structure chimique
Actinonin	7.06	
GSK1322322	5.14	
BB-83698	6.63	

LBM415	3.66	

Parmi les inhibiteurs étudiés, l'actinonin présente la meilleure affinité pour la PDF de *H. pylori* (7,06 M^{-1}), traduisant ainsi un effet inhibiteur élevé. Cette forte affinité se caractérise par la formation de six liaisons hydrogène avec les résidus du site d'interaction, comme indiqué dans le tableau V.6 et la figure V.5 ci-dessous.

L'analyse réalisée à l'aide de Surflex-Dock a permis d'identifier aisément les résidus jouant un rôle critique dans la formation et la stabilité des complexes PDF de *H. pylori*-inhibiteurs, c'est-à-dire ceux contribuant de manière significative à l'énergie d'interaction.

L'actinonin établit quatre liaisons hydrogène avec les résidus du site actif par l'intermédiaire de son groupement hydroxamique. Son groupement hydroxyle est impliqué dans deux liaisons hydrogène : l'une avec l'amine latérale de Gln51, un acide aminé jouant un rôle important dans la fonction catalytique de cette enzyme (Becker *et al*, 1998), et l'autre avec le groupement carbonyle de Gly46. Par ailleurs, sa fonction NH interagit avec le groupement carboxyle de Glu139. La dernière liaison hydrogène est formée entre son groupement carbonyle et le NH de Leu97.

En outre, l'actinonin établit, par l'intermédiaire de l'oxygène de son groupement amide, une liaison hydrogène avec le NH d'Ile45. L'hydroxyle lié au noyau pyrrolidine est également engagé dans une liaison hydrogène avec le groupement OH de Tyr103.

Tableau V.6. Les liaisons hydrogène formées par l'actinonin.

Atome du ligand	Résidu impliqué
O-H	O-Tyr103
O	H-N-Ile45
O	H-N-Leu97
N-H	COOH-Glu139
O	N-H-Gln51
O-H	O-Gly46

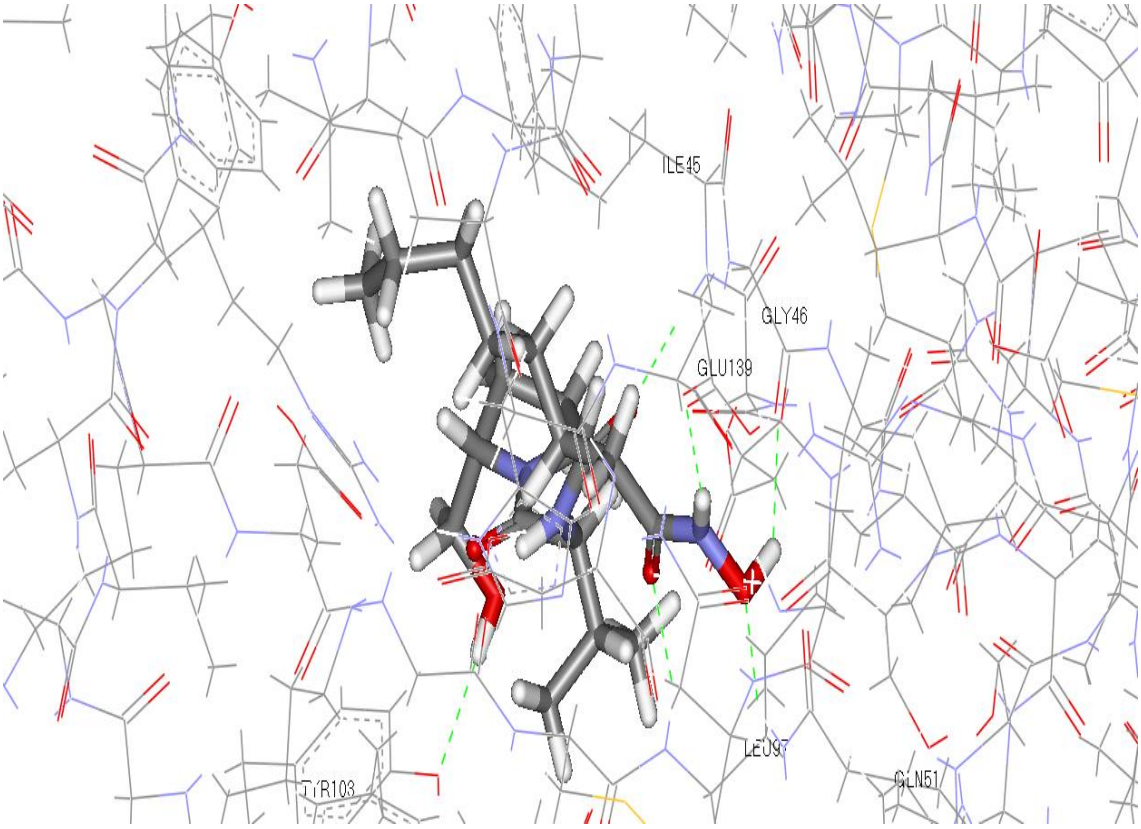


Figure V.7. Mode de liaison de l'actinonin au site actif de la PDF de *H. pylori*. Les tirets discontinus verts représentent les liaisons hydrogène.

III. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la PDF *de H. pylori*

L'actinonin ayant présenté la meilleure affinité parmi les inhibiteurs étudiés, elle a été retenue comme composé de référence pour la réalisation d'un criblage virtuel de molécules analogues. À partir de la base de données PubChem, 192 composés similaires ont été identifiés, puis évalués par docking moléculaire à l'aide du logiciel Surflex-Dock.

Les résultats obtenus ont révélé plusieurs analogues capables d'interagir favorablement avec le site actif de la PDF, certains présentant même des scores d'affinité supérieurs à celui de l'actinonin. Les données détaillées de cette analyse sont regroupées dans le tableau V.7.

Tableau V.7. Résultats du docking moléculaire des inhibiteurs au niveau du site actif de la protéine 4E9A obtenus par Surflex-Dock.

Code de l'inhibiteur	Affinité (M^{-1})	Code de l'inhibiteur	Affinité (M^{-1})	Code de l'inhibiteur	Affinité (M^{-1})
CID443600	7,06	CID169736851	7,00	CID166771709	6,35
CID445753	5,15	CID124146772	5,45	CID166771710	6 ,21
CID10295226	2,91	CID129163829	4,59	CID169710404	6,57
CID21145215	3,77	CID132182398	4,18	CID169727404	6,57
CID59908540	4,13	CID138470965	4,17	CID142170944	3,05
CID22666866	3,23	CID139293061	5,60	CID169736852	6,29
CID5289325	4,57	CID145751271	5,05	CID169736853	5,36
CID2020	5,91	CID10133711	7,27	CID171526097	7,21
CID10269609	4,42	CID140365639	3,98	CID172579691	2,59
CID44449667	4,47	CID141780098	5,21	CID4393	4,57
CID17754156	5,82	CID141818021	3,53	CID146187231	5,32
CID22096219	3,48	CID141866180	4,90	CID9844688	7,14
CID88053250	5 ,32	CID142065970	3,48	**CID9879394**	**8,42**
CID22490309	4,98	CID139514955	4,65	CID9907460	6,54
CID22490314	5,46	CID91120224	2,25	CID9944159	5,93
CID92209715	4,23	CID142912399	4,86	CID9946708	5,74
CID22490319	5,85	CID142964244	4,51	CID9841700	4,00
CID44344564	6,02	CID143263057	6,79	CID11257526	6,19
CID22490320	4,72	CID143355759	4,47	CID19766810	6,11
CID23520273	3,51	CID59060982	4,22	CID20779378	7,04
CID88053267	5,16	CID58710771	3,66	CID21734301	4 ,00
CID22490324	2,65	CID88232567	3,89	CID22096219	3,48
CID22490327	5,72	CID88053031	4,60	CID22666917	5 ,91
CID10272260	4,62	CID89654547	3,54	CID22666991	3,31
CID23520227	5,07	CID59902206	5,08	CID88007991	4,65
CID23520262	7,72	CID88053074	5,53	CID10475188	5,15
CID5288560	6,88	CID88232307	7,15	CID23520188	6,13
CID59908560	5,56	CID87966586	4,09	CID46235764	3,44
CID88180355	5,95	CID88233186	4,10	CID46235765	2,64
CID154702383	5,62	CID88232440	3,47	CID46235920	2,93
CID44305743	4,57	CID60108763	4,60	CID75411495	3,70
CID44406655	7,37	CID76766725	3,29	CID88230870	4,38

CID23520225	5,82	CID88052920	4,75	CID88232222	5,95
CID22490328	3,96	CID88232486	4,57	CID88232367	1,71
CID22666984	5,25	CID88232584	6,86	CID102781299	2,77
CID88053263	5,16	CID58726511	4,49	CID102788912	5,18
CID172640798	5,21	CID87966576	6,24	CID1098972583	4,76
CID22666896	5,88	CID88232306	7,20	CID109893571	4,41
CID92209716	3,45	CID10108890	6,45	CID109893608	4,96
CID9947520	7,22	CID9929837	6,25	CID109893659	4,23
CID22666979	6,03	CID10111557	5,80	CID109893721	5,47
CID92209717	3,65	CID10111558	4,53	CID110021741	4,77
CID9839307	5,24	CID9950544	4,42	CID112355443	5,55
CID9902016	4,08	CID10134642	4,30	CID112355471	4,30
CID9819378	3,93	CID10199990	6,35	CID113735611	4,09
CID88230918	3,13	CID22667024	5,26	CID113735634	3,30
CID88053305	5,35	CID88394246	6,00	CID114240252	4,47
CID88232551	6,91	CID88232602	4,17	CID122409205	5,82
CID54067801	4,26	CID59908491	4,20	CID135569754	5,37
CID54472722	5,32	CID53758272	3,99	CID135581525	7,11
CID58319606	6,34	CID23520184	5,50	CID135594358	5,14
CID58341158	2,10	CID88936994	6,51	CID135779875	5,86
CID76766645	3,27	CID88233189	4 ,15	CID135789534	5,91
CID23520193	5,11	CID59891434	4,49	CID135815453	5,48
CID57092357	3,20	CID88232552	4,61	CID135854488	3,27
CID87972156	4,58	CID88230921	3,13	CID141912252	5,12
CID60055927	3,86	CID88232570	6,77	CID142912399	4,86
CID67862225	4,52	CID73895485	4,56	CID145508191	4,22
CID67742382	7,76	CID88233051	6,69	CID162884930	3,48
CID76766658	1,33	CID161727711	4,51	CID166771705	6,79
CID58341069	5,11	CID139616993	4,14	CID89654549	3,54
CID58341083	2,19	CID166748679	6,70	CID46235764	6,47

Parmi les analogues de l'actinonin étudiés, le composé 2-[(3R,4S)-4-butyl-1-(5-hydroxypentyl)-2-2oxopyrrolidin-3-yl]-N-hydroxy- acetamide, référencé dans PubChem sous l'identifiant CID_9879394, a montré la plus forte affinité de liaison pour la PDF de *H. pylori*, avec une valeur de 8.42 M^{-1}, indiquant une meilleure stabilité du complexe PDF-inhibiteur.

Il est suivi par les composés CID67742382 (7,76 M^{-1}) et CID23520262 (7,72 M^{-1}). Les autres analogues présentent des valeurs d'affinité comprises entre 1.33 M^{-1} et 7,37 M^{-1}, confirmant leur capacité à interagir favorablement avec le site actif de l'enzyme. Ainsi, CID9879394 apparaît comme le composé le plus prometteur parmi les molécules étudiées.

L'analyse de docking moléculaire a montré que cette molécule s'insère profondément dans le site actif de l'enzyme. Son groupement hydroxamique ainsi que sa fonction carbonyle participent à la formation de six liaisons hydrogène avec des résidus catalytiques essentiels (Figure V.7.), notamment le Gln51, qui joue un rôle clé dans la fonction catalytique de cette enzyme (Becker *et al*, 1998).

L'ensemble de ces interactions suggère que CID_9879394 est capable de perturber la stabilité de la triade catalytique et d'entraver l'interaction des résidus clés avec le substrat, compromettant ainsi l'élimination du groupement formyl en position N-terminale de la méthionine.

Le réseau de liaisons hydrogène établi par CID_9879394 est très similaire à celui observé pour l'actinonin au sein du site actif de la peptide PDF (Figure de CID_9879394 (Figure V.8) et Figure de l'actinonin (Figure V.7). Cette similitude du mode de fixation suggère que CID_9879394 pourrait reproduire un mécanisme d'inhibition analogue à celui de l'actinonin. Par conséquent, ce composé est susceptible de présenter des propriétés antibactériennes comparables, en interférant efficacement avec l'activité enzymatique de la PDF.

La plus grande puissance inhibitrice de CID_9879394 par rapport à l'actinonin peut être attribuée à des interactions hydrogène plus favorables au sein de la poche catalytique, contribuant à une meilleure stabilité du complexe ligand–enzyme et, par conséquent, à une inhibition plus efficace de la PDF. Un résumé détaillé de ces interactions est présenté dans le Tableau V.8.

Fait intéressant, CID_9879394 établit un réseau de liaisons hydrogène avec plusieurs résidus clés, notamment Ile45, Gly46, Gln51, Leu97 et Glu139, reproduisant de manière remarquable le mode de fixation de l'actinonin au sein du site actif. Cette forte similitude des interactions moléculaires suggère que CID_9879394 est capable d'occuper efficacement la cavité catalytique de l'enzyme, renforçant son potentiel inhibiteur en perturbant l'accès et la reconnaissance de substrat naturel.

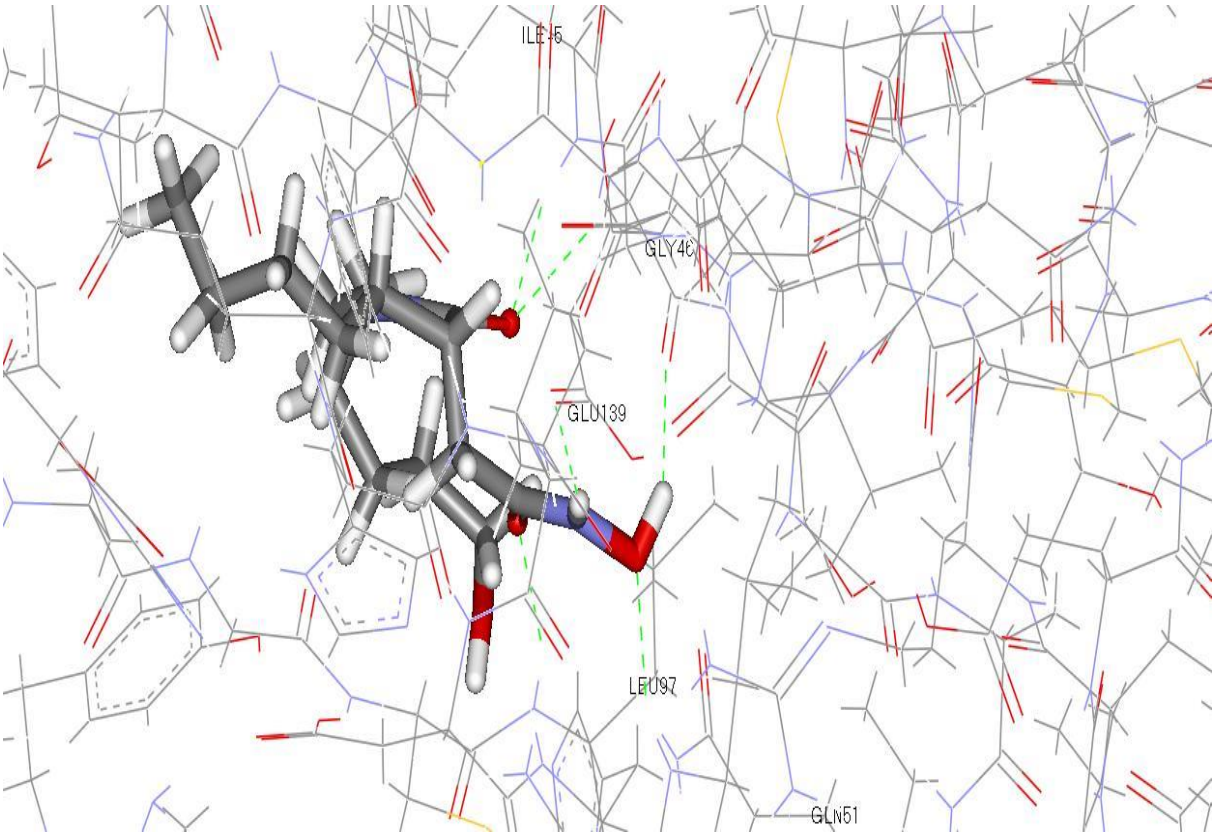


Figure V.8. Docking du composé CID_9879394 dans le site de liaison de la PDF de *H. pylori*.

Tableau V.8. Les liaisons hydrogène formées par le composé CID_9879394 .

Atome du ligand	Résidu impliqué
O	H-N-Gly46
O	H-N-Ile45
O	H-N-Leu97
N-H	HO-CO-Glu139
O	N-H-Gln51
O-H	O-Gly46

IV. Prédiction des propriétés physicochimiques et ADME-Tox

Dans la partie suivante de notre étude, nous avons utilisé les serveurs SwissADME et Protox-II 3.0 afin de prédire les propriétés physicochimiques, les paramètres pharmacocinétiques ainsi que les profils de toxicité de l'inhibiteur de la PDF le plus

prometteur, CID_9879394. Les mêmes propriétés ont également été évaluées pour l'actinonin afin de permettre une comparaison.

Selon l'analyse résumée dans le Tableau V.9, le CID_9879394 est supposé présenter une forte absorption gastro-intestinale, comparable à celle de l'actinonin. Fait important, il ne devrait pas inhiber la P-glycoprotéine, un facteur clé susceptible d'améliorer son absorption, sa perméabilité et sa rétention dans l'organisme.

Les enzymes du cytochrome P450 (CYP) jouent un rôle central dans le métabolisme de phase I, en générant une large gamme de métabolites primaires, y compris des espèces potentiellement toxiques ou réactives (Edache *et al.* 2024). Ces monooxygénases interviennent dans le métabolisme des médicaments ainsi que dans la biosynthèse du cholestérol, des stéroïdes et d'autres lipides. Compte tenu de leur rôle essentiel dans la détoxification, il est principalement au niveau hépatique, il est indispensable d'évaluer le potentiel inhibiteur des composés candidats vis-à-vis des principales isoformes des CYP (Edache *et al.* 2026). Dans ce contexte, le CID_9879394 est prédit comme n'inhibant pas les principales isoformes du cytochrome P450, suggérant un risque réduit d'interactions médicamenteuses et une biotransformation favorable.

La « règle des cinq » de Lipinski est largement utilisée pour évaluer le caractère « *drug-like* » des composés en termes de propriétés ADME. Selon cette règle, un médicament actif par voie orale ne doit pas présenter plus d'une violation parmi les critères suivants : pas plus de 5 donneurs de liaisons hydrogène, 10 accepteurs de liaisons hydrogène, une masse moléculaire inférieure à 500 Da, et un logP calculé ≤ 5 (Lipinski *et al.* 1997). Le CID_9879394 ne présente aucune violation, et satisfait ainsi aux critères de biodisponibilité orale. De plus, il présente un score de biodisponibilité de 0,55, ce qui renforce son potentiel en tant que médicament administré par voie orale.

Un aspect important à considérer lors de l'optimisation d'un médicament est l'accessibilité synthétique du composé. Ce paramètre est évalué sur une échelle de 1 à 10 (Ertl et Schuffenhauer 2009 ; Parrot *et al.* 2023), une valeur seuil d'environ 6.0 étant couramment utilisée comme seuil pour distinguer les molécules synthétiquement accessibles de celles considérées comme difficiles (Skoraczyński *et al.* 2023). Comme indiqué dans le Tableau V.9, le CID_9879394 présente un score inférieur à ce seuil (4.2), suggérant que sa synthèse chimique est probablement réalisable.

Les prédictions de toxicité issues de Protox-II 3.0 indiquent que le CID_9879394 est non hépatotoxique, non immunotoxique, non mutagène et non cytotoxique. Toutefois, une

activité carcinogène est prédite, ce qui nécessite des investigations expérimentales complémentaires afin de confirmer ou d'infirmer ce résultat.

Globalement, comparé à l'inhibiteur de référence, l'actinonin, le CID_9879394 présente des profils pharmacocinétiques et toxicologiques globalement similaires (Tableau V.9). Ces résultats suggèrent que le CID_9879394 possède un fort potentiel en tant que candidat médicament thérapeutique prometteur.

Tableau V.9. Prédiction des profils ADME-Tox du meilleur inhibiteur comparée à celle de l'inhibiteur de référence.

Critère	**CID_9879394**	**Actinonin**
Absorption gastro-intestinale	Forte	Forte
Inhibition de la P-glycoprotéine	Non	Non
Score de biodisponibilité	0.55	0.55
Solubilité dans l'eau	Soluble	Soluble
Inhibition du CYP1A2	Non	Non
Inhibition du CYP2C19	Non	Non
Inhibition du CYP2C9	Non	Non
Inhibition du CYP2D6	Non	Non
Inhibition du CYP3A4	Non	Non
Règle de Lipinski	Oui	Oui
Règle de Veber	Non (1 violation: nombre de liaisons rotables > 10)	Non (1 violation: nombre de liaisons rotables > 10)
Accessibilité synthétique	4.2	3.38
Hépatotoxicité	Inactive	Inactive
Carcinogénicité	active	active
Immunotoxicité	Inactive	Inactive
Mutagénicité	Inactive	Inactive
Cytotoxicité	Inactive	Inactive

L'ensemble des résultats issus des analyses *in silico* suggère que le composé CID_9879394 présente des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques globalement

favorables, ce qui en fait un candidat prometteur en tant que nouvel inhibiteur de la peptide déformylase de *H. pylori*.

Conclusion

Conclusion

L'infection à *Helicobacter pylori*, bactérie responsable de nombreuses pathologies gastriques allant des ulcères gastroduodénaux au cancer gastrique, constitue un problème majeur de santé publique. L'émergence croissante de souches résistantes aux antibiotiques conventionnels souligne la nécessité de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques. Dans ce contexte, la peptide déformylase, enzyme essentielle à la maturation des protéines bactériennes et absente chez les mammifères, représente une cible thérapeutique particulièrement attractive.

Dans cette étude, une approche de criblage virtuel basée sur le docking moléculaire à l'aide du logiciel Surflex-Dock, a été mise en œuvre afin d'identifier de potentiels inhibiteurs de la PDF de *H. pylori*. La validation du protocole de docking repose sur le calcule du RMSD, l'analyse visuelle des poses et l'étude de corrélation entre les scores de docking et les données expérimentales, a confirmé la fiabilité de la méthodologie employée, avec un taux de succès de 74,26 % et un coefficient de corrélation de 0,715.

Le criblage de 192 analogues de l'actinonin, retenu comme inhibiteur de référence en raison de son meilleur score d'affinité parmi les composés étudiés (7,06 M^{-1}), a permis d'identifier le composé CID_9879394 comme le candidat le plus prometteur. Ce dernier présente un score d'affinité supérieur (8,42 M^{-1}), ainsi qu'un mode d'interaction comparable à celui de l'actinonin, impliquant plusieurs résidus clés du site actif, notamment Gln51, Ile45, Gly46, Leu97 et Glu139.

Par ailleurs, l'évaluation *in silico* des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques a révélé un profil favorable pour ce composé, caractérisé par une bonne biodisponibilité orale, le respect de la règle de Lipinski, l'absence d'inhibition significative des cytochromes CYP450 ainsi qu'une faible toxicité prédite.

Ainsi, le composé CID_9879394 apparaît comme un candidat prometteur pour le développement de nouveaux agents anti-*Helicobacter pylori*. Toutefois, ces résultats préliminaires nécessitent d’être confirmés par des études expérimentales complémentaires, notamment des essais *in vitro* et *in vivo*, afin de valider son activité biologique, son innocuité et son potentiel thérapeutique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Ali, A., & AlHussaini, K. I. (2024). *Helicobacter pylori*: A contemporary perspective on pathogenesis, diagnosis and treatment strategies. Microorganisms, 12(1), 222.

Anusha, B., & Kamala G. R. (2025). Principles and applications of molecular docking in drug discovery and development. Journal of Pharma Insights and Research, 3(4), 145–146.

Banerjee, P., Kemmler, E., Dunkel, M., & Preissner, R. (2024). ProTox 3.0: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. Nucleic Acids Research, 52(W1), W513–W520.

Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T., Shindyalov, I., & Bourne, P. (2000). The Protein Data Bank. Nucleic Acids Research, 28, 235–242.

Bessede, E. (2012). Étude des mécanismes de la carcinogénèse gastrique induite par *Helicobacter pylori* impliquant la transition épithélio-mésenchymateuse [Thèse de doctorat]. Université de Bordeaux 2.

Biesiada, J., Porollo, A., Velayutham, P., Kouril, M., & Meller, J. (2011). Survey of public domain software for docking simulations and virtual screening. Human Genomics, 5(5), 497–505.

BioPharmics LLC. (2005). Surflex Manual: Docking and Similarity (version 1.3).

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(5), 63–73.

Burley, S. K., Bhikadiya, C., Bi, C., Bittrich,S, Chen,L., Crichlow,G. V., Christie,C. H., Dalenberg,K., Costanzo,L. Di., Duarte,J. M., Dutta,S., Feng,Z., Ganesan,S., Goodsell,D. S., Ghosh.S., Green,R. K., Guranović.V., Guzenko,D., Hudson,B. P., Lawson,C. L., Liang,Y., Lowe,R., Namkoong,H., Peisach,E., Persikova,I., Randle,C., Rose,A., Rose,Y., Sali,A., Segura,J., Sekharan,M., Shao,C., Tao,Y. P., Voigt,M., Westbrook,J. D., Young,J. Y.,ZardeckiC., & ZhuravlevaM. (2019). RCSB Protein Data Bank: powerful new tools for exploring 3D structures. Nucleic Acids Research. 49(D1):D437-D451.

Cai, J., Han, C., Hu, T., Zhang, J., Wu, D., Wang, F., Liu, Y., Ding, J., Chen, K., Yue, J., Shen, X., & Jiang, H. (2006). Peptide deformylase is a potential target for anti-*Helicobacter pylori* drugs: Reverse docking, enzymatic assay, and X-ray crystallography validation. Protein Science, 15(9), 2071–2081.

Chaudhary, M., & Tyagi, K. (2024). A review on molecular docking and its application. International Journal of Advanced Research, 12(03), 1143–1144.

Chen, D. Z., Patel, D. V., Hackbarth, C. J., Wang, W., Dreyer, G., Young, D. C., Margolis, P. S., Wu, C., Ni, Z.-J., Trias, J., White, R. J., & Yuan, Z. (2000). Actinonin, a naturally occurring antibacterial agent, is a potent deformylase inhibitor. Biochemistry, 39(6), 1256–1262.

Cherkaoui Malki, M. (2018). Y a-t-il une corrélation entre la densité bactérienne et l'apparition des lésions prénéoplasiques chez les patients infectés par l'*Helicobacter pylori* [Thèse de doctorat]. Université Mohamed V de Rebat.

Cover, T. L., & Blaser, M. J. (1996). *Helicobacter pylori* infection, a paradigm for chronic mucosal inflammation: Pathogenesis and implications for eradication and prevention. Advances in Internal Medicine, 41, 85–117.

Cover, T. L., & Blaser, M. J. (2009). *Helicobacter pylori* in health and disease. Gastroenterology, 136(6), 1863–1873.

Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. Scientific Reports, 7, 42717.

De Korwin, J. D. (1993). *Helicobacter pylori* et muqueuses gastriques et duodénales. Lettres de l'Infectiologie, 8(5), 164–171.

D'Elios, M. M., Amedei, A., Benagiano, M., Azzurri, A., & Del Prete, G. (2005). *Helicobacter pylori*, T cells and cytokines: The « dangerous liaisons ». FEMS Immunology & Medical Microbiology, 44(2), 113–119.

Divisi, D., Di Leonardo, G., Zaccagna, G., & Crisci, R. (2017). Basic statistics with Microsoft Excel: A review. Journal of Thoracic Disease, 9(6), 1734–1740.

Dsouza, R. N., Pischel, U., & Nau, W. M. (2011). Fluorescent dyes and their supramolecular host/guest complexes with macrocycles in aqueous solution. Chemical Reviews, 111(12), 7941–7980.

Fakhar, N. (2018). *Helicobacter pylori* et santé parodontale [Thèse de doctorat]. Université de Lorraine.

Fauchere, J.-L. (1994). Infections gastriques à *Helicobacter pylori*. Gastroentérologie clinique et biologique, 18(3), 212–216.

Ferrand, J. (2009). *Helicobacter pylori* dans un modèle de carcinogenèse gastrique impliquant les cellules souches mésenchymateuses [Thèse de doctorat]. Université de Bordeaux 2.

Fox, W., Imbeau,L. M. (1999). Statistiques sociales (3e éd.). Ed : Presses Université Laval.France. 374 p.

Fritsche, T. R., Sader, H. S., Cleeland, R., & Jones, R. N. (2005). Comparative antimicrobial characterization of LBM415 (NVP PDF-713), a new peptide deformylase inhibitor of clinical importance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 49(4), 1468–1476.

Fu, G., Batchelor, C., Dumontier, M., Hastings, J., Willighagen, E., & Bolton, E. (2015). PubChemRDF: Towards the semantic annotation of PubChem compound and substance databases. Journal of Cheminformatics, 7, 34.

Grzela, R., Nusbaum, J., Fieulaine, S., Lavecchia, F., Bienvenut, W. V., Dian, C., Meinnel, T., & Giglione, C. (2017). The C-terminal residue of phage Vp16 PDF, the smallest peptide deformylase, acts as an offset element locking the active conformation. Scientific Reports, 7(1), 11041.

Gueneau, P., Fuenmayor, J., Aristimuño, O. C., Cedeño, S., Báez, E., Reyes, N., Michelangeli, F., & Domínguez-Bello, M.-G. (2002). Are goats naturally resistant to gastric Helicobacter infection? Veterinary Microbiology, 84(1–2), 115–121.

Hähnke, V. D., Kim, S., & Bolton, E. E. (2018). PubChem chemical structure standardization. Journal of Cheminformatics, 10, 36.

Hansch, C., & Fujita, T. (1964). ρ-σ-π Analysis: A method for the correlation of biological activity and chemical structure. Journal of the American Chemical Society, 86, 1616–1626.

Harvey, A. L., Edrada-Ebel, R., & Quinn, R. J. (2015). The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. Nature Reviews Drug Discovery, 14(2), 111–129.

Heinz, H., & Ramezani-Dakhel, H. (2016). Simulations of inorganic-bioorganic interfaces to discover new materials: Insights, comparisons to experiment, challenges, and opportunities. Chemical Society Reviews, 45(2), 412–448.

Isomoto, H., Moss, J., & Hirayama, T. (2010). Pleiotropic actions of Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin, VacA. The Tohoku Journal of Experimental Medicine, 220(1), 3–14.

Jain, R., Chen, D., White, R. J., Patel, D. V., & Yuan, Z. (2005). Bacterial peptide deformylase inhibitors: A new class of antibacterial agents. Current Medicinal Chemistry, 12(14), 1606–1621.

Jorgensen, W. L. (2004). The many roles of computation in drug discovery. Science, 303(5665), 1813–1818.

Karigar, C. S., & Rao, S. S. (2011). Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: A review. Enzyme Research, 2011, 805187.

Khemnar, M. D., Galave, V. B., Kulkarni, V. C., Menkudale, A. C., & Otari, K. V. (2021). A review on molecular docking. International Research Journal of Pure & Applied Chemistry, 22(3), 61.

Kim, S. (2016). Getting the most out of PubChem for virtual screening. Expert Opinion on Drug Discovery, 11, 843–855.

Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. (2021). PubChem in 2021: New data content and improved web interfaces. Nucleic Acids Research, 49, D1388–D1395.

Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., Han, L. Y., He, J. E., He, S. Q., Shoemaker, B. A., Wang, J. Y., Yu, B., Zhang, J., & Bryant, S. H. (2016). PubChem Substance and Compound databases. Nucleic Acids Research, 44, D1202–D1213.

Kim, S., Thiessen, P. A., Cheng, T., Yu, B., & Bolton, E. E. (2018). An update on PUG-REST: RESTful interface for programmatic access to PubChem. Nucleic Acids Research, 46, W563–W570.

Kim, S., Thiessen, P. A., Cheng, T., Zhang, J., Gindulyte, A., & Bolton, E. E. (2019). PUG-View: Programmatic access to chemical annotations integrated in PubChem. Journal of Cheminformatics, 11, 56.

Lacave, R., Larsen, C. J., & Robert, J. (2005). Cancérologie fondamentale. Ed: John Libbey Eurotext. Montrouge. 437p.

Leeds, J. A., & Dean, C. R. (2006). Peptide deformylase as an antibacterial target: A critical assessment. Current Opinion in Pharmacology, 6(5), 445–452.

Lin, S. K., Lambert, J. R., Schembri, M. A., Nicholson, L., & Korman, M. G. (1994). Helicobacter pylori prevalence in endoscopy and medical staff. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 9(4), 319–324.

Lofland, D., Difuntorum, S., Waller, A., Clements, J. M., Weaver, M. K., Karlowsky, J. A., & Johnson, K. (2004). In vitro antibacterial activity of the peptide deformylase inhibitor BB-83698. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53(4), 664–668.

Mendez, D., Gaulton, A., Bento, A. P., Chambers, J., De Veij, M., Felix, E., Magarinos, M. P., Mosquera, J. F., Mutowo, P., Nowotka, M., Gordillo-Maranon, M., Hunter, F., Junco, L., Mugumbate, G., Rodriguez-Lopez, M., Atkinson, F., Bosc, N., Radoux, C., Segura-Cabrera, A., Hersey, A., & Leach, A. R. (2019). ChEMBL: Towards direct deposition of bioassay data. Nucleic Acids Research, 47, D930–D940.

Merzoug, A. (2012). Étude in silico de l'inhibition de la peptide déformylase [Mémoire de magistère]. Université Mentouri Constantine.

Miendje Deyi, V. (2011). Practical use of HelicoDR™ in the management of *H. pylori* diagnosis and antimicrobial susceptibility testing. Diagn Microbiol Infect Dis, 70(4), 557-60.

Naderer, O. J., Dumont, E., Zhu, J., Kurtinecz, M., & Jones, L. S. (2013). Single-dose safety, tolerability, and pharmacokinetics of the antibiotic GSK1322322, a novel peptide deformylase inhibitor. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 57(5), 2005–2009. Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural products as sources of new drugs over

the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. Journal of Natural Products, 83(3), 770–803.

O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel: An open chemical toolbox. Journal of Cheminformatics, 3(1), 33.

Pei, D. (2001). Peptide deformylase: A target for novel antibiotics? Emerging Therapeutic Targets, 5(1), 23–40.

Pushpakom, S., Iorio, F., Eyers, P. A., Escott, K. J., Hopper, S., Wells, A., Doig,A., Guilliams,T., Latimer,J., McNamee,C., Norris,A., Sanseau,Philippe., Cavalla,D., &Pirmohamed M. (2019). Drug repurposing: Progress, challenges and recommendations. Nature Reviews Drug Discovery, 18(1), 41–58.

Raaf, N. (2018). Prévalence de l'infection à *Helicobacter pylori* et typage moléculaire des souches isolées à Alger (Algérie) [Thèse de doctorat]. Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Raval, K., & Ganatra, T. (2022). Basics, types and applications of molecular docking. International Journal of Comprehensive and Advanced Pharmacology, 7(1), 13.

Sayers, E. W., Beck, J., Bolton, E. E., Bourexis, D., Brister, J. R., Canese, K., Comeau, D. C., Funk, K., Kim, S., Klimke, W., Marchler-Bauer, A., Landrum, M., Lathrop, S., Lu, Z., Madden, T. L., O'Leary, N., Phan, L., Rangwala, S. H., Schneider, V. A., Skripchenko, Y., Wang, J., Ye, J., Trawick, B. W., Pruitt, K. D., & Sherry, S. T. (2021). Database resources of the National Center for Biotechnology Information. Nucleic Acids Research, 49, D10–D17.

Shoichet, B. K. (2004). Virtual screening of chemical libraries. Nature, 432(7019), 862–865.

Tee, W., Lambert, J. R., & Dwyer, B. (1995). Cytotoxin production by *Helicobacter pylori* from patients with upper gastrointestinal tract diseases. Journal of Clinical Microbiology, 33(5), 1203–1205.

Trouillas, S. (2010). Éradication d'*Helicobacter pylori* : Évaluation d'un traitement non conventionnel [Thèse de doctorat]. Association Nationale des Hépato-gastroentérologues des Hôpitaux généraux

Vaghela, A. R. (2026). Molecular docking in drug design: Basic concepts and application spectrums. American Journal of Pharmacotherapy and Pharmaceutical Science, 5, 1.

Vakser, I. A. (2014). Protein-protein docking: From interaction to interactome. Biophysical Journal, 107(8), 1785–1793.

Vamathevan, J., Clark, D., Czodrowski, P., Dunham, I., Ferran, E., Lee, G., et al. (2019). Applications of machine learning in drug discovery and development. Nature Reviews Drug Discovery, 18(6), 463–477.

wwPDB Consortium. (2019). Protein Data Bank: The single global archive for 3D macromolecular structure data. Nucleic Acids Research, 47(D1), D520-D528.

Zacharie, S. (2014). *Hélicobacter pylori : étude rétrospective sur l'efficacité de Pylera®*. [Thèse de pharmacie]. Université de Limoges.

Zhang, C., Tang, B., Wang, Q., & Lai, L. (2014). Discovery of binding proteins for a protein target using protein-protein docking-based virtual screening. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 82(10), 2472–2482.

Zine-Charaf, A. (2007). Pathologie gastriques et infection à *Helicobacter pylori*. (2e éd.). Ed : Office des publications universitaire, 233p.

Nom et Prénom : **Date de soutenance : 27/06/2026**

Khelil Amani

Thème :

Identification de nouveaux agents antibactériens par criblage virtuel et filtrage ADME-Tox : ciblage de la peptide déformylase de *Helicobacter pylori*

Résumé

L'infection à *Helicobacter pylori,* bactérie impliquée dans de nombreuses pathologies gastriques, constitue un important problème de santé publique. L'émergence croissante de souches résistantes aux antibiotiques conventionnels souligne la nécessité de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques. Dans ce contexte, la peptide déformylase, enzyme essentielle à la maturation des protéines bactériennes et absente chez les mammifères, représente une cible thérapeutique particulièrement prometteuse. Le présent travail a pour objectif d'identifier de nouveaux inhibiteurs potentiels de la peptide déformylase de *H. pylori* à travers une approche de criblage virtuel basée sur le docking moléculaire à l'aide du logiciel Surflex-Dock, et associée à l'évaluation des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques via les plateformes SwissADME et ProTox-II 3.0.

La fiabilité du protocole de docking a été validée par le test du RMSD, indiquant un taux de réussite de 74,26 %, ainsi que par l'analyse visuelle des poses de docking et l'étude de la corrélation linéaire entre les activités expérimentales et les scores d'affinité prédits ($r = 0,715$).

Parmi les inhibiteurs étudiés, l'actinonin a présenté la meilleure affinité de liaison, avec un score de 7,06 M^{-1}, et a été retenue comme molécule de référence pour le criblage de 192 analogues structuraux issus de la base de données PubChem. Le composé CID_9879394 s'est distingué comme le candidat le plus prometteur, avec un score d'affinité supérieur de 8,42 M^{-1}. L'analyse des interactions moléculaires a révélé un mode de liaison similaire à celui de l'actinonin, impliquant plusieurs résidus clés du site actif, notamment Gln51, Ile45, Gly46, Leu97 et Glu139.

L'évaluation des propriétés ADME-Tox a mis en évidence un profil pharmacocinétique et toxicologique favorable pour ce composé, caractérisé par une bonne biodisponibilité orale, le respect de la règle de Lipinski, l'absence d'inhibition prédite des principales isoformes du cytochrome P450 ainsi qu'une faible toxicité potentielle. Les résultats obtenus suggèrent que le composé CID_9879394 constitue un candidat prometteur pour le développement de nouveaux agents anti-*H. pylori*. Toutefois, des études expérimentales complémentaires *in vitro* et *in vivo* demeurent nécessaires afin de confirmer son activité biologique et d'évaluer son potentiel thérapeutique réel.

Mots-clés : *Helicobacter pylori*; peptide déformylase; docking moléculaire; criblage virtuel; Surflex-Dock; ADME-Tox.

Devant le jury :

Boubendir Abdelhafid	Professeur. Univ. A. Boussouf – Mila	President
Bousbia Sabri	MCA. Univ. A. Boussouf – Mila	Examinatur
Merzoug Amina	MCA. Univ. A. Boussouf – Mila	Prometrice