

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université MOHAMED Boudiaf – M'Sila

Faculté des sciences

Département de chimie

Mémoire de Fin d'Études

En vue de l'obtention du diplôme de

Master (LMD)

Spécialité : chimie pharmaceutique

Présenté et soutenu par :

Djeriou Assia Amroune nor elhouda Loubibet fatima Zahra

Intitulé :

3DQSAR, Docking moléculaire et criblage ADMET pour des inhibiteurs potentiels de la polymérisation de tubuline

Jury :

Dr :Haffar Hichem	Université de M'sila	Président
Pr : Latelli Nadjia	Université de M'sila	Examineur
Dr :BOUACHA Samir	Université de M'sila	Rapporteur

Année universitaire : 2020 /2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant tout, Nous commencerons par remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et la foi et de nous avoir permis d'arriver à ce stade.

Nous remercions notre encadreur, Monsieur BOUACHA Samir, pour sa présence tout au long de la préparation de ce mémoire, ainsi que pour les conseils, la confiance, la patience et le temps qui ont constitué une grande contribution de ce travail.

Nous remercions les membres du jury pour nous faire l'honneur D'examiner notre travail.

Nous tenons également à remercier Monsieur le chef de département de chimie : DAKHOUCHE Achour

Nos chères familles.

Tous les enseignants du département de chimie et les étudiants de la promotion

2020 /2021.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Merci à tous

Dédicaces

Merci ALLAH de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve, Je dédie ce travail : à Ma mère, la perle rare, la flamme de ma vie pour sa tendresse infinie et ses sacrifices, Mon père, pour son amour, son soutien et ses encouragements dans les moments les plus difficiles, A toute ma famille, mon petit frère Mohammed et mes sœurs. A tous mes amis et trinôme Assia et Nor. A toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Fatima Zahra loubibet.

Dédicaces

Dieu soit loué, qui m'a permis de terminer cette étape de ma carrière éducative et m'a aidé à chercher, travailler et terminer la rédaction de mon mémoire de fin d'études.

Je dédie ce travail à mon mari, dont le soutien a joué un rôle majeur en me donnant la capacité de continuer et de travailler. Je n'oublie pas non plus mes parents, qui ont été une forte motivation pour moi de réussir et de progresser par leurs prières et leurs encouragements, et ma merveilleuse tante qui a été la première personne qui a cru en mes capacités et m'a poussé à progresser, ainsi qu'à toutes mes sœurs et frères, à mes partenaires Assia et Fatima et tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin

Merci d'être dans ma vie

Amroune nor elhouda.



Dédicaces

Remercier Dieu le tout puissant de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchi et la force et la foi et de m'avoir permis d'arriver mon but ; Je dédie cela mon diplôme, le PR de mes efforts, la hauteur de mes études, et la joie que j'ai attendue toute ma vie, chez la personne À qui j'ai été élevé, source de soutien, d'amour et source d'espoir pour mon « cher père »

Pour le bon cœur et le flambeau de ma vie Qui était le lien et le compagnon au milieu de la route sombre

Ce qui cela me rappelle de prier jour et nuit, et son encouragement à moi dans les moments les plus difficiles, à ma « chère mère »

A toute ma famille, qui m'a tant encouragée

En particulier mon grand frère Tarek et mes sœurs Et les petit enfants Iyad et Renad.

A tous mes amis et À deux partenaire avec qui le travail n'était que plaisir et perspicacité

À toi chère Fatima et Nor qui avez su tellement nous apprendre avec tant de bonté et à tous ceux qui m'ont accompagné dans ma carrière universitaire

A toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Djeriou assia.

ملخص

في هذه الدراسة، تم استخدام الأساليب الأكثر استعمالاً في استراتيجيات اكتشاف جزيئات علاجية جديدة. من خلال هذا العمل، اعتمدنا على نموذج 3DQSAR وطريقة الإرساء وفحص ADMET من أجل توجيه و تخليق مشتقات الكولشيسين، كومبريتاستاتين A-4 ، بودوفيلوتوكسين، ميوسيفرين ، سلفوناميد و شالكون كمثبطات لبلمرة التوبولين. لوحظ عند استخدام 3DQSAR أن هناك علاقة قوية بين النشاط التجريبي والنشاط المتوقع، مما يشير إلى الجودة العالية لنموذج 3DQSAR الذي تم الحصول عليه. استعمال طريقة الإرساء من أجل فهم طريقة الارتباط بين المركبات النشطة المختارة والبروتين. عند فحص ADMET للمركبات النشطة، كانت النتائج متوافقة مع القيم المطلوبة.

الكلمات المفتاحية: بلمرة توبولين، نشاط بيولوجي، كولشيسين ، 3DQSAR ، الإرساء، ADMET.

Résumé

Dans cette étude, les méthodes les plus couramment utilisées dans les stratégies de découverte de nouvelles molécules thérapeutiques sont utilisées. A travers ce travail, nous nous sommes appuyés sur le modèle 3DQSAR, la méthode d'amarrage et le dosage ADMET afin de diriger et prioriser la synthèse des dérivés de colchicine, combrétastatine A-4, podophyllotoxine, myosevérine, sulfonamide et de chalcone comme des inhibiteurs de la polymérisation de tubuline. Il a été observé lors de l'utilisation de 3DQSAR qu'il y avait une forte corrélation entre l'activité expérimentale et prédite, indique la haute qualité du modèle 3DQSAR obtenu. La méthode d'amarrage était de comprendre la méthode de liaison entre les composés actifs sélectionnés et la protéine. En vérifiant ADMET pour les composés actifs, les résultats étaient en accord avec les valeurs requises.

Mots clé : Polymérisation de tubuline, Activité biologique, Colchicine, 3DQSAR, Docking, ADMET.

ABSTRACT :

In this study, the methods most commonly used in the strategies for discovering new therapeutic molecules are used. Through this work, we relied on the 3DQSAR model, the docking method and the ADMET assay in order to direct and prioritize the synthesis of colchicine, combretastatin A-4, podophyllotoxin, myoseverin, sulfonamide and chalcone derivatives as tubulin polymerization inhibitors. It was observed when using 3DQSAR that there was a strong correlation between experimental and predicted activity, indicating the high quality of the 3DQSAR model obtained. The docking method was to understand the method of binding between the selected active compounds and the protein. When checking ADMET for active compounds, the results were in agreement with the required values.

Keywords: Tubulin polymerization, Biological activity, Colchicine, 3DQSAR, Docking, ADMET.

Liste des Abréviations :

GTP : Guanosine-5'-triphosphate

GDP : guanosine diphosphate(Récepteur couplé aux protéines G)

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

CBSI: colchicine binding site inhibitors

MTA: microtubule targeting agent

BS: binding site

MTs: microtubule

FDA: Food and Drug Administration.

MTOC : le centre organisateur des microtubules.

GSTO1 : la Glutathion S-Transférase Omega 1.

MLSMR : Moléculaire Libraires Small Molécule Repository.

Phases de R&D : phases précoces de recherche et développement.

RD-QSAR : Receptor Dependent Quantitative Structure-Activity Relationship.

L'HTS: Criblage à haut débit (High-throughput screening)

3D : Trois dimensions.

ADMET : Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination et Toxicité.

AChe : Acetylcholinesterase.

GABA : Acide γ -aminobutyrique.

R&D : Recherche et de développement.

TGF: transforming growth factor.

RSA: Relation structure-activité.



GPCR : Ligand du récepteur couplé aux protéines G.

EGF : Epidermal Growth Factor.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

MALDI : Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization.

CA-4 : Combretastatin-4.

ATI : Arylthioindole.

MCF-7 : Michigan Cancer Foundation-7.

U937 : sont une lignée cellulaire modèle utilisée dans la recherche biomédicale .

HCT116: is a human colon cancer cell line used in therapeutic research and drug.

SMART : série de méthoxybenzoyl-aryl-thiazoles 4-substitués.

ATCAA : principal 2-arylthiazolidine-4-amides d'acide carboxylique.

CoMFA : Comparative Molecular Field Analysis.

CoMSIA : Comparative Molecular Similarity Indices Analysis.

IC50 : la concentration d'inhibiteur pour laquelle la vitesse initiale de formation de produit diminue jusqu'à la moitié de sa valeur mesurée en absence d'inhibiteur.

OPLS : Optimized Potentials for Liquids simulation

PDB : Protein Data Bank

QSAR : Quantitative Structure-Activity Relationship.

Liste des figures

Figure I.1: Classification des architectures macromoléculaires selon Tamolia.....	4
Figure I.2 : Structure tridimensionnelle d'un dimère de tubuline.....	6
Figure I.3 : Domaine GTPase (orange) et domaine d'activation de la tubuline (vert).....	7
Figure I.4 : Sites de fixation au GTP.....	8
Figure I.5 : structure tridimensionnelle d'un microtubule.....	9
Figure I.6 : étapes de nucléation et d'allongement de la <u>polymérisation</u> en une structure tubulaire.....	10
Figure I.7 : Assemblage des microtubules.....	10
Figure I.8 : Dynamique des microtubules.....	11
Figure I.9 : polymérisation de microtubule.....	12
Figure I.10 : sites de liaison à la tubuline(BS) des agents de ciblage de microtubules.....	14
Figure I.11 : Structure de colchicine.....	15
Figure I.12: Localisation du site de la colchicine dans la beta tubuline.....	16
Figure I.13 : Fixation de la colchicine dans la tubuline.....	16
Figure I.14: Structure de la combrétastatine A-4.....	17
Figure I.15 : Structure d'arylthioindole.....	18
Figure I.16 : Structure des chalcones.....	19
Figure I.17 : Structure de podophyllotoxine.....	19
Figure I.18: Structure de myosévérine.....	20
Figure I.19: Sulfonamides.....	21
Figure I.20: Structure de thiazolidinone.....	21



Figure I.21 : Analogues de thiazole et imidazole.....	22
Figure II.1 : Protocole de développement de nouvelle substance thérapeutique	28
Figure II.2 : Classification des méthodes de criblage virtuel « ligand- based » et « structure-based ».....	31
Figure II.3 : Schéma Liaison d'un ligand dans un récepteur.....	33
Figure II.4 : docking protein-ligand.....	34
Figure II.5 : Modèle de l'étude de relation structure activité.....	37
Figure III.1 : Inhibiteurs actifs & activité IC_{50}	49
Figure III.2 : Graphique de corrélation de p IC_{50} expérimental et prédit des ensembles d'apprentissage et de test.....	54
Figure III.3a : Aires du champ gaussian stérique pour la colchicine (ligand de référence)...	56
Figure III.3b : Aires du champ gaussian d'hydrophobe pour la colchicine.....	56
Figure III.3c : Aires du champ gaussian d'accepteur de liaison d'hydrogène pour la colchicine.....	57
Figure III.4a : Interactions de liaisons 2D et 3D du ligand 6 dans le site actif du récepteur 1SA0.....	59
Figure III.4b : Interaction de liaison 2D et 3D du ligand 22 dans le site actif du récepteur 1SA0.....	60
Figure III.4c : Interaction de liaison 2D et 3D du ligand 23 dans le site actif du récepteur 1SA0.....	61
Figure III.4.d : Interaction de liaison 2D et 3D du ligand 30 dans le site actif du récepteur 1SA0.....	62

Liste des Tableaux

Tableau III.1 : Données d'activité prédite pour l'apprentissage et le test de l'ensemble de ligands	52
Tableau III.2 : Valeurs statistiques pour le modèle 3D-QSAR généré par PLS.....	53
Tableau III.3 : Détails des calculs du modèle QSAR basé sur le terrain.....	55
Tableau III.4: Résultats de l'analyse d'amarrage des ligands sélectionnés.....	58
Tableau III.5 : Criblage in silico ADMET de ligands sélectinnés.....	64

Table des matières

<i>Remerciements</i>	3
<i>Dédicaces</i>	4
<i>Dédicaces</i>	III
<i>Dédicaces</i>	IV
<i>ملخص</i>	V
<i>Résumé</i>	VI
<i>ABSTRACT</i> :.....	VII
<i>Liste des Abréviations</i> :	VIII
<i>Liste des figures</i>	X
<i>Liste des Tableaux</i>	XII
<i>Introduction Générale</i>	c
CHAPITER I : Polymérisation de tubuline	1
<i>I.1. Définition d'un polymère</i>	4
<i>I.1.1. Différentes classes de polymères</i>	4
<i>I.2. Polymérisation</i>	5
<i>I.3. Les Protéines</i>	5
<i>I.3.1. Tubuline</i>	6
<i>I.3.2. L'architecture des microtubules</i>	8
<i>I.3.3. Nucléation</i>	9
<i>I.3.4. Assemblage des microtubules</i>	10
<i>I.4. Polymérisation de tubuline</i>	12
<i>a- La colchicine</i>	15
<i>b- La combrétastatine A-4 (CA-4)</i>	17
<i>c- Composés avec un noyau de l'indole</i>	17
<i>d- Dérivés de Chalcone</i>	18
<i>e. Dérivés / analogues de podophyllotoxine</i>	19

<i>f. Dérivés de myosévérine</i>	20
<i>g. Sulfonamides</i>	20
<i>h. Analogues de thiazolidinone, thiazole et imidazole</i>	21
<i>Références</i>	23
CHAPITRE II Méthodes de criblage Virtuel in silico	1
II. Le criblage	26
<i>II.1. Introduction</i>	26
<i>II.2. Le procédé de génération de nouveaux médicaments</i>	26
<i>II.3. Le criblage virtuel</i>	27
<i>II.3.1. Criblage virtuel « ligand-based »</i>	29
<i>II.3.2. Criblage virtuel « structure-based »</i>	29
<i>II.4. Filtrage ADME-Tox</i>	30
<i>II.5. Les récepteurs</i>	32
<i>II.6. Les ligands</i>	32
<i>II.7. Docking moléculaire</i>	33
<i>II.8. Pharmacophore</i>	34
<i>II.8.1. Pharmacophore (schéma pharmacophorique)</i>	34
<i>II.8.2. Modélisation des pharmacophores</i>	34
<i>II.9.3D QSAR</i>	35
<i>II.9.1. Définition</i>	35
<i>II.9.2. Objectifs du QSAR</i>	35
<i>II.9.3. Progrès dans les approches 3D-QSAR</i>	35
<i>II.9.4. Études 3D-QSAR</i>	36
<i>II.9.5. Modèles statistiques</i>	37
<i>Références :</i>	40
CHAPITRE III Résultats et discussion	23
III. 1. Introduction	41
III. 2. Matériels et méthodes	48
III.2.1. Base de données	48
III. 2.2. Préparation de la protéine	49
III. 2. 3. Génération des grilles de récepteur	49

<i>III. 2. 4. Préparation des ligands</i>	49
<i>III. 2. 5. Amarrage (docking)</i>	50
<i>III. 3. Résultats et discussion</i>	50
<i>III. 3.1. Modèle 3D-QSAR</i>	50
<i>III. 3.2. Amarrage (Docking)</i>	56
<i>III. 3.3. Prédiction d'ADMET</i>	62
<i>Références</i>	65
<i>Conclusion générale</i>	37

Introduction Générale

Pour 2015, 1,658 million de nouveaux cas de cancer et 589430 des décès ont été prévus dans le monde entier et, selon le Registre national du cancer (NCR), plus de 100000 sud Les Africains reçoivent un diagnostic de cancer chaque année avec un taux de survie de 60%, Le cancer fait référence à une croissance anormale ou à des tumeurs malignes et se caractérise par une prolifération incontrôlée de cellules malgré la restriction des nutriments et de l'espace.[1]

La résistance chimiothérapeutique cellulaire est un facteur majeur impliqué dans une mauvaise réponse et une réduction de la survie globale (SG) chez patientes atteintes d'un cancer.[2]

Les microtubules sont extrêmement importants dans le processus de mitose, au cours de laquelle les chromosomes dupliqués d'une cellule sont séparés en deux ensembles identiques avant le clivage de la cellule en deux cellules filles. Leur importance dans la mitose et la division cellulaire fait des microtubules une cible importante pour les médicaments anticancéreux. Les microtubules et leur dynamique sont les cibles d'un groupe chimiquement diversifié de médicaments antimitotiques (avec divers sites de liaison à la tubuline) qui ont été utilisés avec grand succès dans le traitement du cancer. Compte tenu du succès de cette classe de médicaments, il a été avancé que les microtubules représentent la meilleure cible de cancer à être identifiée à ce jour.[3]

Fait intéressant, un grand nombre de substances chimiquement diverses se lient à la tubuline soluble et / ou directement à la tubuline dans les microtubules. La plupart de ces composés sont des agents antimitotiques et inhibent la prolifération cellulaire en agissant sur la dynamique de polymérisation des microtubules du fuseau. [3]

Un groupe, connu sous le nom d'agents de déstabilisation des microtubules, inhibe la polymérisation des microtubules à des concentrations élevées et comprend plusieurs composés tels que les alcaloïdes Vinca , colchicine et combretastatins , qui sont utilisés cliniquement ou sont en cours d'investigation clinique pour le traitement du cancer.

La tubuline, cible connue des médicaments anticancéreux, possède plusieurs sites de liaison aux médicaments, les sites les plus étudiés étant les sites taxoïde, vinca et colchicine. Notre étude est basée sur la colchicine et ses analogues, ils agissent sur un site unique situé entre les monomères α - et β -tubuline dans un hétérodimère $\alpha\beta$.1 Ces composés présentent une

cytotoxicité significative en inhibant la polymérisation de la tubuline en microtubules, mais ils sont également hautement toxiques, ce qui limite grandement leur utilisation clinique.

Le monde de la recherche pharmaceutique optimise continuellement toutes les étapes de sa procédure d'invention et de mise au point de remède. La chimoinformatique est un outil de choix pour réduire le temps et le coût de développement d'un médicament. La bio-informatique apporte elle aussi sa participation à l'étude des interactions protéine-ligand par des méthodes comme « dynamique moléculaire » et « protéine-ligand docking »

Le docking moléculaire in silico vise à prévoir la structure d'un complexe moléculaire à partir des composées isolées, ce qui est notablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales in vitro. Les logiciels de docking sont donc des instruments très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la majorité des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, habituellement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée.

L'étude 3D-QSAR et d'amarrage (docking) pourrait offrir plus d'informations pour comprendre les caractéristiques structurales du site de liaison de la protéine et le détail des interactions protéine-ligand pour diriger la conception de nouvelles molécules potentielles

Dans la présente étude, les méthodes les plus utilisées dans les stratégies de découverte de nouvelles molécules à visée thérapeutiques sont utilisées. Au cours de ce travail, nous nous basons sur le modèle 3D QSAR, la méthode d'amarrage (docking) et le criblage in silico ADMET afin de guider et de prioriser la synthèse des molécules comme des inhibiteurs de la polymérisation de tubuline.

Pour faire ce travail d'une manière convenable on a divisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre est présenté un aperçu sur la protéine de tubuline et un rappel bibliographique sur les inhibiteurs les plus significatifs pour inhiber la polymérisation de tubuline.
- Le deuxième chapitre est consacré de l'intérêt du criblage dans le cadre de la recherche pharmaceutique pour répondre aux besoins de santé publique actuels en détaillant sur les différentes méthodes de criblage virtuel (Docking moléculaire, 3D-QSAR) et ADMET).

- Le troisième chapitre (partie pratique) regroupe les données relatives aux matériels et à méthodes utilisées au cours de ce travail. Puis nous exposerons le criblage par l'étude 3D-QSAR , docking moléculaire sur une chimiothèque virtuelle de dérivés de plusieurs molécules les plus significatives dans le but de sélectionner les composés prometteurs qui réagissent plus favorablement avec la tubuline.

Enfin, cette mémoire se termine par une conclusion générale.

CHAPTER I

Polymérisation de tubuline

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

I.1. Définition d'un polymère

Un polymère est une macromolécule formée de l'enchaînement covalent d'un très grand nombre d'unités de répétition qui dérivent d'un ou de plusieurs monomères (qui sont également appelés motifs) et préparée à partir de molécules appelées monomères.[4]

I.1.1. Différentes classes de polymères

Plusieurs classifications des composés macromoléculaires peuvent être proposées selon qu'on choisit l'origine, le type d'architecture, la structure chimique des motifs ou le types de polymérisation, comme base de la classification.

I.1.1.1. Classification selon l'origine

Les polymères classés selon l'origine peuvent être :

- Des polymères naturels : ce sont des composés organiques formant la matière vivante, comme les protéines, les acides nucléiques, la cellulose, la chitine...
- Des polymères obtenus par modification chimique d'un polymère naturel, exemple : méthyl cellulose.
- Des polymères synthétiques : ce sont les matières plastiques, les élastomères, les fibres, les adhésifs

I.1.1.2. Classification selon l'architecture

Selon Tomalia , les architectures macromoléculaires peuvent être divisées en quatre grandes familles : les polymères linéaires, ramifiés, réticulés et plus récemment, les polymères dendritiques.[4]

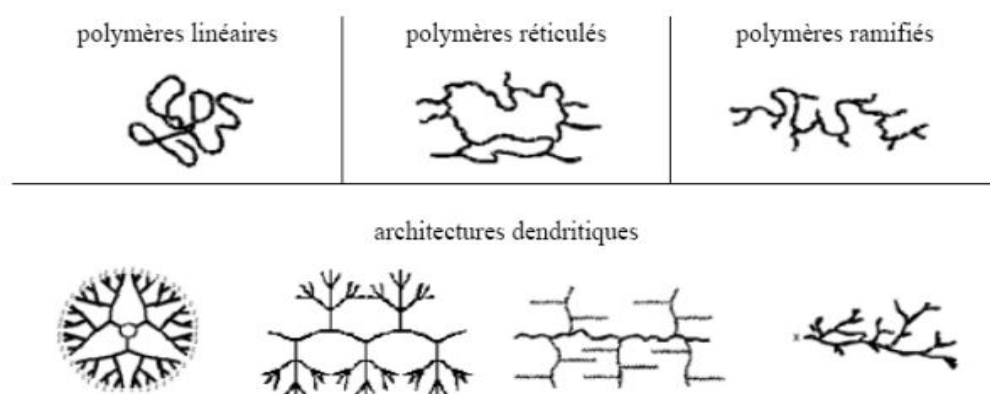


Figure I.1: Classification des architectures macromoléculaires selon Tamolia.

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

I.2. Polymérisation

Le terme polymérisation « réplique » a été utilisé pour la première fois par Szwarc en 1954, puis remplacé par « matrice » ou polymérisation « modèle ». Depuis cette époque, de nombreux articles, revues et chapitres d'encyclopédies ont été publiés. Le grand intérêt de la polymérisation modèle est lié à une analogie entre la synthèse de polymères simples sur des matrices simples et la synthèse de biopolymères sur matrices telles que l'ADN ou l'ARN ou certaines réactions enzymatiques.

La polymérisation de matrice ou de modèle est généralement définie comme un processus dans lequel les unités monomères sont organisés par une macromolécule préformée (modèle) et fait référence à des systèmes à une face dans lesquels le monomère et le modèle sont solubles dans le même solvant ou se présentent sous la forme d'un gel gonflé. [4]

La polymérisation est par définition la réaction chimique qui permettant la synthèse d'un polymère à partir de monomères, et le produit obtenu est un polymère synthétique.

L'organisation d'une unité monomère peut être réalisée de nombreuses manières, par des liaisons hydrogène, électrostatiques forces ou par des liaisons covalentes. [4]

Les réactions de polymérisation permettent notamment de transformer un mélange liquide, plus ou moins visqueux en un matériau solide dont le taux de réticulation dépend notamment de la fonctionnalité des monomères employés

I.3. Les Protéines

Une protéine est un assemblage d'acides aminés qui constituent la séquence primaire. Cette séquence peptidique s'organise en structure dite secondaire (ex : feuillet β , hélice α) qui forme une architecture tertiaire (ex : β - barel = tonneau β). Dans certains cas, ces dernières forment des structures quaternaires. Par exemple, des protéines dimériques ou tétramériques résultent de l'assemblage de 2 ou 4 monom. [5]

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

Notre travail est basé sur la protéine tubuline, donc il faut faire un bref rappel sur ce type de protéine.

I.3.1. Tubuline

Les protéines tubulines, en tant que composants du cytosquelette microtubulaire, remplissent des fonctions cellulaires critiques à toutes les phases du cycle cellulaire. [6]

Les microtubules sont des fibres du cytosquelette formé par l'assemblage d'hétérodimères α et β -tubuline. Ils contribuent à la morphologie, à la mobilité et à la polarité des cellules, ainsi qu'aux processus de transport cellulaire et à la division cellulaire. [7]

- Protéines globulaires de 52 kDa.
- Il existe deux types de tubuline très similaires :
 - α -tubuline lie le GTP (Guanosine-5'-triphosphate).
 - β -tubuline lie le GTP et l'hydrolyse en GDP + Pi, (GDP : Récepteur couplé aux protéines G).
- L' α et la β tubuline s'associent en dimères.

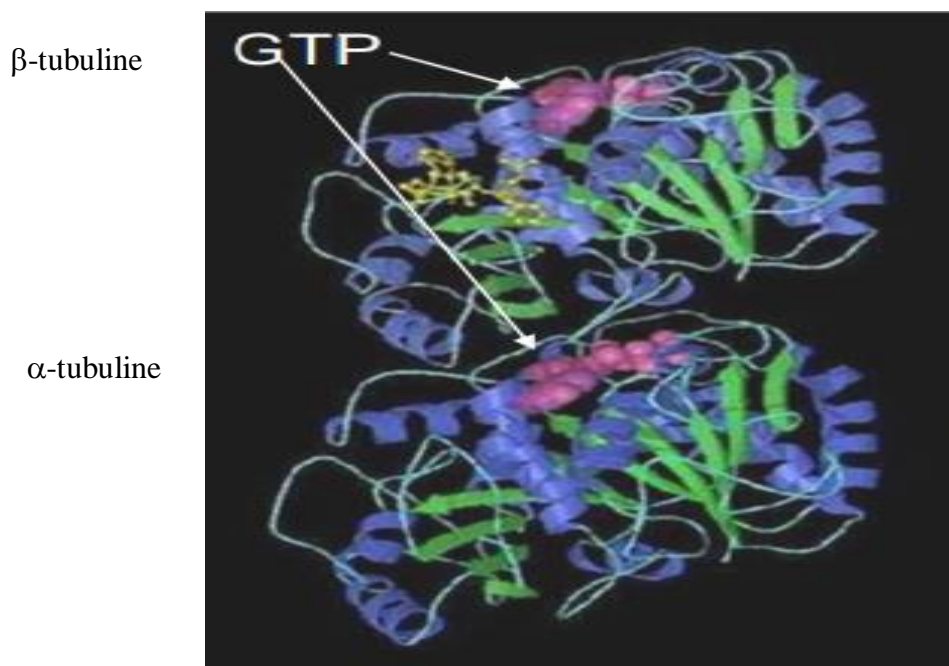


Figure I.2 : Structure tridimensionnelle d'un dimère de tubuline.

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

La tubuline non polymérisée existe en tant qu'hétérodimère de sous unités α et β tubuline. Bien que les structures des monomères ne soient pas similaires, elles présentent cependant une partie principale identique : chaque monomère est en effet composé d'un centre de deux feuillets β entourés par des hélices α .

Le monomère est une structure compacte, qui peut être divisée en trois domaines fonctionnels : un domaine carboxy-terminal comprenant notamment le site de fixation pour les protéines moteurs, un domaine intermédiaire et un domaine amino-terminal possédant une région de fixation au GTP.

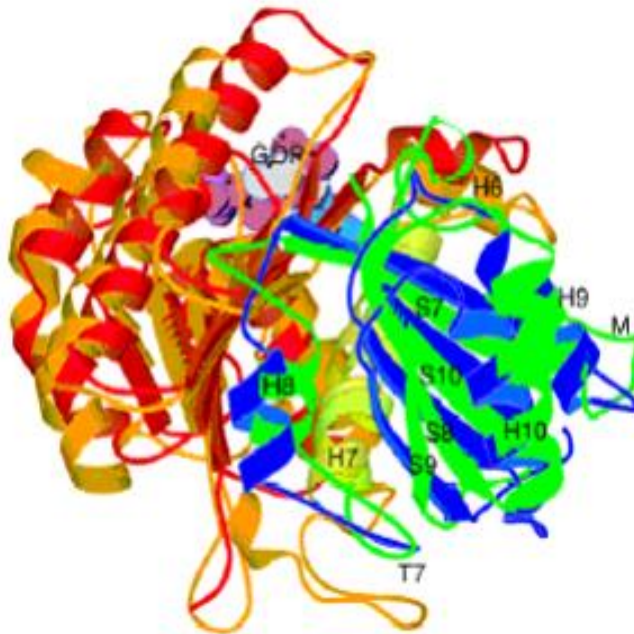


Figure I.3 : Domaine GTPase (orange) et domaine d'activation de la tubuline (vert).

L'hétérodimère de tubuline possède deux sites de fixation au GTP, un site N sur la chaîne α , toujours non échangeable et qui fixe le GTP de façon irréversible et un site E sur la chaîne β échangeable et au niveau duquel le GDP peut être échangé par du GTP, lorsque la tubuline est sous sa forme libre hétérodimérique. Le site N est situé à l'interface de l'intradimère et le site E à l'interface de l'interdimère dans les microtubules.

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

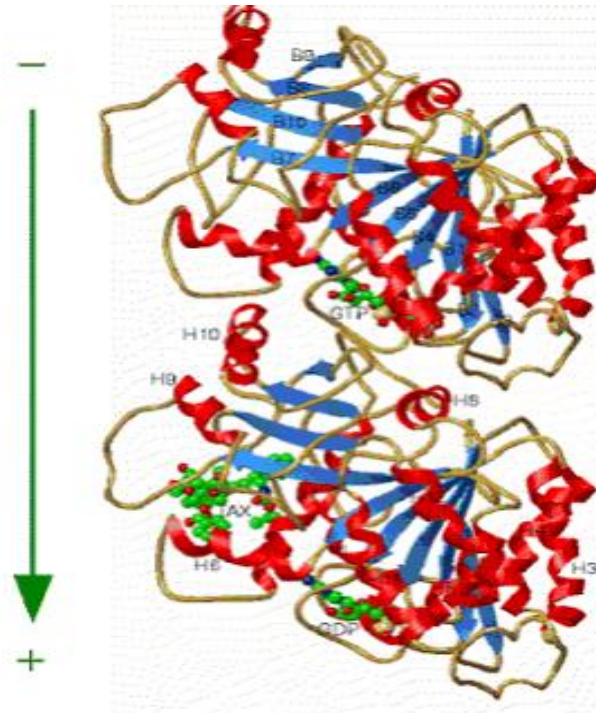


Figure I.4 : Sites de fixation au GTP.

En fait, le GTP peut se fixer à l'extrémité positive car la sous unité beta et le site E sont exposés, alors qu'il est impossible pour lui de se fixer à l'extrémité négative car la sous unité alpha est exposée mais pas le site du GTP, qui se retrouve coincé entre les 2 monomères de l'hétérodimère.

Enfin, il a été montré que la tubuline est sa propre GTPase protéine activant. En effet, un résidu catalytique, la glu-254 sur la sous unité α du dimère suivant dans le protofilament est localisé à l'interface de l'interdimère et est directement impliqué dans le clivage de la liaison GTP à la sous unité β .

I.3.2. L'architecture des microtubules

Ce sont des fibres cylindriques creuses obtenues par assemblage de 13 protofilaments eux même composés d'un empilement de dimères de tubuline .[7]

Les microtubules (MTs) sont des polymères cylindriques composés de protofilaments parallèles faits d'hétérodimères de tubulines α et β . Pour exercer ces fonctions, les MTs nécessitent une dynamique régulée d'assemblage et de désassemblage. Cette dynamique nécessite une énergie résultant de l'hydrolyse du guanoside triphosphate (GTP). Dans la

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

cellule, la dynamique d'assemblage et de désassemblage résulte d'éléments structuraux internes à la tubuline et elle est l'objet d'une étroite régulation.[8]

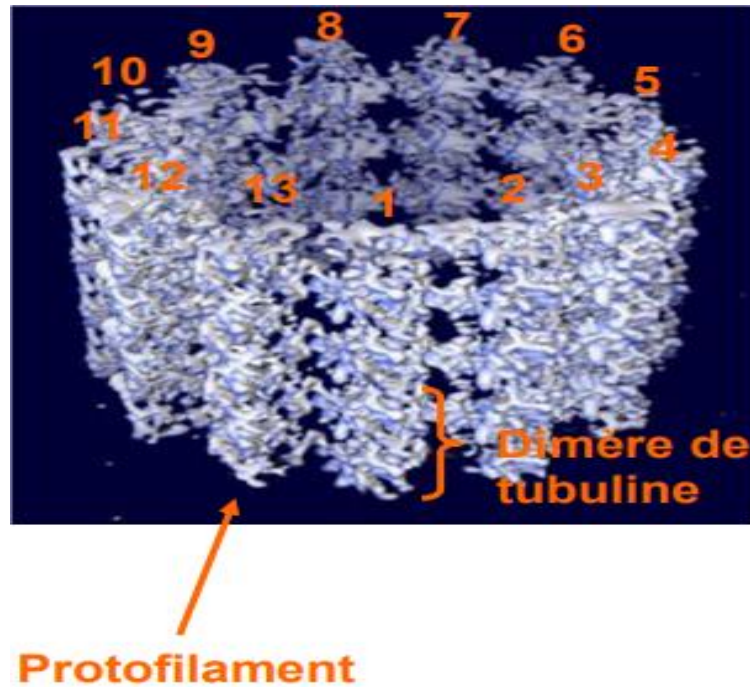


Figure I.5 : structure tridimensionnelle d'un microtubule.

I.3.3. Nucléation

Pour initier la formation des microtubules, de multiples hétérodimères d' α/β tubuline s'associent pour former un noyau, à partir duquel les microtubules peuvent rapidement s'allonger.

Ce noyau constitue le centre organisateur des microtubules (MTOC) qui renferme une paire de centrioles perpendiculaires l'un à l'autre, entouré par le matériel péricentriolaire. Chaque centriole est formé de 9 groupes de 3 microtubules arrangés de manière très précise. La γ tubuline, membre de la superfamille de la tubuline et découverte il y a environ une vingtaine d'années, est reconnue comme étant un composant indispensable des MTOC. Elle est présente à la surface du centrosome sous forme d'anneaux.

L'ensemble de ce complexe agit comme un échafaudage pour l'hétérodimère de tubuline afin de débiter la polymérisation. [9]

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

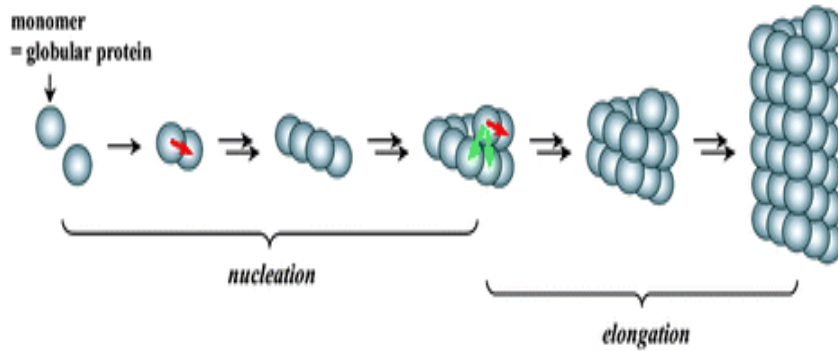


Figure I.6 : étapes de nucléation et d'allongement de la polymérisation en une structure tubulaire.

I.3.4. Assemblage des microtubules

L'assemblage de la tubuline en microtubule et d'autres formes polymériques, comme des cycles ou des spirales, est favorisé par de hautes concentrations de Mg^{2+} et une importante force ionique. Mg^{2+} est requis pour l'assemblage en partie parce que le GTP se fixe en complexe Mg-GTP.

Trois étapes sont nécessaires pour l'assemblage des microtubules :

- Formation des protofilaments à partir des sous unités d' α/β tubuline
- Association des protofilaments entre eux pour former le cylindre des microtubules (formation des microtubules)
- addition de sous-unités supplémentaires aux extrémités des protofilaments pour allonger les microtubules.[10]

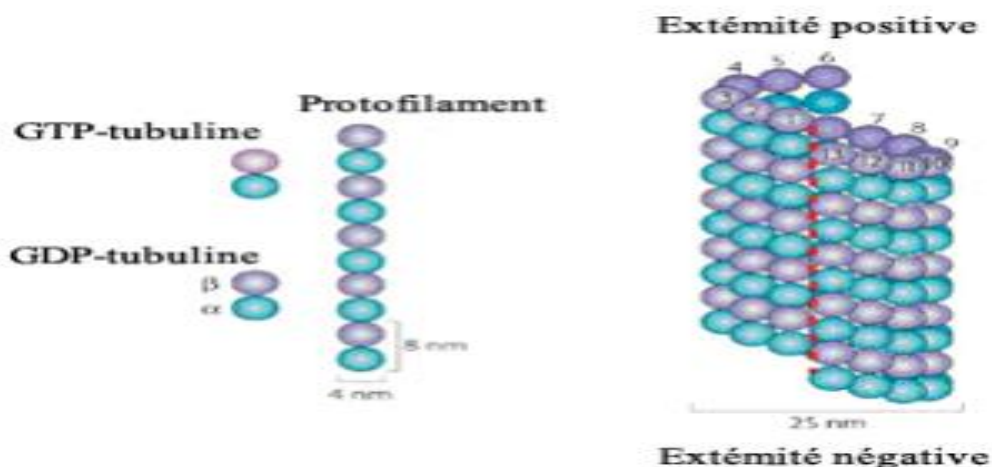


Figure I.7 : Assemblage des microtubules.

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

I.3.5. Dynamique des microtubules

Les microtubules sont des polymères dynamiques qui oscillent entre des cycles de polymérisation et de dépolymérisation, par ajout et perte de tubuline à leurs extrémités. *A.* La transition de polymérisation à dépolymérisation est appelée une « catastrophe », la transition inverse est un « sauvetage ». Ce processus, connu sous le nom d'instabilité dynamique, est une propriété intrinsèque des microtubules et est caractérisé par quatre paramètres : la vitesse de polymérisation, la vitesse de dépolymérisation, la fréquence de catastrophe et la fréquence de sauvetage. L'énergie nécessaire à l'instabilité dynamique provient de l'hydrolyse du GTP sur la tubuline au cours de l'assemblage en microtubule. Cette hydrolyse n'est pas essentielle pour la polymérisation ; elle est en revanche nécessaire pour déstabiliser la paroi du microtubule et permettre par la suite sa dépolymérisation qui libère alors des dimères de tubuline-GDP. *B.* Les différents niveaux d'organisation d'un microtubule.

Les microtubules sont formés de tubuline, un dimère de deux sous-unités α et β . Ces dimères de tubuline sont organisés, dans la paroi d'un microtubule, en protofilaments. Le modèle classique d'un microtubule comporte 13 protofilaments parallèles à l'axe du tube. Chaque protofilament est décalé par rapport à son voisin de telle sorte que l'enchaînement latéral des sous-unités de tubuline décrit des hélices autour de la paroi du microtubule (indiquées par les flèches rouges).[9]

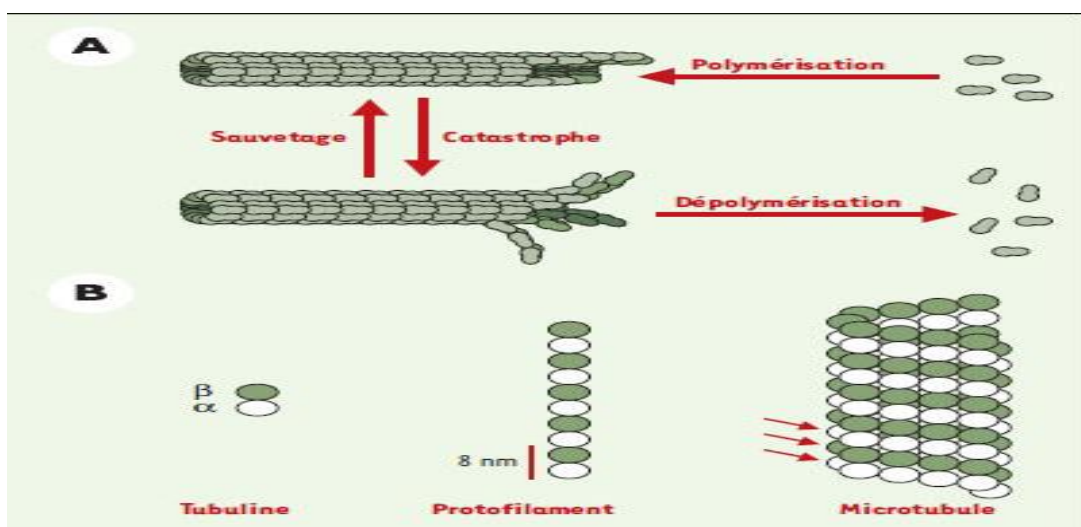


Figure I.8 : Dynamique des microtubules.

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

I.4. Polymérisation de tubuline

Les microtubules sont l'une des meilleures cibles pour le développement de médicaments anticancéreux. Diverses molécules naturelles sont bien connues pour leur effet anti-tubuline comme la vinca, le paclitaxel, la combretastatine, la colchicine, etc. Inhibant la polymérisation de la tubuline (agents déstabilisants de la tubuline).

De nos jours, divers domaines de liaison ont été explorés à travers lesquels ces molécules se lient à la tubuline, mais les trois principaux domaines de liaison de la tubuline sont le domaine de liaison du taxol, de la vinca et de la colchicine.

Le présent article se concentre principalement sur la classification de divers composés naturels sur la base de leurs processus d'inhibition (dépolymérisation et polymérisation) et du site d'interaction (cible le domaine de liaison du taxol, de la vinca et de la colchicine...) qui a été rapporté jusqu'à présent.

En plaçant tous les analogues naturels des sites de liaison du taxol, de la vinca et de la colchicine en un seul endroit, il permet de mieux comprendre les interactions de la tubuline avec les liants naturels connus de la tubuline, ce qui aiderait à la découverte de nouveaux et puissants analogues naturels, semi-synthétiques et synthétiques pour le traitement du Cancer.[11]

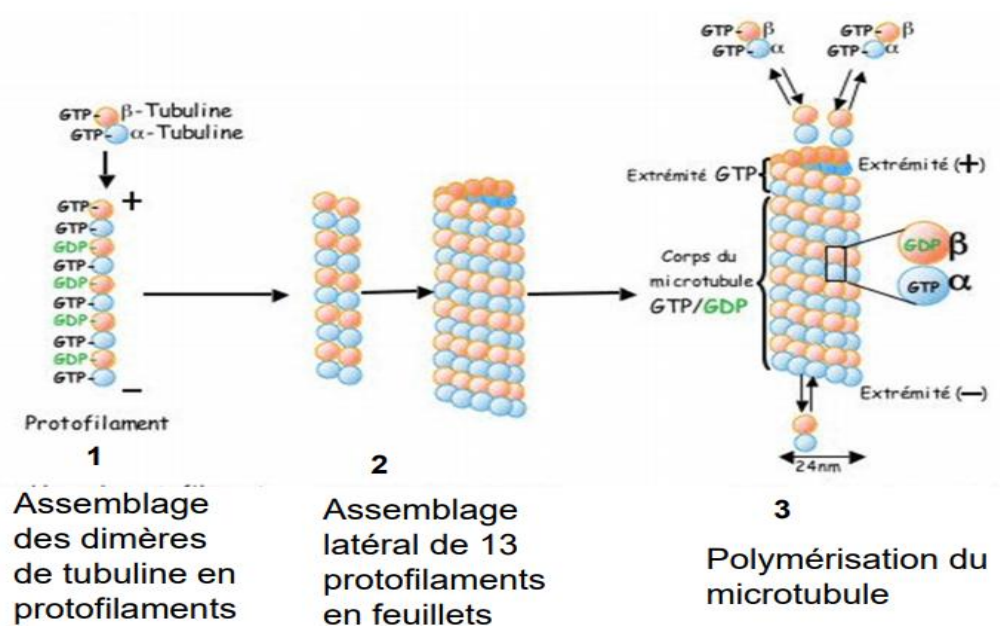


Figure I.9 : polymérisation de microtubule.

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

La dynamique de la tubuline est une cible prometteuse pour les nouveaux agents chimio thérapeutiques. La liaison de la colchicine est l'une des poches les plus importantes pour les déstabilisateurs potentiels de la polymérisation de la tubuline.

Les inhibiteurs du site de liaison de la colchicine (CBSI) exercent leurs effets biologiques en inhibant la tubuline assemblage et suppression de la formation de microtubules.

Un grand nombre de molécules interagissant avec le site de liaison de la colchicine a été conçu et synthétisé avec une la diversité.

Les CBSI ont été modifiés en ce qui concerne la structure chimique ainsi que la pharmacocinétique Propriétés, et testé afin de trouver un agent hautement puissant et peu toxique pour le traitement des cancers.

On pense que les CBSI agissent par un mécanisme commun via la liaison au site de la colchicine sur la tubuline.

Le présent examen est un résumé des composés qui ont été signalés au cours de la dernière décennie Ont amélioré notre compréhension des actions des CBSI.

Les médicaments qui perturbent la dynamique microtubule / tubuline sont largement utilisés dans la chimiothérapie anticancéreuse.

La grande majorité de ces molécules agissent en se liant à la protéine tubuline, une α , β -hétérodimère qui forme le noyau du microtubule. Les agents de ciblage des microtubules (MTA) sont également appelés agents antimitotiques qui perturbent non seulement la mitose, mais arrêtent également les cellules pendant interphase.

Les MTA sont connus pour interagir avec la tubuline via au moins quatre sites de liaison : sites laulimalide, taxane / épothilone, vinca alcaloïde et colchicine (Fig.I.10).

Semblable à paclitaxel, le laulimalide peut favoriser l'assemblage tubuline-microtubule, mais se lie à un site différent sur les microtubules.

Les taxanes, y compris le paclitaxel et le docétaxel, se lient à microtubules polymérisés à la surface intérieure de la sous-unité β , et sont largement utilisés dans le

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

Traitement des cancers du poumon, du sein, de l'ovaire et de la vessie. Les taxanes favorisent la tubuline stabilisation, interférant ainsi avec la dynamique de la tubuline.

Vinca alcaloïdes, y compris la vinblastine, la vincristine et la vinorelbine favorisent la dépolymérisation des microtubules. Ils se lient généralement avec une grande affinité à une ou quelques molécules de tubuline à l'extrémité des microtubules mais ne pas copolymériser en microtubules.

En effet, la vinblastine empêche l'auto-association de tubuline en interagissant à l'interface entre deux hétérodimères d' $\alpha\beta$ -tubuline.

Le quatrième groupe des agents interférant avec les microtubules est représenté par la colchicine, qui induit également dépolymérisation des microtubules. Contrairement aux agents se liant aux trois autres sites, la colchicine se lie avec une forte affinité à la tubuline qui peut devenir copolymérisée en microtubules.

La liaison de la colchicine à la β -tubuline entraîne un dimère de tubuline incurvé et l'empêche d'adopter une structure droite, en raison d'un choc stérique entre la colchicine et l' α -tubuline, qui inhibe l'assemblage des microtubules.[12]

Compte tenu du succès des taxanes et des vinca alcaloïdes, qui ont établi la tubuline comme un cible valide dans le traitement du cancer, les efforts de recherche se sont concentrés sur le développement de la colchicine comme des composés pour le traitement du cancer.

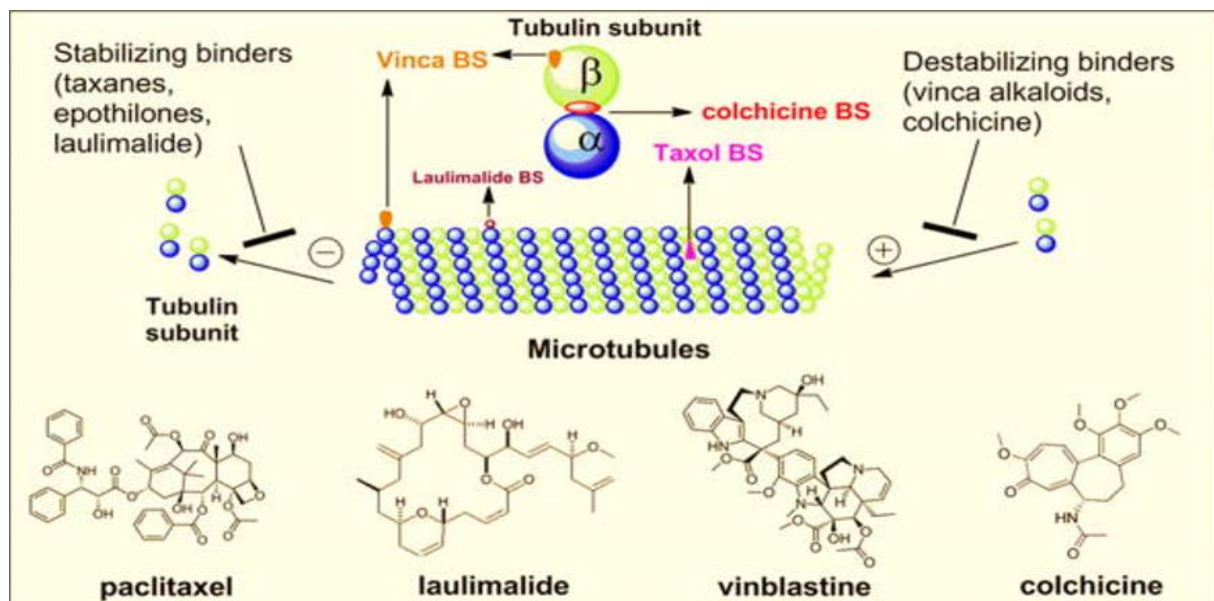


Figure I.10 : sites de liaison à la tubuline(BS) des agents de ciblage de microtubules.

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

Les molécules naturelles les plus utilisées pour inhiber la polymérisation de tubuline sont :

a- La colchicine

La **colchicine** est un alcaloïde tricyclique très toxique, extrait au départ des colchiques (plantes du genre *Colchicum*) , principalement le colchique d'automne a colchicine, a été isolé en 1820 par les chimistes français Pierre Joseph Pelletier et Joseph Bienaimé Caventou . L'effet de cette composé sur la mitose a été décrit pour la première fois par le scientifique italien B. Pernice en 1889. Dans son expérience, il a observé la division de cellules gastro-intestinales de deux chiens traités avec la colchicine et en plus d'autres choses, il n'a décrit qu'un événement rare des derniers stades de la division cellulaire. La propriété la plus étudiée de ce composé est sa capacité à se lier aux dimères de tubuline. Le site de liaison de la colchicine est situé à l'interface de deux sous-unités de tubuline dans un dimère. Le dimère de tubuline lié à la colchicine est toujours capable de se fixer sur la fibre de microtubule, mais tubuline supplémentaire les dimères ne peuvent pas être attachés à ce dimère modifié / terminal, ce qui entraîne une inhibition de la croissance des microtubules.

[13]

Cette molécule est souvent utilisée pour établir un caryotype car en inhibant la polymérisation des microtubules, la colchicine va bloquer la mitose en métaphase, phase à laquelle les chromosomes sont apparents. Ainsi, après la mort de la cellule (induite par la colchicine), on peut établir le caryotype.

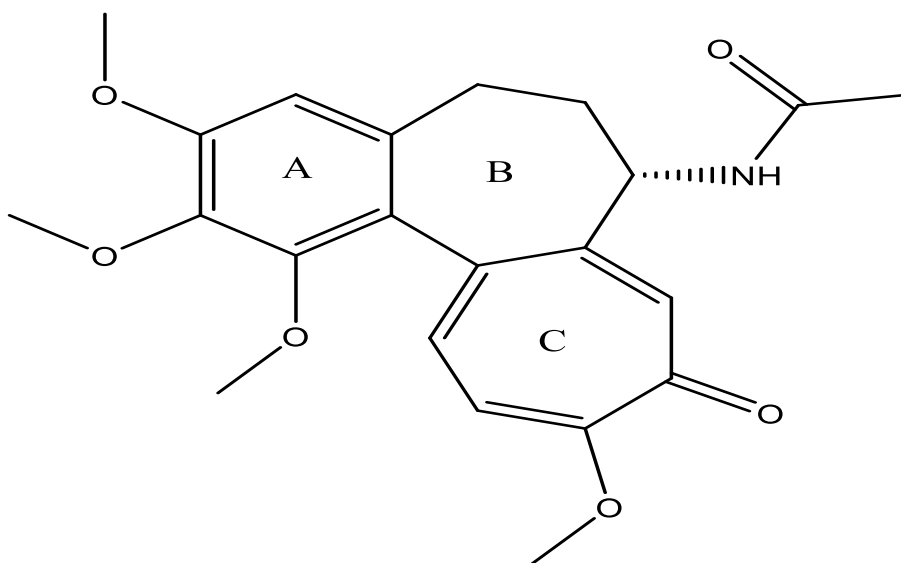


Figure L11 : Structure de colchicine.

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

Ce n'est qu'en 1960 cependant que son activité antiméiotique a été liée à la fixation à la tubuline. La colchicine se fixe de façon irréversible à l'interface de l'hétérodimère d' α et β tubuline, à proximité du site de l'intradimère.

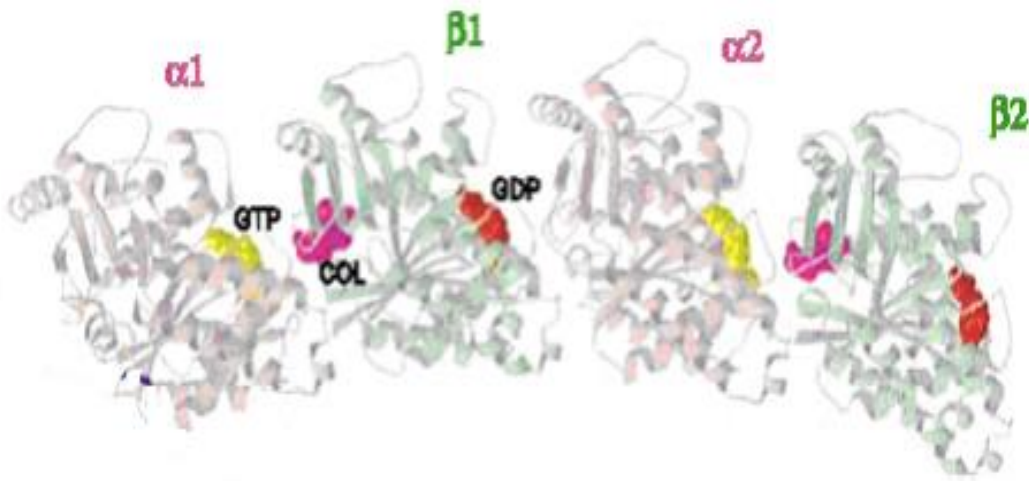


Figure I.12: Localisation du site de la colchicine dans la beta tubuline.

Le site de la colchicine se trouve à l'intérieur du domaine intermédiaire de la sous-unité β , entouré par les feuillets S8 et S9, de la boucle T7 et les hélices H7 et H8. La colchicine interagit aussi avec la boucle T5 de la sous-unité α adjacente (Figure I. 13).

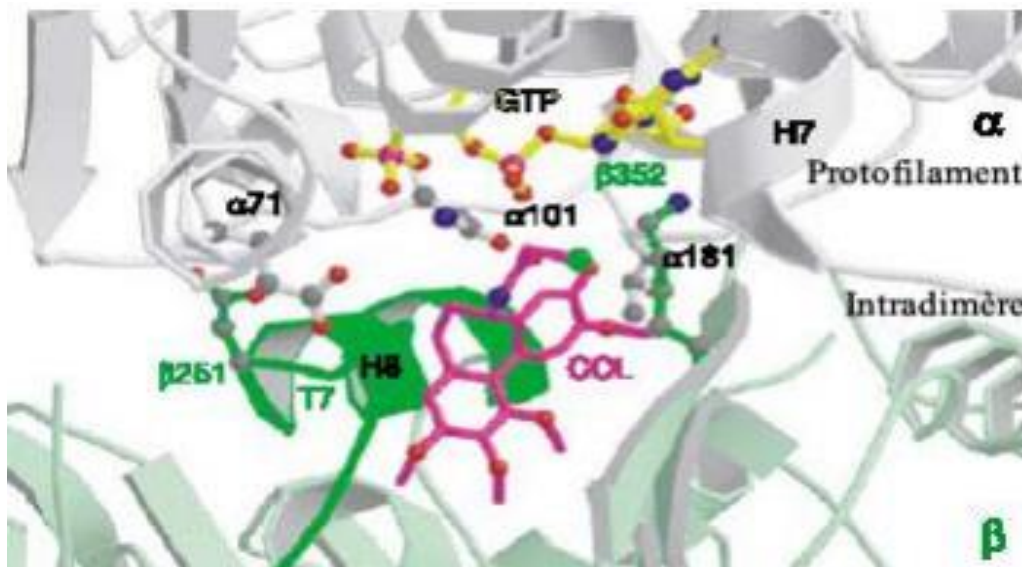


Figure I.13 : Fixation de la colchicine dans la tubuline.

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

b- La combrétastatine A-4 (CA-4)

La première synthèse d'un mélange racémique de combrétastatines est réalisée par C.S. Annapurna en 1983 [14]. La synthèse totale de la molécule naturelle est réalisée par G.R. Pettit en 1985 [15].

Les combrétastatines sont caractérisées par une activité biologique remarquable d'inhibition de la polymérisation de la tubuline. La molécule la plus puissante est la combrétastatine A4 (CA4), mais sa solubilité limitée en milieu aqueux conduit à la synthèse d'un dérivé plus soluble, la combrétastatine A4 phosphate (CA4-P) [16]. Cette molécule possède une action spécifique sur les vaisseaux sanguins irriguant les tumeurs. Elle provoque une diminution importante du débit sanguin au niveau de la tumeur dont elle induit la nécrose [17, 18].

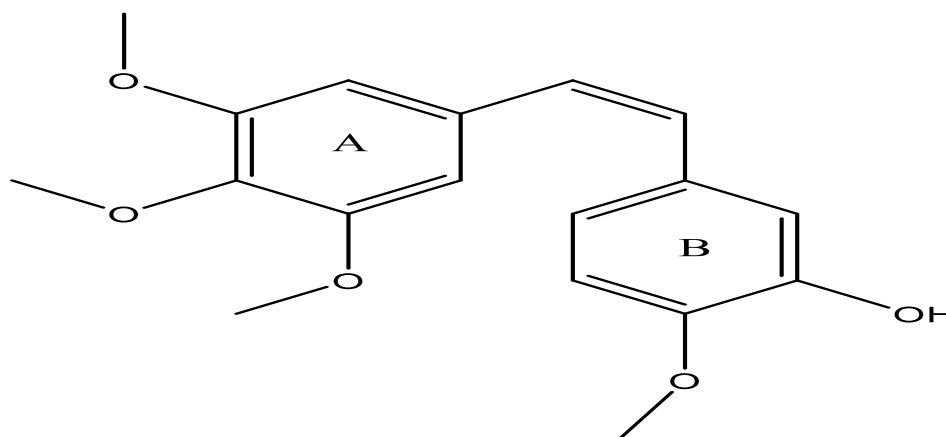


Figure I.14: Structure de la combrétastatine A-4.

Les relations structure-activité (RSA) ont mis en évidence des caractéristiques importantes du maintien l'interaction tubuline pour CA-4. La présence des groupes 3, 4,5-triméthoxy sur le cycle A, le groupe 4'-méthoxy au niveau du cycle B et la configuration cis de l'oléfine sont indispensables pour inhiber la tubuline.[19]

c- Composés avec un noyau de l'indole

Au cours des dernières années, plusieurs petites molécules synthétiques qui ont un noyau d'indole en tant que structure centrale ont été identifiées comme des inhibiteurs de la tubuline.

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

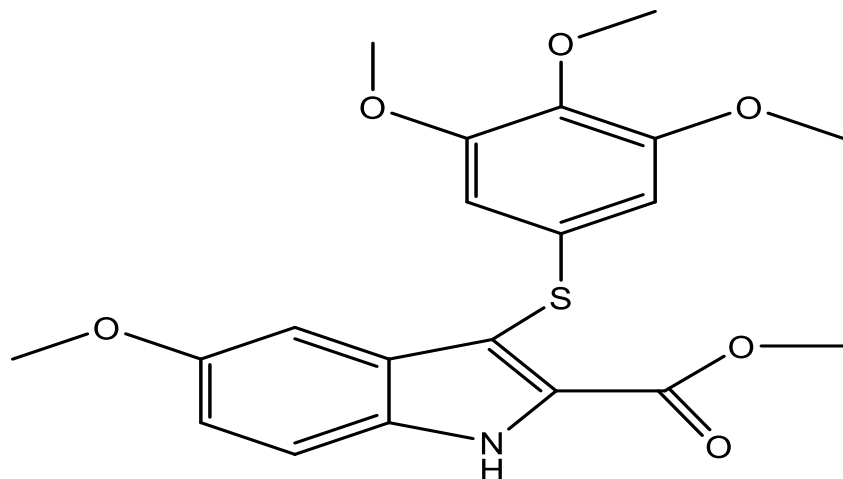


Figure L15 : Structure d'arylthioindole.

Parmi ceux-ci, les aroylindoles, les arylthioindoles (ATI), les diarylindoles et les indolyglyoxyamides ont montré une bonne inhibition de la polymérisation de la tubuline.

Les dérivés d'ATI portant le groupement 3- (3, 4,5-triméthoxyphényl) thio sont très actifs en tant qu'inhibiteurs de la tubuline polymérisation, avec des valeurs de CI_{50} de 2,0 à 4,5 μM . Le méthyle 3 - [(3, 4,5-triméthoxyphényl) thio] -5-méthoxy1H-indole-2-carboxylate, le plus puissant dérivé, a une valeur IC_{50} de 2,0 μM , 1,6 fois plus actif que la colchicine.[20]

d- Dérivés de Chalcone

Le terme flavonoïde regroupe un vaste ensemble de composés naturels. Ce sont des métabolites secondaires faisant partie de la famille des polyphénols.

Les principaux flavonoïdes sont les chalcones, les flavones, les flavanones, les flavonols, et les anthocyanidols (ou anthocyanidines).

Plusieurs auteurs ont montré que les chalcones peuvent se lier aux sites de la tubuline et ainsi bloquer sa polymérisation en microtubules, entraînant l'arrêt de la mitose et donc du cycle cellulaire pour finalement provoquer la mort cellulaire. La présence du groupement 3,4,5-triméthoxyphényl (noyau A) semble fortement bénéfique pour l'interaction de ces chalcones avec la tubuline, via le site de liaison à la colchicine, ainsi que pour les effets antiprolifératifs et antimittotiques.[21]

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

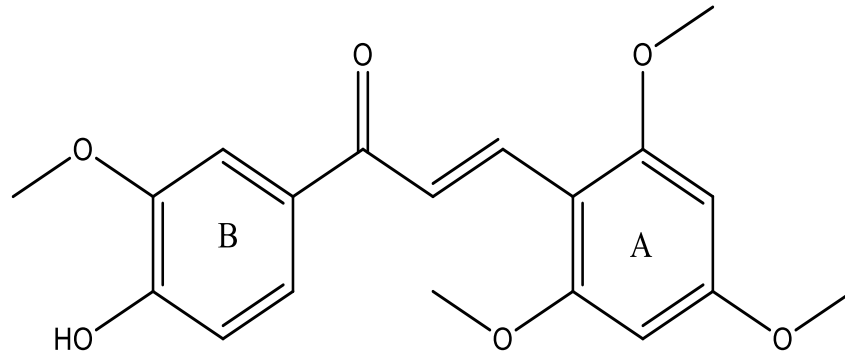


Figure I.16 : Structure des chalcones.

La vincristine et la vinblastine sont des agents anticancéreux qui inhiber l'assemblage des microtubules en se liant dans un irréversible à la tubuline. [22]

e. Dérivés / analogues de podophyllotoxine

La podophyllotoxine est un lignane d'aryltétraline d'origine naturelle trouvé dans les racines du podophyllum peltatum Linnaeus (nord-américain). King et Sullivan ont montré que le mécanisme du cytostatique au niveau cellulaire de la podophylline est la même que celle de la colchicine, c'est-à-dire une inhibition de la formation du fuseau mitotique, résultant en un arrêt du processus de division cellulaire en métaphase et une agglutination des chromosomes (c-mitose). Plus tard, ils ont été montré que, au niveau subcellulaire, cela est dû à la liaison de la podophyllotoxine à la tubuline, empêchant ces macromolécules de former des microtubules, qui constituent les fibres du fuseau mitotique.[23]

Les dérivés de cette molécule en faisant une modification sur ses quatre anneaux (A, B, C et D) augmentent d'inhibition de la polymérisation de tubuline.

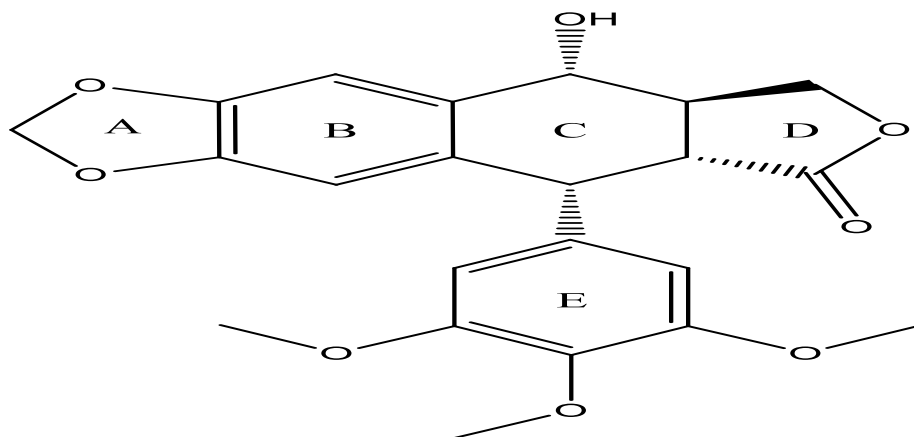


Figure I.17 : Structure de podophyllotoxine.

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

f. Dérivés de myosévérine

La myoseverine est une purine trisubstituée qu'inhibe l'assemblage des microtubules in vitro , interfère avec l'assemblage normal du fuseau mitotique et arrête le cycle cellulaire en mitose dans les cellules U937.[24]

La myosévérine inhibe la polymérisation de la tubuline in vitro, ce qui peut avoir stimulé la fission des myotubes en fragments individuels. [25]

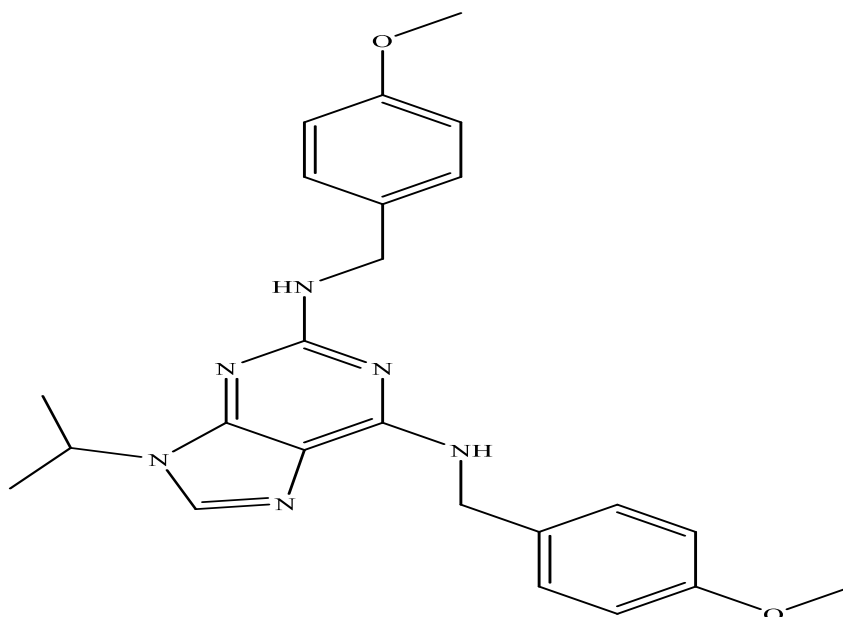


Figure L18: Structure de myosévérine

L'inhibition de l'assemblage des microtubules induite par la myosévérine a favorisé la synthèse de nouvelles banques de triazine trisubstituées. Les composés identifiés à partir de ces bibliothèques présentent de nouvelles activités anti-tubuline in vitro et in vivo.[26]

g. Sulfonamides

Le (N- (3-chloro-7-indolyl) -1,4-benzènedisulfonamide, E7070) est un nouvel agent anticancéreux pour le traitement des tumeurs solides.[27]

Le motif de sulfonamide aromatique / hétérocyclique joue un rôle d'antitumorale, tels que l'inhibition de l'anhydrase carbonique, l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1 et l'inhibition de polymérisation de la tubuline.[28,29]

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

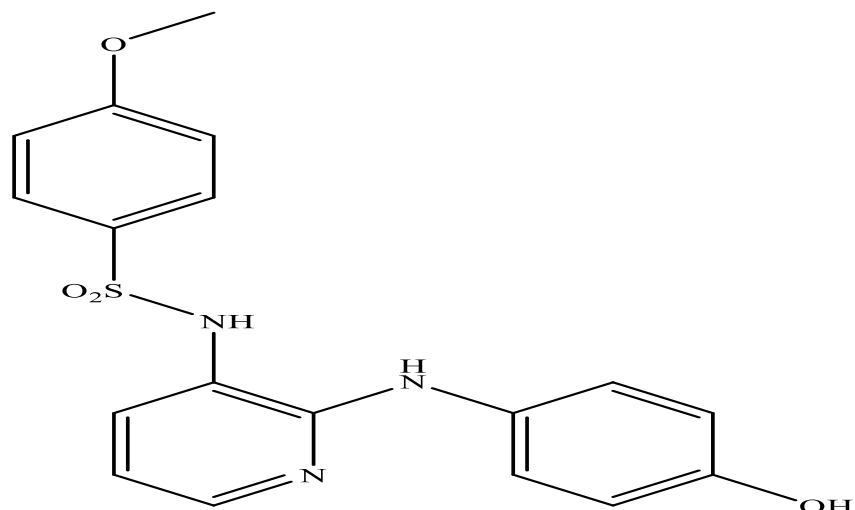


Figure I.19: Sulfonamides.

h. Analogues de thiazolidinone, thiazole et imidazole

- Analogues de thiazolidinone

les dérivés de thiazolidinone possèdent diverses propriétés telles que anticancéreuses, anti-inflammatoires, antibactériennes, antioxydantes, antivirales, antimicrobiennes et antifongiques Les dérivés de thiazolidinone sont utilisés pour l'inhibition de polymérisation de la tubuline.[30]

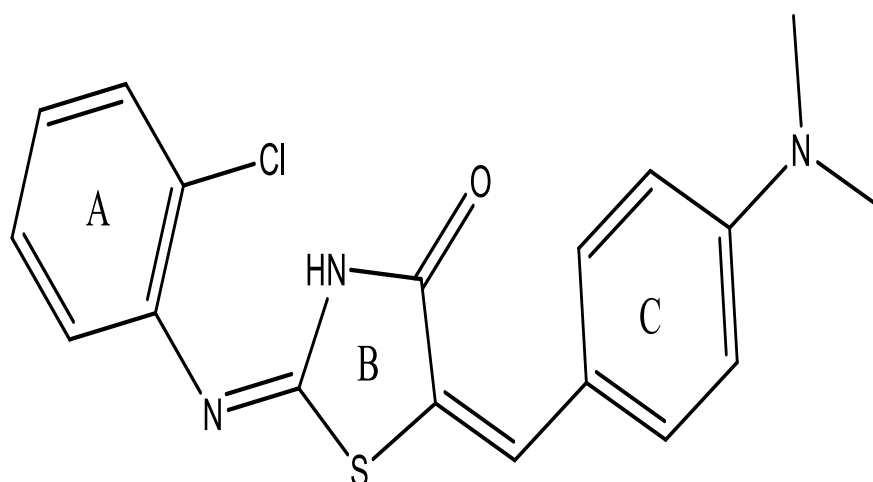


Figure I.20: Structure de thiazolidinone

CHAPITER I : Polymérisation de tubuline

- Analogues de thiazole et imidazols.

Une série de méthoxybenzoyl-aryl-thiazoles 4-substitués (SMART) basée sur le composé principal 2-aryltiazolidine-4-amides d'acide carboxylique (ATCAA) a été synthétisée. De ces SMART composés, le composé 1 est un analogue représentatif qui possède une activité nanomolaire pour inhiber le mélanome et la croissance des cellules cancéreuses de la prostate in vitro. Sur la base d'études préliminaires, Les composés SMART inhibent la polymérisation de la tubuline, empêchent efficacement la formation de microtubules fonctionnels et bloquent la mitose cellulaire.

Les composés 2 et 3 (figur I.21) ont une bonne activité anticancéreuse et une inhibition plus forte de la polymérisation de la tubuline par rapport à la colchicine. [30]

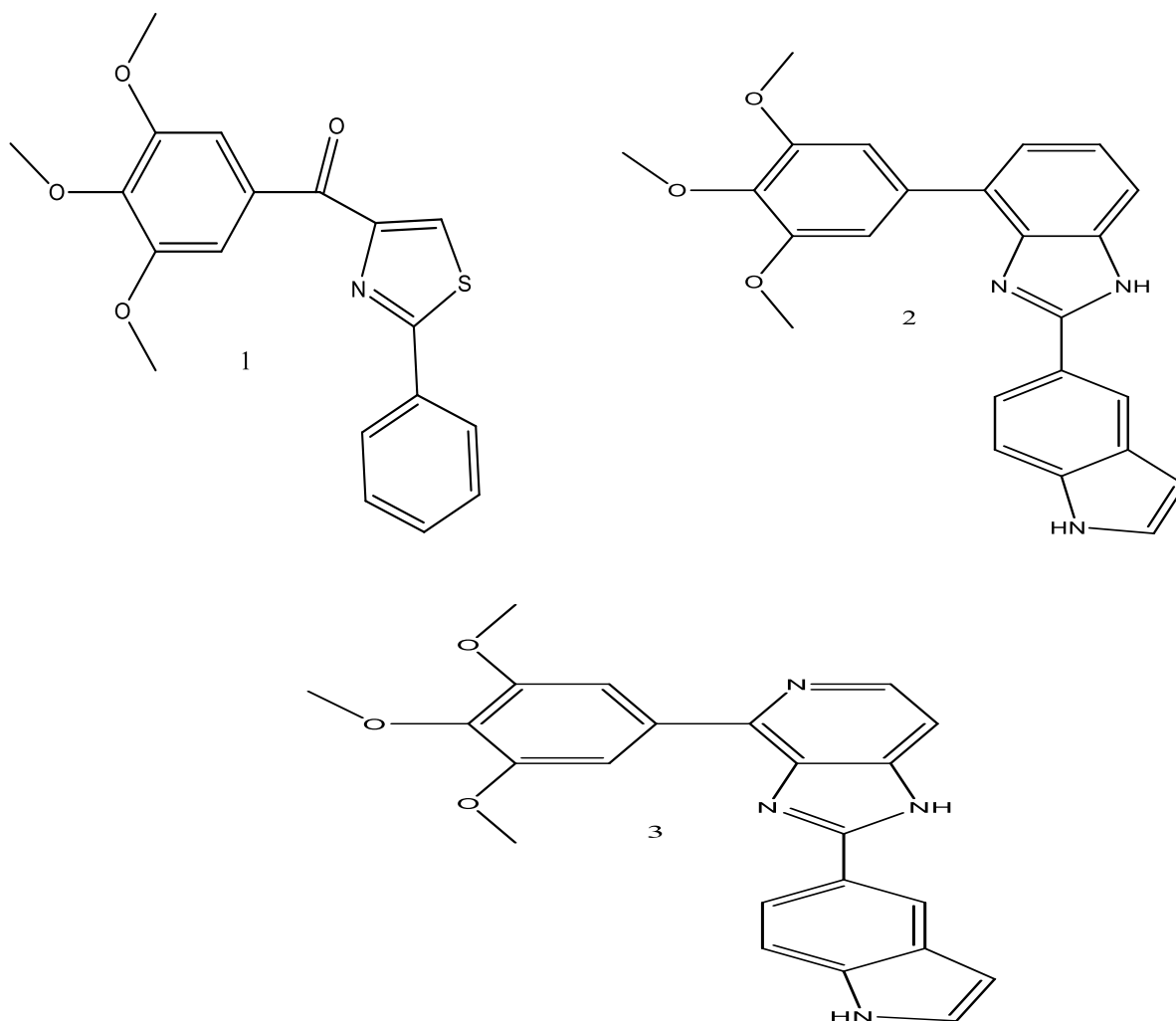


Figure I.21 : Analogues de thiazole et imidazole.

CHAPTER I : Polymérisation de tubuline

Références

- [1] R. J. Van Vuuren, M. H. Visagie, A. E. Theron, and A. M. Joubert, “Antimitotic drugs in the treatment of cancer,” *Cancer Chemother. Pharmacol.*, vol. 76, no. 6, pp. 1101–1112, 2015, doi: 10.1007/s00280-015-2903-8.
- [2] B. T. McGrogan, B. Gilmartin, D. N. Carney, and A. McCann, “Taxanes, microtubules and chemoresistant breast cancer,” *Biochim. Biophys. Acta - Rev. Cancer*, vol. 1785, no. 2, pp. 96–132, 2008, doi: 10.1016/j.bbcan.2007.10.004.
- [3] M. A. Jordan and L. Wilson, “Microtubules As a Target for,” vol. 4, no. April, 2004, doi: 10.1038/nr1317.
- [4] S. Połowiński, “Template polymerisation and co-polymerisation,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 27, no. 3, pp. 537–577, 2002, doi: 10.1016/S0079-6700(01)00035-1.
- [5] P. La, “B Asées Sur La T Echnologie B Iotine – a Vidine,” 2006.
- [6] A. L. Parker, W. S. Teo, J. A. McCarroll, and M. Kavallaris, “An Emerging Role for Tubulin Isoforms in Modulating Cancer Biology and Chemotherapy Resistance.,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 18, no. 7, Jul. 2017, doi: 10.3390/ijms18071434.
- [7] K. Sadoul *et al.*, “[On the road to deciphering the tubulin code: focus on acetylation and detyrosination].,” *Med. Sci. (Paris)*, vol. 34, no. 12, pp. 1047–1055, Dec. 2018, doi: 10.1051/medsci/2018295.
- [8] C. Le and C. Durmort, “Structure des microtubules,” 2010.
- [9] L. E. García Reyes, “濟無No Title No Title,” *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 53, no. 9, pp. 1689–1699, 2013.
- [10] V. V. Conception, “Conception , synthèse et évaluations pharmacologiques de nouveaux perturbateurs du fuseau mitotique To cite this version: HAL Id: tel-00658236 Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Thèse Doc teur de l ’ Université de Lille Nord De France S,” 2012.
- [11] F. Naaz, M. R. Haider, S. Shafi, and M. S. Yar, “Anti-tubulin agents of natural origin: Targeting taxol, vinca, and colchicine binding domains.,” *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 171, pp. 310–331, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.ejmech.2019.03.025.
- [12] L. L. Fessler, Michael B.; Rudel, “基因的改变NIH Public Access,” *Bone*, vol. 23, no. 1, pp. 1–7, 2011, doi: 10.1007/s11095-012-0828-z.An.
- [13] J. Škubník, M. Jurášek, T. Ruml, and S. Rimpelová, “Mitotic poisons in research and medicine,” *Molecules*, vol. 25, no. 20, 2020, doi: 10.3390/molecules25204632.
- [14] Z. Getahun, L. Jurd, P. S. Chu, C. M. Lin, and E. Hamel, “Synthesis of alkoxy-substituted diaryl compounds and correlation of ring separation with inhibition of tubulin polymerization: differential enhancement of inhibitory effects under suboptimal polymerization reaction conditions,” *J. Med. Chem.*, vol. 35, no. 6, pp. 1058–1067,

CHAPTER I : Polymérisation de tubuline

- 1992.
- [15] G. R. Pettit, S. B. Singh, and G. M. Cragg, “Antineoplastic agents. 113. Synthesis of natural (-)-combretastatin,” *J. Org. Chem.*, vol. 50, no. 18, pp. 3404–3406, 1985.
- [16] G. R. Pettit *et al.*, “Antineoplastic agents 322. synthesis of combretastatin A-4 prodrugs,” *Anticancer. Drug Des.*, vol. 10, no. 4, p. 299–309, 1995, [Online]. Available: <http://europepmc.org/abstract/MED/7786396>.
- [17] G. R. Pettit, P. P. J. Da Silva, L. Z. Bendjeddou, and L. Meijer, “de substances naturelles à activité thérapeutique (2),” 2014.
- [18] A. Review, U. Of, T. H. E. Current, and S. Of, “VASCULATURE DISABLING AGENT COMBRETASTATIN-A4,” vol. 18, no. 2, pp. 189–197, 2013, doi: 10.1517/13543780802691068.A.
- [19] M. Y. Song *et al.*, “Exploring diverse-ring analogues on combretastatin a4 (Ca-4) olefin as microtubule-targeting agents,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 21, no. 5, 2020, doi: 10.3390/ijms21051817.
- [20] S. A. Patil, R. Patil, and D. D. Miller, “Indole molecules as inhibitors of tubulin polymerization: Potential new anticancer agents,” *Future Med. Chem.*, vol. 4, no. 16, pp. 2085–2115, 2012, doi: 10.4155/fmc.12.141.
- [21] G. Wang, Z. Peng, and Y. Li, “Synthesis, anticancer activity and molecular modeling studies of novel chalcone derivatives containing indole and naphthalene moieties as tubulin polymerization inhibitors,” *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 67, no. 7, pp. 725–728, 2019, doi: 10.1248/cpb.c19-00217.
- [22] M. L. Edwards, D. M. Stemerick, and P. S. Sunkara, “Chalcones: A New Class of Antimitotic Agents,” *J. Med. Chem.*, vol. 33, no. 7, pp. 1948–1954, 1990, doi: 10.1021/jm00169a021.
- [23] Y. Liu, L. Yang, and X. Tian, “Podophyllotoxin : Current Perspectives,” pp. 37–66, 2007.
- [24] Y. Chang *et al.*, “Myoseverin Derivatives : Microtubule,” vol. 44, no. 26, pp. 0–3, 2001.
- [25] V. Kryštof *et al.*, “Synthesis and biological activity of 8-azapurine and pyrazolo[4,3-d]pyrimidine analogues of myoseverin,” *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 41, no. 12, pp. 1405–1411, 2006, doi: 10.1016/j.ejmech.2006.07.004.
- [26] M. Dong, F. Liu, H. Zhou, S. Zhai, and B. Yan, “Novel natural product-and privileged scaffold-based tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site,” *Molecules*, vol. 21, no. 10, 2016, doi: 10.3390/molecules21101375.
- [27] C. T. Supuran, “Indisulam: an anticancer sulfonamide in clinical development,” *Expert Opin. Investig. Drugs*, vol. 12, no. 2, pp. 283–287, 2003.

CHAPTER I : Polym erisation de tubuline

- [28] A. Scozzafava, A. Mastrolorenzo, and C. T. Supuran, “Sulfonamides and sulfonylated derivatives as anticancer agents,” *Curr. Cancer Drug Targets*, vol. 2, no. 1, pp. 55–75, 2002.
- [29] T. Owa *et al.*, “Discovery of novel antitumor sulfonamides targeting G1 phase of the cell cycle,” *J. Med. Chem.*, vol. 42, no. 19, pp. 3789–3799, 1999.
- [30] N. Kulabař,  . B.  zakpınar, D.  zsavcı, P. Leyssen, J. Neyts, and  . K c kg zel, “Tiyoureler, a iltiyoureler ve 4-tiyazolidinonların sentezi, karakterizasyonu ve antikanser ve antiviral etkilerinin deęerlendirilmesi,” *Marmara Pharm. J.*, vol. 21, no. 2, pp. 371–384, 2017, doi: 10.12991/marupj.300913.

CHAPITRE II

**Méthodes de criblage
Virtuel in silico**

II. Le criblage

II.1. Introduction

La découverte de nouvelles drogues médicamenteuses dépend d'un procédé long et coûteux. Le temps compté entre l'identification d'un nouveau composé potentiellement actif sur une cible à son approbation et sa mise sur le marché varie entre 9 et 12 ans, sans oublier qu'un grand nombre de molécules sont rejetées au fur et à mesure des phases cliniques. Ce procédé peut être scindé en quatre étapes, allant de la découverte du « composé médicament » à sa production [1]

II.2. Le procédé de génération de nouveaux médicaments

Le procédé de développement de nouvelles substances thérapeutiques a été décrit comme particulièrement long et coûteux fait de multiples étapes. La génération de tête de séries (leads) requiert les connaissances de secteurs interdisciplinaire dont la pharmacologie, la biochimie, la chimie, (figure I.23). La première de ces étapes consiste à identifier et valider une nouvelle cible biologique, communément une protéine fortement impliquée dans une maladie.

Une fois cette cible déterminée, différentes techniques sont mises en œuvre afin d'étudier et identifier des molécules aux propriétés nouvelles et biologiquement actives. Le criblage désigne cet ensemble de tests et conduit à l'identification de touche (molécule candidates communément appelées « hits » en anglais). Elles sont issues du criblage primaire d'une collection de composés de synthèse (chimiothèque) ou de produits naturels (chimiothèque et extractothèque). Ces touches sont alors soumises à un criblage secondaire afin d'évaluer activité biologique, toxicité, métabolisme et biodisponibilité

Les résultats obtenus lors du criblage secondaire sont soumis à une étape de validation lors de laquelle les relations structurent –activités (RSA) sont étudiées, des études de pharmacomodulations sur les structures initiales sont souvent menées pour en améliorer les propriétés pharmacologiques et ensuite donner des têtes de séries, les futurs médicaments.

L'ensemble de ces tests sera pris en compte pour la suite des analyses au stade du développement préclinique. L'évolution des techniques de criblage à haut débit (HTS= High Throughput Screening) a permis de diminuer le temps d'identification de nouvelles molécules

CHAPITRE II : Méthodes de criblage Virtuel in silico

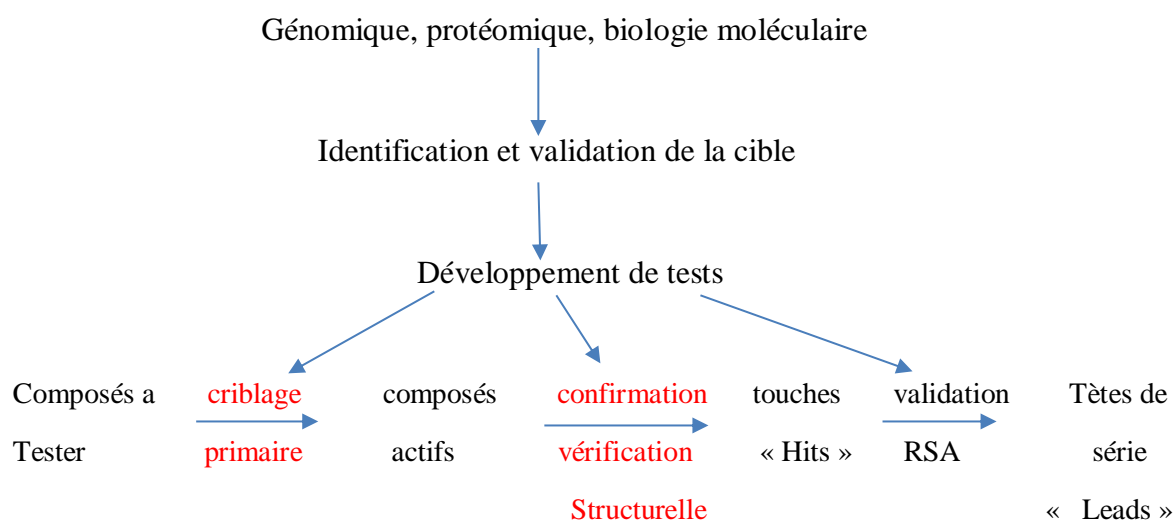


Figure II.1 : Protocole de développement de nouvelle substance thérapeutique (RSA= relations structure activité).

de 15 mois en moyenne en 1996 à 6mois actuellement. Le criblage à haut débit est la méthode de référence, puisque des méthodes à moyen débit sont également développées. A titre d'exemple, en 2011 une étude menée par HTS a permis d'identifier un nouveau composé inhibiteur de la Glutathion S-Transférase Omega 1 (GSTO1), une enzyme surexprimée dans des lignées cellulaires de cancers humains et impliquée dans la résistance chimio thérapeutique. Après criblage d'une partie de la banque de molécule MLSMR (Moléculaire Libraires Small Molécule Repository), un nouvel agent KT53 est ressorti comme inhibiteur puissant et sélectif des GSTO1.[1]

II.3. Le criblage virtuel

Le criblage virtuel correspond à tout procédé de recherche informatique dans des banques de données moléculaires permettant la sélection de molécules ayant une potentielle activité biologique. Le nombre grandissant de cibles génomiques d'intérêt thérapeutique et de macromolécules (protéines, acide nucléique) pour lesquels une structure tridimensionnelle (3D) est disponible rendent les techniques de cible virtuelle de plus en plus attractives pour des projets d'identification de molécule bioactives. [1]

Le criblage virtuel, analogue in silico de l'HTS, peut schématiquement être assimilé à un entonnoir dans lequel on verse un grand nombre de composés, constituant la chimiothèque à cribler, pour obtenir, à l'aide d'un algorithme de criblage, un plus faible nombre de composés

CHAPITRE II : Méthodes de criblage Virtuel in silico

qui seront ensuite testés expérimentalement. Le rôle des méthodes de criblage est donc d'éliminer les composés supposés inactifs ou les molécules indésirables tout en priorisant les composés les plus susceptibles d'être actifs. Les méthodes basées sur la structure (ou « structure-based »), évaluent la capacité des ligands à établir des interactions avec le site de liaison étudié pour sélectionner les molécules capables de se lier à la cible. Les méthodes basées sur les ligands (ou « ligand-based ») peuvent pour leur part être mises en œuvre lorsque les valeurs d'activité pour la cible étudiée d'un ensemble de ligands sont disponibles. Les relations structure-activité de ces molécules sont alors analysées pour découvrir de nouveaux composés susceptibles d'être actifs. Lorsque ces deux types de données sont disponibles simultanément, les méthodes « ligand-based » et « structure-based » peuvent toutes deux être utilisées l'une à la suite de l'autre. [2]

L'ensemble des méthodes virtuelles pratiquées ne donnent pas un accès direct à de nouveaux médicaments, mais elles montrent une carte un peu plus détaillée pour accomplir l'objectif voulu, ces méthodes virtuelles sont capables de prédire l'affinité des produits sont de plus en plus utilisées pour guider la sélection des composés et particulièrement lors des premières phases de R&D (phases précoces de recherche et développement) par réalisation d'un criblage virtuel (Abrigach, 2016).

Tout criblage virtuel se décompose en trois étapes importance :

- La mise au point de la chimiothèque de départ, celle-ci peut être soit une collection de criblage (molécules disponibles) soit une collection virtuel (molécule à synthétisé)
- Le criblage proprement dit, qui consiste à prédire à la fois la conformation et l'orientation relative de chacune des molécules de la chimiothèque, par rapport à la cible d'intérêt
- La sélection d'une liste de touches virtuelles. Après différents traitements permettant d'éliminer les « faux positifs », la sélection finale des molécules à évaluer passe par un examen individuel des interaction 3D de chaque hit virtuel avec le récepteur.

Il est à noter que toute erreur à chacune de ces trois étapes aura des conséquences importantes se traduisant généralement par une élévation du taux de faux positifs et de faux négatifs. Il répond donc d'être très méfiant à chacune d'entre elles. [1]

Deux approches de criblage virtuel sont possibles pour répondre au problème général de recherche de nouvelles molécules bioactives.

CHAPITRE II : Méthodes de criblage Virtuel in silico

- ❖ Le criblage Virtual par amarrage, plus connu sous le terme « Docking », qui requiert la connaissance de la structure 3D de la protéine cible. Cette technique classe par ordre de priorité les composés ayant une possibilité de se lier à la cible. On peut comparer cette approche de docking à un système de clé-serrure, dans lequel la serrure correspond à la protéine et la clé à la molécule cherchée. On peut alors soit utiliser la connaissance de forme, soit la dynamique moléculaire qui consiste à simuler par le calcul informatique l'évolution d'un système moléculaire au cours du temps.
- ❖ Le criblage virtuel qui repose sur la similarité ou aucune information sur la protéine n'est nécessaire, mais les structures de plusieurs composés connus actifs sur la cible sont alors utilisées. Bien que cette technique de criblage présente certains avantages (rapidité, très peu cher une fois l'équipement informatique installé), il est inévitable de passer ensuite à des tests sur le vivant afin d'avoir une information plus réaliste sur l'action d'un composé. Même si le criblage virtuel permet d'aboutir à des molécules candidates, la suite du travail (synthèse, évaluation biologique) reste une part importante tant en terme de temps qu'en coûts humain et matériel. [1]

II.3.1. Criblage virtuel « ligand-based »

Un criblage virtuel « ligand-based » peut être réalisable, si au moins un ligand de la cible étudiée est déjà connu. L'hypothèse que les molécules similaires vont avoir tendance à présenter des profils d'activités très proches à similaires, est le principe de base de toutes les méthodes « ligand based ». Ce type de criblage très populaire est employé au cours de la phase d'identification de nouveaux hits et les phases d'optimisation des hits et des leads. Qui permet de rationaliser les processus de découverte de nouveaux composés, lorsque des données sont disponibles sur un ou plusieurs ligands actifs de référence [2]

II.3.2. Criblage virtuel « structure-based »

Le criblage virtuel « structure-based » est basé sur la structure de la cible en évaluant la capacité des ligands à établir des interactions avec le site de liaison étudié et ainsi sélectionner les molécules capables de se lier à cette cible. Lorsque la structure 3D de la cible biologique d'intérêt est disponible, des méthodes dites basées sur la structure peuvent être employées. Il existe deux types de méthodes expérimentales pour obtenir la structure 3D d'une cible : la cristallographie aux rayons X et la résonance magnétique nucléaire (RMN). Comme leur nom l'indique, ces méthodes utilisent la structure de la cible pour découvrir de nouveaux

CHAPITRE II : Méthodes de criblage Virtuel in silico

composés actifs. Pour cela, différentes approches peuvent être employées : la construction de modèles pharmacophoriques basés sur la structure, l'établissement de modèles RD-QSAR, la conception de novo (ou de novo design) et les méthodes de docking qui sont les plus populaires. Toutes ces techniques nécessitent l'identification préalable du site de liaison. [2]

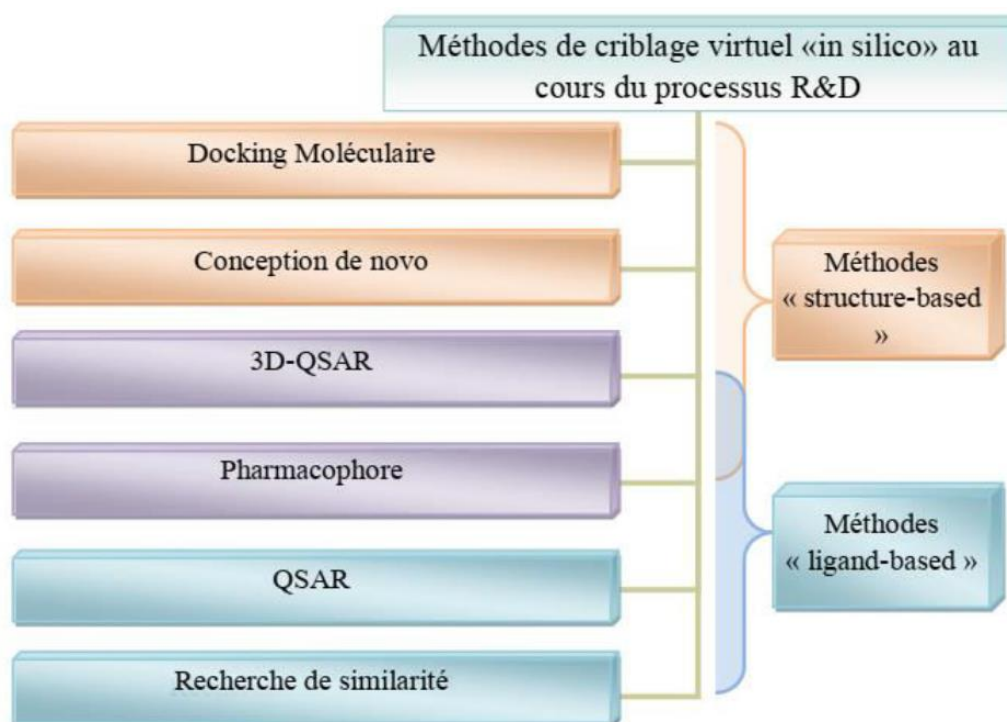


Figure II.2 : Classification des méthodes de criblage virtuel « ligand- based » et « structure –based ».

II.4. Filtrage ADME-Tox

Les échecs dans le développement de médicaments étaient principalement la conséquence de mauvaises performances pharmacocinétiques. Ce problème a été en grande partie résolu grâce à l'utilisation d'un filtrage précédant l'utilisation des chimiothèques, réduisant les taux d'échec dans les phases de développement. Les filtres par ADME-Tox (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination et Toxicité) sont rapidement devenus populaires. Ils reposent sur plusieurs critères déterminant les propriétés pharmacocinétiques potentielles des molécules et sont désormais largement utilisés pour réduire le nombre de composés d'une chimiothèques en sélectionnant les plus aptes à devenir des candidats

CHAPITRE II : Méthodes de criblage Virtuel in silico

Médicaments, avant tout processus de criblage. L'utilisation de ces filtres a donné de très bons résultats. [2]

✓ **Absorption :**

L'absorption est le processus par lequel le médicament inchangé passe de son site d'administration à la circulation générale. La voie d'administration du médicament influence cette première phase : la voie intraveineuse est la voie de référence puisque par définition, à la différence des autres voies (orale par exemple) toute la dose administrée atteint la circulation générale.

✓ **La distribution :**

La distribution est fonction de la capacité du médicament à franchir les barrières qui séparent les différents compartiments de l'organisme et à s'y accumuler ou à en être exclu. Ceci implique le passage de barrières membranaires qui peuvent être franchies par diffusion passive ou par l'action de transporteurs.

✓ **Métabolisme :**

Le terme de métabolisme fait référence à la transformation, par une réaction enzymatique d'un médicament en un ou plusieurs autres composés actifs ou inactifs au plan pharmacologique. De nombreux tissus peuvent réaliser cette transformation (peau, poumon, rein, intestin...). Néanmoins le principal site de biotransformation est situé au niveau hépatique, dans les enzymes des microsomes. [2]

✓ **Élimination :**

N'importe l'élimination se définit comme le volume de plasma contenant la quantité de médicament éliminée par unité de temps. Si, stricto sensu, la clairance d'un médicament peut être le résultat de quelle voie d'élimination, les éliminations hépatique et rénale sont, habituellement, les deux principales à prendre en compte dans l'étude des médicaments.

✓ **Toxicologie :**

La toxicité d'un candidat-médicament est l'un des paramètres les plus redoutés par les développeurs, surtout lorsqu'il entre en phases cliniques. En effet, un candidat-médicament présentant des effets secondaires graves lors des phases cliniques est immédiatement abandonné, et ce généralement de manière définitive. Il est donc très important de tenter de prédire la toxicité d'un composé à partir de sa structure lors des phases précoces de

CHAPITRE II : Méthodes de criblage Virtuel in silico

développement R&D. La toxicité peut être classifiée selon l'organe affecté ou selon le mécanisme de toxicité [2]

II.5. Les récepteurs

Ce sont des protéines soit exprimés à la surface des cellules cibles (R. membranaires) : récepteurs inotropes et métabotropes, soit à l'intérieur des cellules cibles (R. intracellulaire) : dans le noyau (R. intranucléaires) ou dans le cytosol (R. extranucléaire). L'interaction intermoléculaire ligand-site de liaison du récepteur est réversible. Le ligand s'associe à son récepteur (les récepteurs doivent être saturable pour donner l'effet physiologique), puis après un certain temps, s'en sépare. La liaison se réalise grâce aux forces entre molécules : force électrique et force chimique (les liaisons ioniques, les liaisons d'hydrogène). Qui est définie par leur affinité de liaison ou la force de liaison entre ces deux éléments. Un ligand à faible affinité pour son récepteur (par une faible force intermoléculaire) se caractérise par une courte durée de liaison. Exemple : l'Ach et son récepteur nicotinique au niveau de la JNM, Un ligand à haute affinité pour son récepteur (par une grande force intermoléculaire) se caractérise par une longue durée de liaison. Exemple : hormone thyroïdienne et son récepteur intranucléaire. [3]

II.6. Les ligands

Un ligand (du latin ligandum, liant) Ce sont des molécules de signalisation qui en se fixant sur des récepteurs spécifiques (de surface ou intracellulaire) déterminent une réponse cellulaire. Le ligand est de type endogène ou naturelle comme : les hormones, neurotransmetteurs, cytokines, ou ligand exogène : comme les médicaments qui miment ou bloquent les effets d'un ligand endogène. [3]

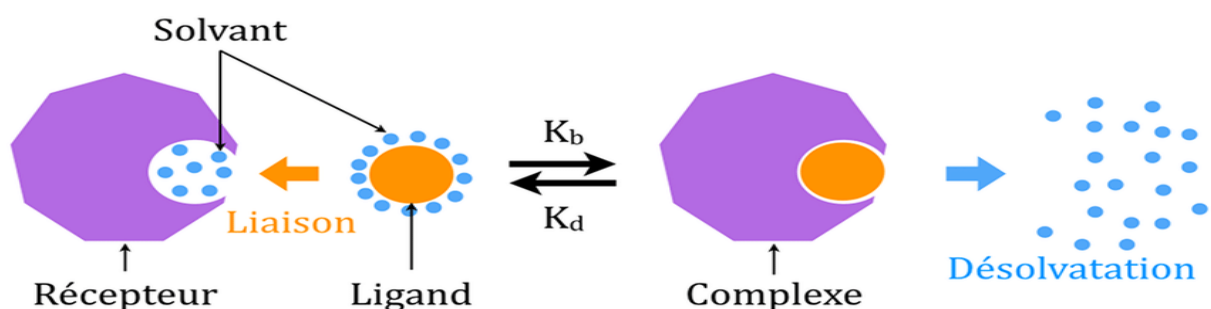


Figure II.3 : Schéma Liaison d'un ligand dans un récepteur.

II.7. Docking moléculaire

Le Docking moléculaire est l'étude de la façon dont deux ou plus les structures moléculaires (par exemple, le médicament et l'enzyme ou la protéine) s'emboîtent. Dans une définition simple, l'amarrage est une technique de modélisation moléculaire qui est utilisée pour prédire comment une protéine (enzyme) interagit avec de petites molécules (ligands). La capacité d'une protéine (enzyme) et d'un acide nucléique à interagir avec de petites molécules pour former un complexe supramoléculaire joue un rôle majeur dans la dynamique de la protéine, qui peut améliorer ou inhiber sa fonction biologique. Le comportement de petites molécules dans les poches de liaison des protéines cibles peut être décrit par ancrage moléculaire. La méthode vise à identifier les poses correctes des ligands dans la poche de liaison d'une protéine et à prédire l'affinité entre le ligand et la protéine. En fonction des types de ligand, l'amarrage peut être classé comme :

- Docking protéine-petite molécule (ligand)
- Docking protéin-acide nucléique
- Docking protéine-protéine [4]

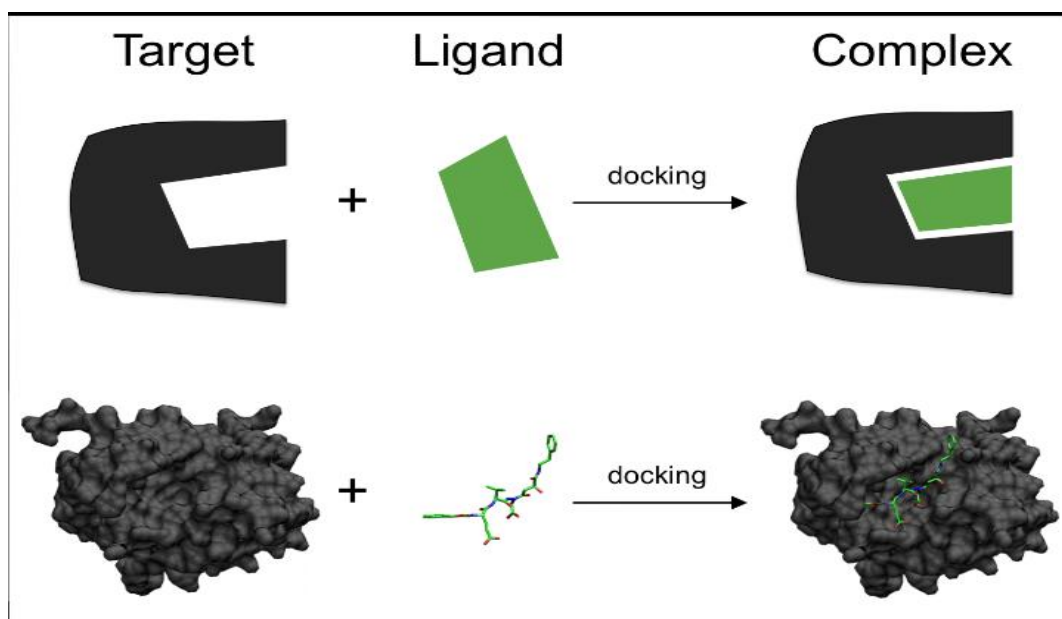


Figure II.4: docking protein-ligand.

CHAPITRE II : Méthodes de criblage Virtuel in silico

Le « Docking » moléculaire étudie la ou les structures des complexes possibles formés entre une molécule active et une protéine.

- ❖ Nous utilisons des algorithmes de calcul pour générer un grand nombre de directions possibles afin d'obtenir la meilleure insertion possible de la molécule dans la protéine
- ❖ Le programme prend en compte tous les degrés de liberté de la molécule (translation et rotation).
- ❖ Pour chaque possibilité l'énergie est calculée en Mécanique Moléculaire, prenant ainsi en compte toutes les interactions ligand-récepteur (liaisons de Van der Waals, liaisons H, hydrophobie...).
- ❖ On obtient ainsi un « score » pour estimer la meilleure interaction ligand/ récepteur.
- ❖ Le score est l'enthalpie libre de liaison (il doit être minimisé). [5]

Logiciels pour Docking :

Auto dock, arguslab, suissdock et **Schrödinger**...etc.

II.8. Pharmacophore

II.8.1. Pharmacophore (schéma pharmacophorique)

Un pharmacophore est l'ensemble des caractéristiques stériques et électroniques nécessaires pour assurer les interactions supramoléculaires optimales avec une structure cible biologique spécifique et pour déclencher (ou bloquer) sa réponse biologique. (Un pharmacophore ne représente pas une molécule réelle ou une véritable association de groupes fonctionnels, mais un concept purement abstrait qui rend compte des capacités communes d'interaction moléculaire d'un groupe de composés vers leur structure cible.).[6]

II.8.2. Modélisation des pharmacophores

La modélisation des pharmacophores est un sous-domaine réussi mais très diversifié de la conception de médicaments assistée par ordinateur. Le concept de pharmacophore a été largement appliqué à la conception rationnelle de nouveaux médicaments. Les pharmacophores peuvent être utilisés pour représenter et identifier des molécules au niveau 2D ou 3D en décrivant schématiquement les éléments clés de la reconnaissance moléculaire.

CHAPITRE II : Méthodes de criblage Virtuel in silico

L'application la plus courante des pharmacophores est le dépistage virtuel, et différentes stratégies sont possibles en fonction des connaissances préalables. Cependant, le concept de pharmacophore est également utile pour la modélisation ADME-tox, les effets secondaires et la prédiction hors cible ainsi que pour l'identification de la cible. De plus, les pharmacophores sont souvent associés à des simulations d'amarrage moléculaire pour améliorer le criblage virtuel.[7]

II.9.3D QSAR

II.9.1. Définition

Les relations quantitatives structure-activité (QSAR) sont des relations mathématiques liant la structure chimique et l'activité pharmacologique de manière quantitative pour une série de composés. Les méthodes qui peuvent être utilisées dans QSAR comprennent diverses techniques de régression et de reconnaissance de formes.[8]

II.9.2. Objectifs du QSAR

La plupart des méthodes QSAR se concentrent sur les objectifs suivants :

- Corréler et récapituler quantitativement les relations entre les tendances des altérations de la structure chimique et les changements respectifs des paramètres biologiques pour comprendre quelles propriétés chimiques sont les déterminants les plus probables de leurs activités biologiques
- Optimiser les leads existants pour améliorer leurs activités biologiques
- Prédire les activités biologiques de composés non testés et parfois encore indisponibles.[8]

II.9.3. Progrès dans les approches 3D-QSAR

3D-QSAR est un terme large englobant toutes ces méthodes QSAR qui corrélient les propriétés macroscopiques des cibles avec des descripteurs calculés basés sur des atomes dérivés de la représentation spatiale (tridimensionnelle) des structures moléculaires. La méthodologie est apparue comme une extension naturelle des approches QSAR classiques mises au point par Hansch et Free-Wilson. L'inconvénient majeur des techniques 3D-QSAR est qu'elles reposent toutes sur diverses hypothèses qui sont décrites dans la section

suivante.[8] .

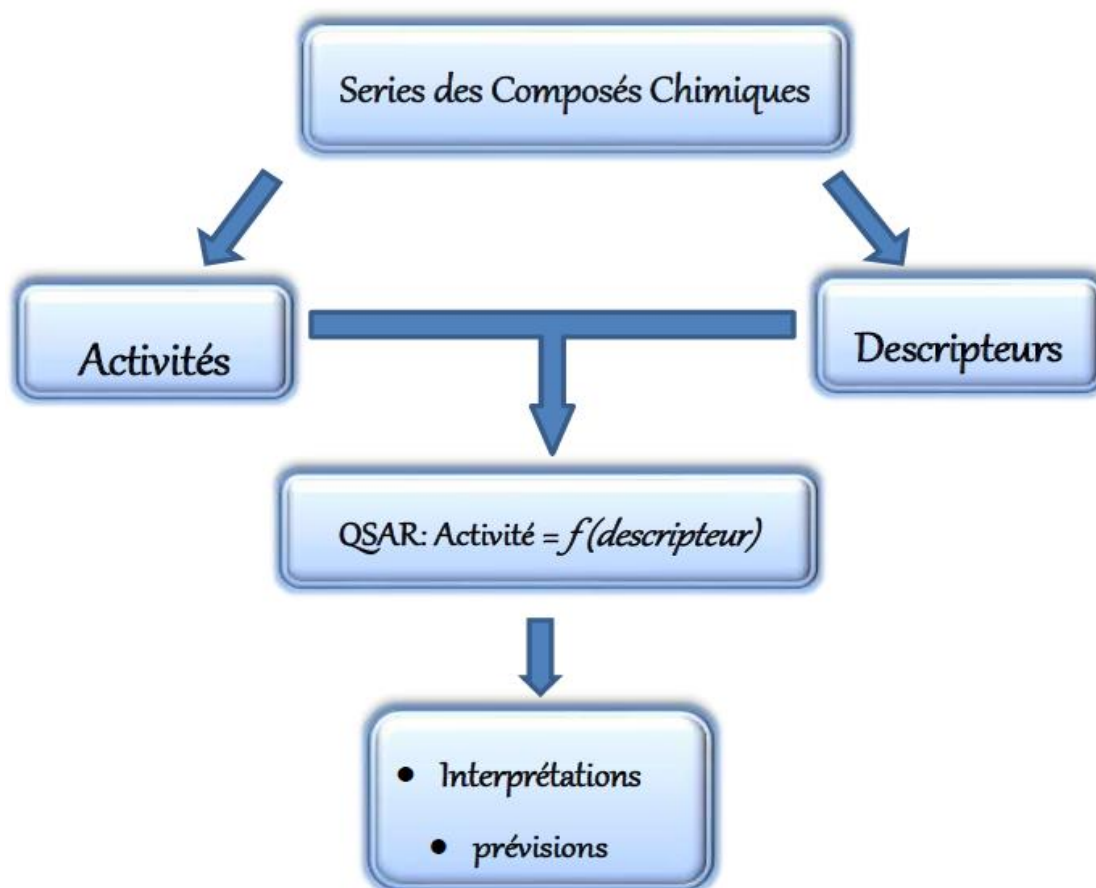


Figure II.5 : Modèle de l'étude de relation structure activité

II.9.4. Études 3D-QSAR

Des modèles 3D-QSAR dit « receptor dependent » (RD-QSAR) peuvent être mis en œuvre lorsque la structure 3D de la cible biologique est résolue [9]. Les approches 3D-QSAR ont été développées pour corréler l'activité biologique d'une série de composés actifs de référence avec l'arrangement spatial de nombreuses propriétés de la molécule telles que les propriétés stériques, lipophiliques et électroniques et pour fournir des indications pour l'optimisation par pharmacomodulation et la conception de nouveaux composés avec des profils d'activité améliorés [10].

En 1979, la première approche 3D-QSAR a été proposée en décrivant les propriétés de champs moléculaires de composés, les calculer sur une grille régulière puis les corréler à leur

CHAPITRE II : Méthodes de criblage Virtuel in silico

activité biologique par analyse en «composante principale» (PCA) [11]. Actuellement, différentes méthodes 3D-QSAR sont utilisées tel que CoMFA (Comparative Molecular Field Analysis) et CoMSIA (Comparative Molecular Similarity Indices Analysis). Il est à noter que toutes ces méthodes nécessitent un alignement minutieux des ligands de référence. Cependant, ces approches sont considérées à la fois « ligand-based » et « structure-based ».

Le CoMFA (Comparative Molecular Field Analysis), une méthode qui reflète l'interaction sans liaison entre le récepteur et le ligand, est largement utilisé dans la conception de médicaments. Les énergies potentielles stérique (Lennard-Jones) et électrostatique (coulombique) des champs de force implémentés dans logiciel SYBYL ont été évaluées par CoMFA. Pour chaque ligand d'alignement de pharmacophore, un réseau cubique 3D avec un espacement de grille de 1,0 Å dans les directions x, y et z a été généré pour enfermer l'agrégat de molécule. Un atome de carbone sp³ avec une charge de +1,0 et un rayon de Van der Waals de 1,52 Å a été utilisé comme sonde ; cet atome a été placé à chaque point du réseau pour calculer divers champs stériques et électrostatiques. Une valeur de coupure d'énergie de 30 kcal / mol a été imposée à tous les calculs de CoMFA pour éviter des valeurs d'énergie excessivement élevées et irréalistes dans la molécule. Ensuite, l'analyse des moindres carrés partiels (PLS) a été appliquée pour obtenir le modèle final.[12]

Le CoMSIA (Comparative Molecular Similarity Indices Analysis) a utilisé une fonction de type gaussien basée sur la distance. Ainsi, CoMSIA peut être capable d'obtenir des modèles plus stables que CoMFA dans les études 3D-QSAR. Le modèle CoMSIA construit a fourni des informations sur les champs stériques, électrostatiques, hydrophobes, donneurs de liaisons hydrogène et accepteurs de liaisons hydrogène.[12]

II.9.5. Modèles statistiques

L'objectif de l'analyse statistique est justement de « démêler » ces descripteurs et d'identifier ceux qui sont corrélés à la variable cible, qui produisent du signal, de ceux qui ne le sont pas, qui produisent du bruit. L'analyse statistique permet également d'identifier les descripteurs qui sont corrélés entre eux pour ne garder que les principaux et réduire ainsi la redondance d'informations.

CHAPITRE II : Méthodes de criblage Virtuel in silico

L'analyse statistique détermine et quantifie les corrélations entre les descripteurs et la variable cible. Elle indique également la contribution relative de chaque descripteur dans l'explication globale de l'activité. Le modèle statistique est une équation donnant la valeur de la variable cible en fonction de la somme des valeurs pondérées des descripteurs. Les principaux outils statistiques pour obtenir un modèle sont :

- la régression linéaire multi variée (*Multivariate Linear Regression* - MLR).
- la régression en composante principale (*Principale Component Regression* - PCR).
- la régression des moindres carrés partiels (*Partial Least Squares* - PLS) [14].
- les réseaux de neurones artificiels (*Artificial Neural Network* - ANN).

II.9.5. 1. Régression linéaire multiple

Une analyse de régression où la variable dépendante Y dépend linéairement de plusieurs variables indépendantes X_1, X_2, \dots, X_j est appelée régression linéaire multiple. L'équation de régression linéaire multiple est de la forme :

$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_j)$ où $f(X_1, X_2, \dots, X_j)$ est une fonction linéaire de X_1, X_2, \dots, X_j [13].

II.9.5. 2. Test de la signification globale de la régression

- **Coefficient de corrélation (R^2)**

C'est le coefficient de corrélation de Bravais Pearson entre Y et Y' , c'est à dire entre valeurs observées et prédites par le modèle de régression, il est noté R , sa valeur varie entre 0 et 1. Une bonne corrélation entre l'activité cible et l'activité initiale si r est plus proche de 1.

- **Test Fisher-Snedecor (F)**

Le test de Fisher-Snedecor est un test statistique qui compare les variances de deux échantillons statistiques.

- **Coefficient de prédiction (Q^2)**

CHAPITRE II : Méthodes de criblage Virtuel in silico

Si R^2 est une mesure de la justesse de la corrélation, Q^2 est une mesure de la justesse de la prédiction. Il mesure la capacité prédictive d'un modèle.

Références :

- [1] E. [9] Scior, T., Medina-Franco, J. L., Do, Q. T., & Martínez-Mayorga, K. (2009). J. a. Yunes Rojas and P. Bernard. *Curr. Med. Chem*, 16, 4297-4313. Sibille, “Criblage d’ inhibiteurs réversibles et irréversibles des phosphatases CDC25s par spectrométrie de masse - Application à des extraits d’ origine végétale To cite this version : HAL Id : tel-01750541 soutenance et mis à disposition de l’ ensemble de la C,” 2018.
- [2] B. Sara, “Remerciements,” pp. 2020–2021.
- [3] “Faculté de Médecine d’Oran Deuxième année médecine – Physiologie Dr Sellam,” pp. 1–10.
- [4] M. Berry, B. Fielding, and J. Gamiieldien, “Practical considerations in virtual screening and molecular docking,” *Emerg. trends Comput. Biol. bioinformatics, Syst. Biol.*, p. 487, 2015.
- [5] L. A. R. Scientifique, “Modélisation par Docking moléculaire de l’ interaction Enzyme-Inhibiteur : Cas de la Tyrosine kinase-JAK2 en tant-que cible thérapeutique impliquée dans les pathologies du sang,” pp. 2017–2018.
- [6] G. Schneider, “Pharmacophores & Molecular Similarity,” *Darwin*, no. November, 2008, [Online]. Available: http://infochimie.u-strasbg.fr/master/Schneider/Lecture1_Pharmacophores_Schneider.pdf.
- [7] X. Qing *et al.*, “Pharmacophore modeling: Advances, Limitations, And current utility in drug discovery,” *J. Receptor. Ligand Channel Res.*, vol. 7, no. November, pp. 81–92, 2014, doi: 10.2147/JRLCR.S46843.
- [8] J. Verma, V. Khedkar, and E. Coutinho, “3D-QSAR in Drug Design - A Review,” *Curr. Top. Med. Chem.*, vol. 10, no. 1, pp. 95–115, 2010, doi: 10.2174/156802610790232260.
- [9] X. Zhao, M. Chen, B. Huang, H. Ji, and M. Yuan, “Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA) and Comparative Molecular Similarity Indices Analysis (CoMSIA) Studies on α 1A-Adrenergic Receptor Antagonists Based on Pharmacophore Molecular Alignment,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 12, no. 10, pp. 7022–7037, 2011.
- [10] A. Fortuné, “Techniques de Modélisation Moléculaire appliquées à l’Etude et à l’Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance.” Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 2006.
- [13] A. Fortuné, “Techniques de Modélisation Moléculaire appliquées à l’Etude et à l’Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance.” Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 2006.
- [14] P. Khadikar, M. Jaiswal, M. Gupta, D. Mandloi, and R. S. Sisodia, “QSAR studies on 1, 2-dithiole-3-thiones: modeling of lipophilicity, quinone reductase specific activity, and production of growth hormone,” *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 15, no. 4, pp. 1249–1255, 2005.

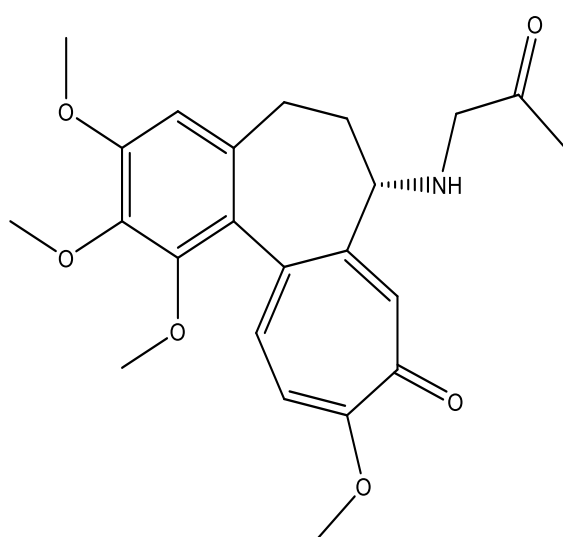
CHAPTER III

Résultats et Discussion

CHAPITER III : Résultats et Discussion

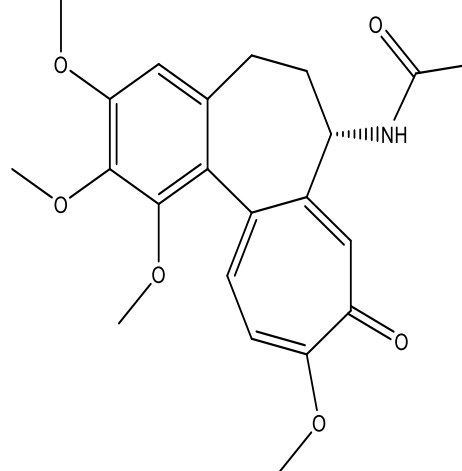
III. 1. Introduction

Dans la présente étude, un modèle 3D-QSAR basé sur le ligand et des études d'amarrage moléculaire (docking) sur les dérivés de colchicine, combrétastatine A-4, podophyllotoxine, myosevérine, sulfonamide et de chalcone ont été réalisées pour élucider les caractéristiques structurales des inhibiteurs de la tubuline. Pour cette étude on prend les 34 ligands suivants :



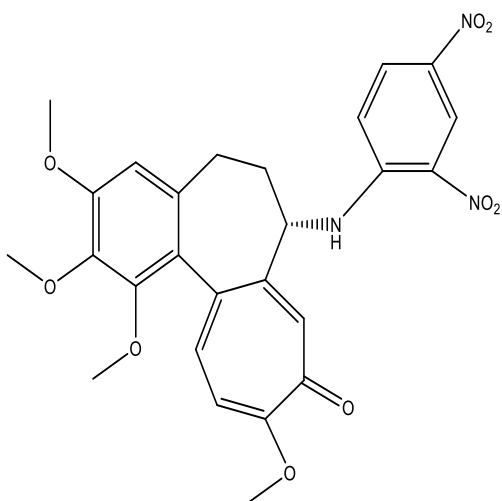
1

IC₅₀ (μM): 1.7±0.04

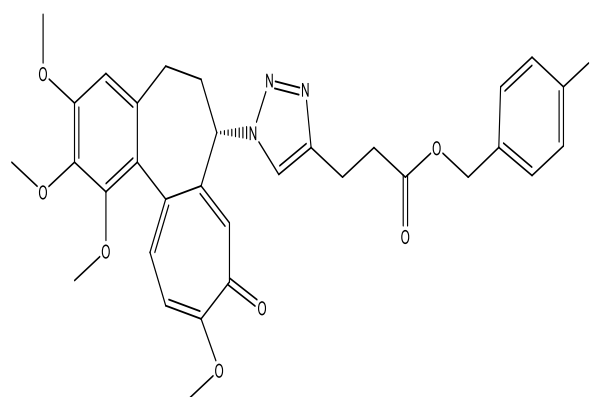


2

IC₅₀ (μM): 6.7±0.05



3

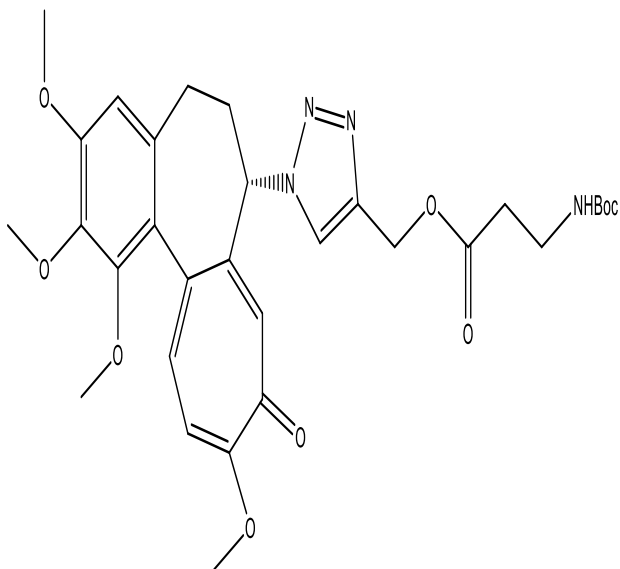


4

CHAPITER III : Résultats et Discussion

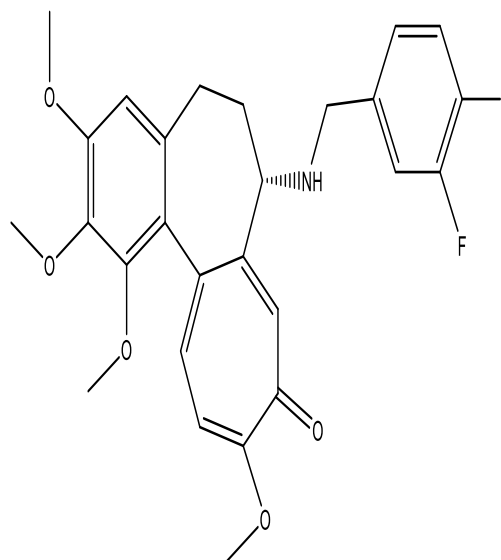
IC₅₀ (μM) : 4.6±0.17

IC₅₀ (μM) : 2.1±0.6



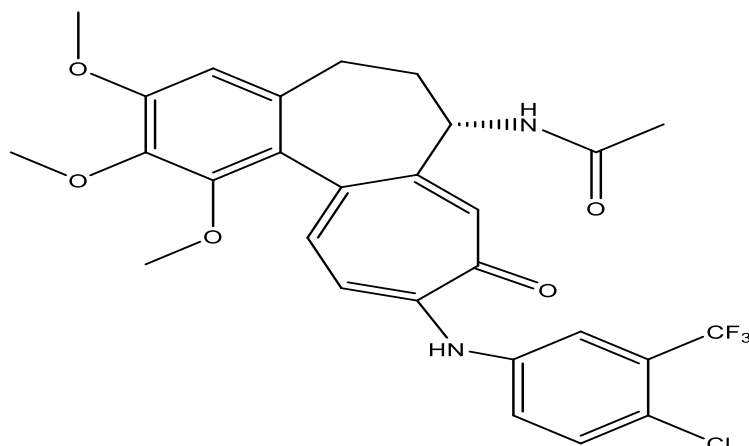
5

IC₅₀ (μM) : 2.44±0.4



6

IC₅₀ (μM) : 1.52±0.18

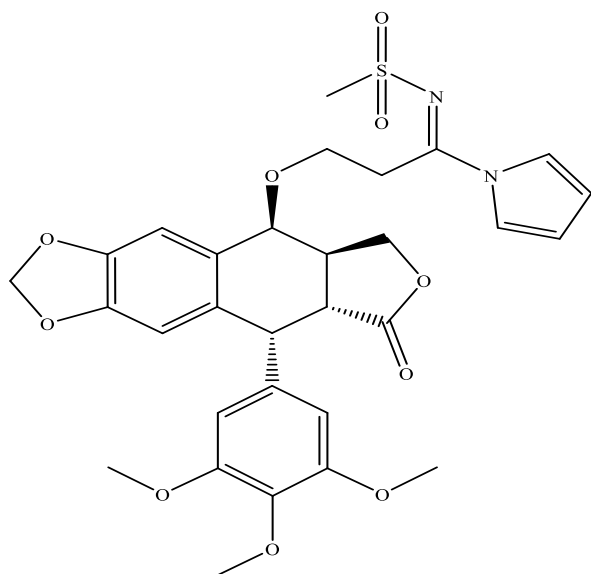


7

IC₅₀ (μM): 0.05

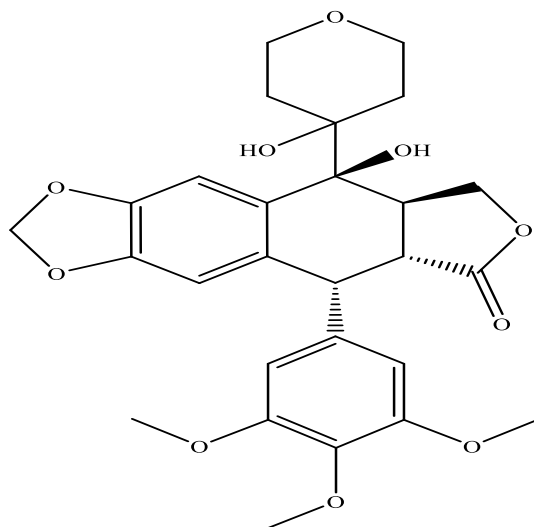
Structures des dérivés de la colchicine

CHAPITER III : Résultats et Discussion



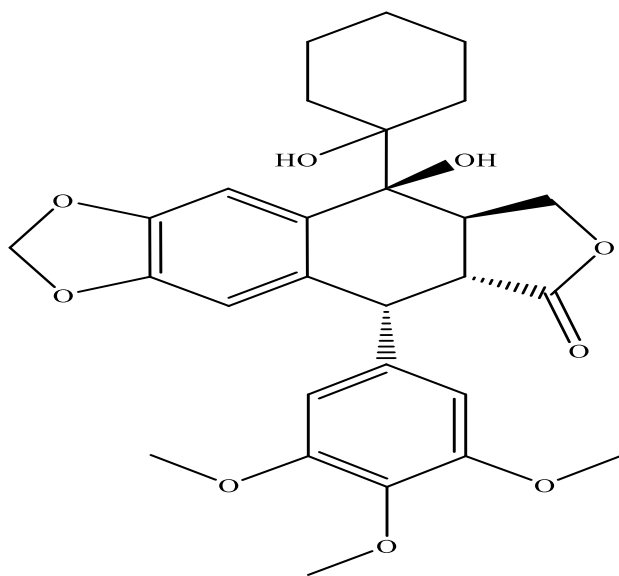
8

IC₅₀ (μM): 18,19



9

IC₅₀ (μM): 21,1

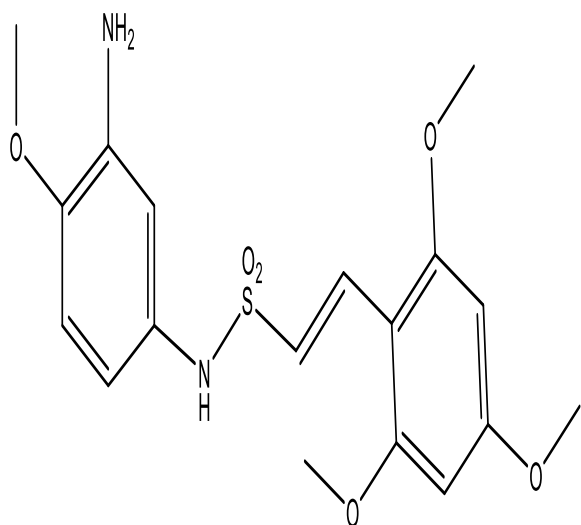


10

IC₅₀ (μM): 1

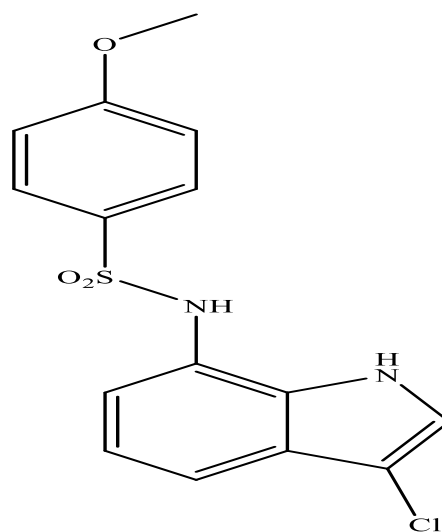
Structures des dérivés de la podophyllotoxine

CHAPITER III : Résultats et Discussion



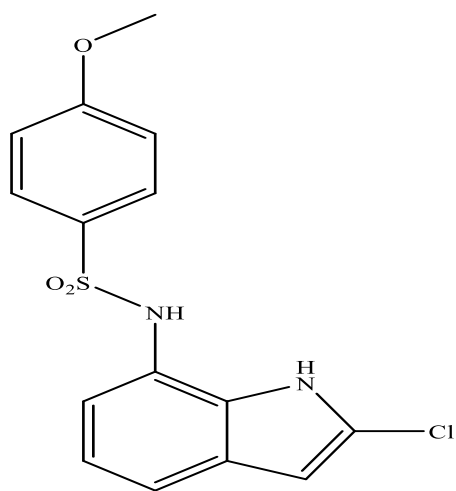
11

IC50 (μM): 3.68



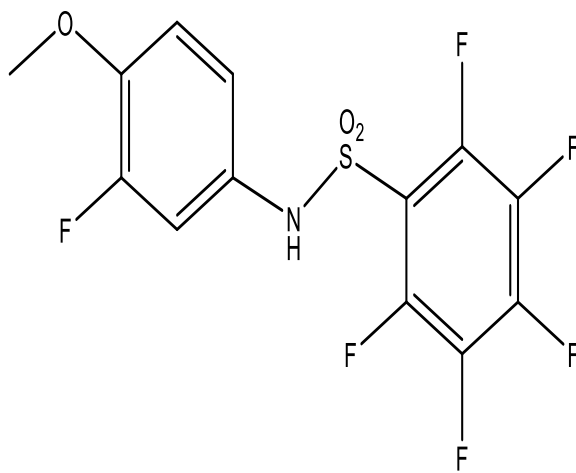
12

IC50 (μM): 16,9



13

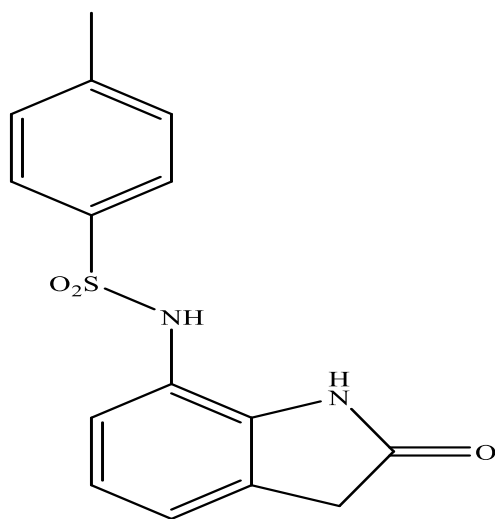
IC50 (μM): 2,4



14

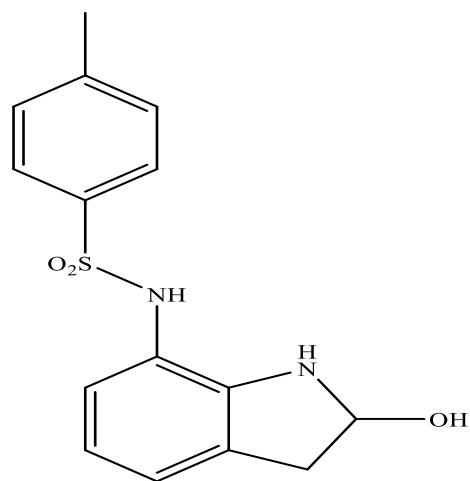
IC50 (μM): 2.0

CHAPITER III : Résultats et Discussion



15

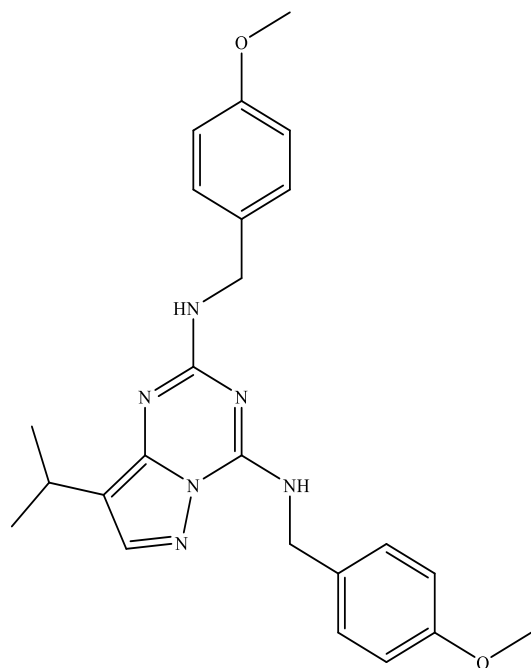
IC₅₀ (μM): 2,50



16

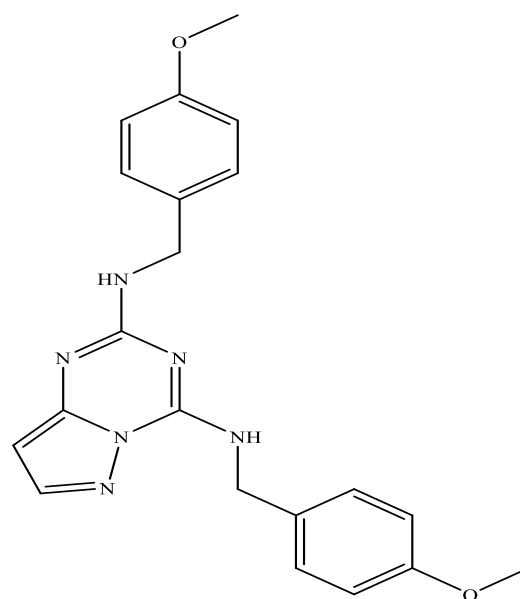
IC₅₀ (μM): 2,9

Sulfonamides



17

IC₅₀ (μM): 3,6

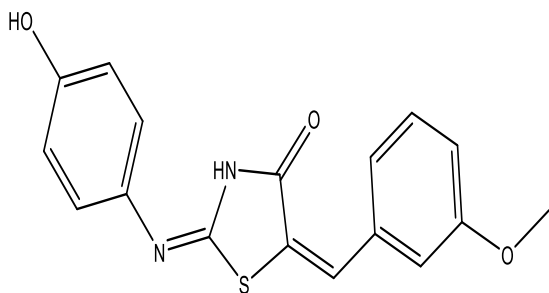


18

IC₅₀ (μM): 3,4

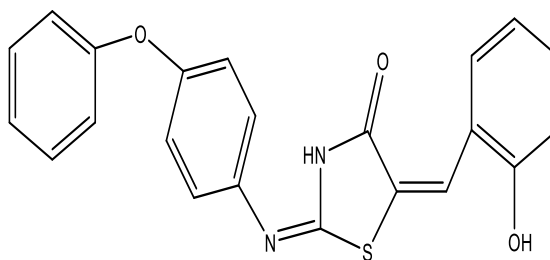
Structures des dérivés de la myoseverin

CHAPITER III : Résultats et Discussion



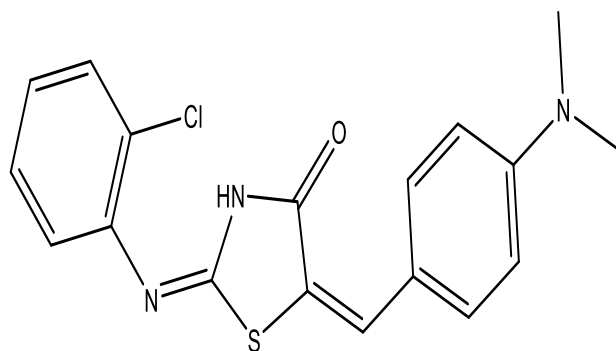
20

IC₅₀ (μM): 6.28



21

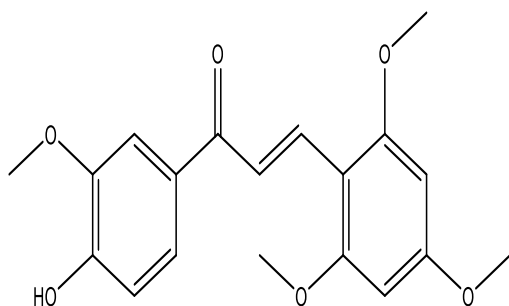
IC₅₀ (μM): 6.22±0.92



22

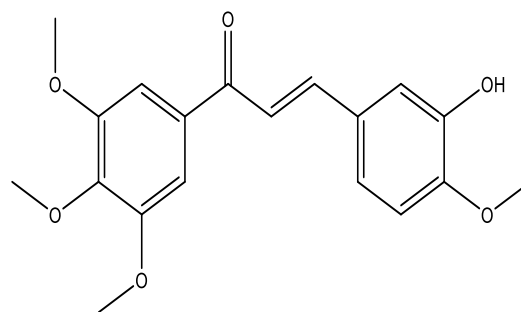
IC₅₀ (μM): 16.75

Analogues de la thiazolidinone



23

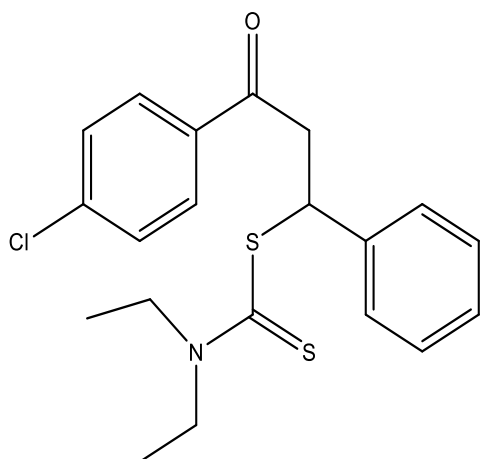
IC₅₀ (μM): 1.5



24

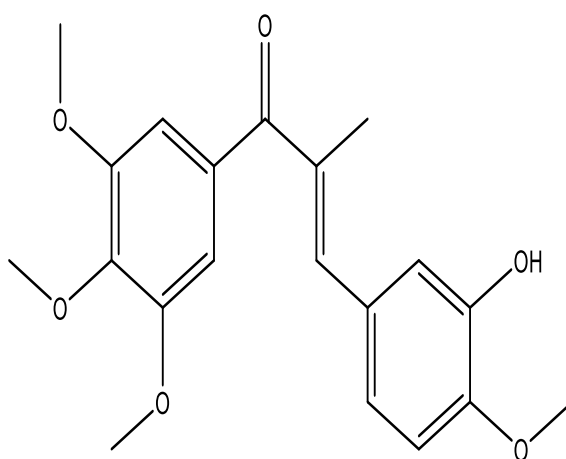
IC₅₀ (μM): 0.6

CHAPITER III : Résultats et Discussion



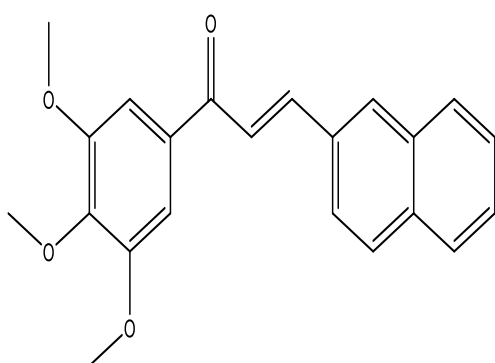
25

IC₅₀ (μM): 0.46



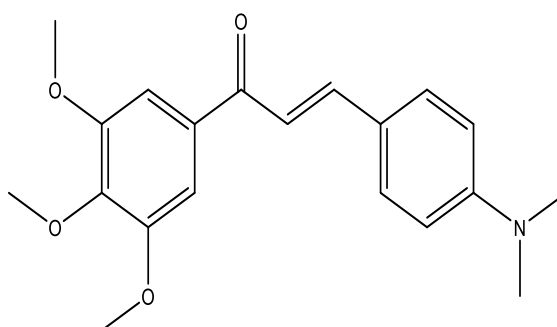
26

IC₅₀ (μM): 6.8±0.6



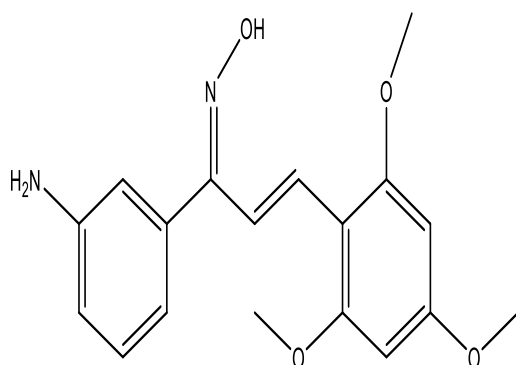
27

IC₅₀ (μM): 2.2



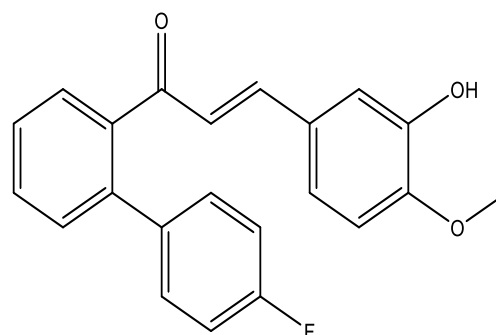
28

IC₅₀ (μM): 2.8



29

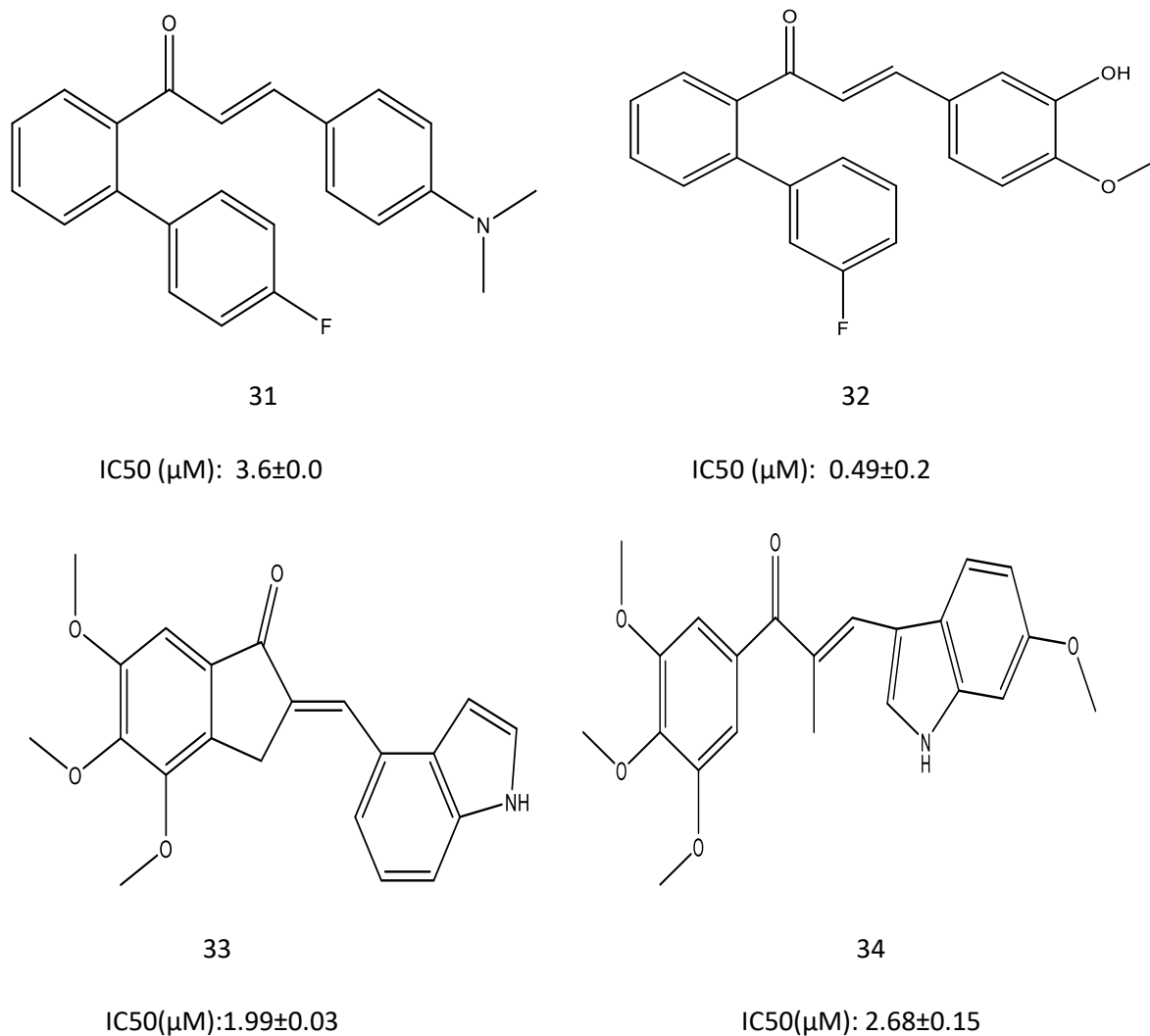
IC₅₀ (μM): 1.6±0.32



30

IC₅₀ (μM): .3±0.0

CHAPITER III : Résultats et Discussion



Analogues de la chalcone

Figure III.1: Inhibiteurs actifs & activité IC₅₀.

III. 2. Matériels et méthodes

III.2.1. Base de données

Un ensemble de 34 composés a été recherché dans la base de données pubchem et dans la littérature [1-2] en tant qu'inhibiteurs puissants de polymérisation de la tubuline. L'ensemble de données a été divisé au hasard en un ensemble d'apprentissage et un ensemble de test, en considérant 80% du total des composés dans l'ensemble d'apprentissage (28composés) et 20% dans l'ensemble de test (6 composés). L'ensemble de d'apprentissage a

CHAPITER III : Résultats et Discussion

été utilisé pour générer des modèles 3D-QSAR, tandis que l'ensemble de test a été utilisé pour valider la qualité du modèle. Toutes les activités biologiques utilisées dans cette étude ont été exprimées en $pIC_{50} = -\log_{10} IC_{50}$ (voir le tableau III.1).

III. 2.2. Préparation de la protéine

Structure cristalline tridimensionnelle de la tubuline (PDB ID: 1SAO) a été téléchargée au format PDB à partir de la banque de données de protéines [3]. Par la suite, la structure a été préparée et affinée à l'aide de l'assistant de préparation de protéines (Protein Preparation Wizard) de Schrödinger-Maestro v11.8 [4]. Des charges et des ordres de liaison ont été attribués, des hydrogènes ont été ajoutés aux atomes lourds et toutes les eaux ont été supprimées. La minimisation de l'énergie a été réalisée à l'aide du champ de force OPLS 2005 en réglant le RMSD (root-mean-square-déviatiion) de l'atome lourd à 0,30 Å.

III. 2. 3. Génération des grilles de récepteur

Le module Glide [5] du logiciel Schrödinger a été utilisé pour générer des grilles de récepteurs. Les grilles de récepteurs ont été déterminées pour les protéines préparées de telle sorte que diverses poses de ligand se lient à l'intérieur du site actif prédit pendant l'amarrage. Les grilles ont été produites en gardant les paramètres par défaut du facteur d'échelle de van der Waals 1,00 et de la coupure de charge 0,25 sous le champ de force OPLS 2005. Une boîte cubique de dimensions spécifiques focalisée autour du centre de gravité des résidus du site actif (site actif du ligand de référence, colchicine) a été créée pour le récepteur. La limitation de la boîte a été réglée à 10 Å x 10 Å x 10 Å pour les calculs d'amarrage.

III. 2. 4. Préparation des ligands

Toutes les molécules ont été construites dans le programme Maestro version 11.8 [4] et ont été préparées à l'aide de LigPrep (module implémenté dans le logiciel Schrodinger) pour convertir la structure bidimensionnelle en une structure 3D, générer un stéréoisomère, déterminer l'état d'ionisation le plus probable en utilisant les conditions par défaut à $pH 7,0 \pm 2,0$. L'utilisation le sous-programme epike pour neutraliser les structures chargées, ajouter de l'hydrogène et générer les conformères bioactifs les plus minimisés de l'énergie en appliquant le champ de force OPLS (potentiels optimisés pour les simulations de liquides) 2005.

CHAPITER III : Résultats et Discussion

III. 2. 5. Amarrage (docking)

Quand la grille de récepteur a été produite ; les ligands ont été amarrés à la protéine en utilisant le protocole d'amarrage de Glide. Le ligand flexible et le mode XP (Précision Extra) ont été utilisés dans la procédure d'amarrage. Les conformères amarrés ont été évalués à l'aide de docking Score [6]. Le protocole « Glide XP » déduit des termes énergétiques tels que les interactions : liaisons d'hydrogènes, électrostatiques, hydrophobe et pi – pi (π - π). [4]

III. 3. Résultats et discussion

III. 3.1. Modèle 3D-QSAR

Field-Based QSAR (dans le logiciel Schrödinger) est un outil pour construire un modèle pour la relation entre les valeurs d'activité connues et les caractéristiques 3D d'un ensemble de composés alignés (similaire à l'analyse comparative de champ moléculaire CoMFA / analyse comparative de l'indice de similarité moléculaire CoMSIA). Il pourrait être possible de visualiser le modèle QSAR dans l'espace pour évaluer qualitativement, ce qui nous permet d'ajouter ou de supprimer des groupes fonctionnels et d'utiliser le modèle pour prédire quantitativement les activités d'autres molécules. Le modèle 3D QSAR a été généré en PHASE (module implémenté dans le logiciel Schrödinger) en utilisant 28 composés comme d'apprentissage, tandis que le modèle a été validé en utilisant 6 composés en tant que composés de test. Les activités expérimentales et prédites pour l'ensemble d'apprentissage et l'ensemble de test sont données dans le tableau III.1. Un modèle à cinq facteurs de PLS avec de bonnes statistiques et une capacité prédéterminée a été généré pour l'ensemble de données. Les valeurs statistiques ont été répertoriées dans le tableau III.2. Les résultats de QSAR montrent le meilleur coefficient de régression de R^2 (0,996), une grande valeur de F (1346.7) et une valeur P ($1,4e-026$), une petite valeur de l'écart type (0,033), RMSE (0,25) et des valeurs élevées de Pearson-P (0,885) indiquent un modèle de régression statistiquement significatif. Le modèle a été validé par un bon coefficient de corrélation pour l'ensemble de test $q^2 = 0,687$. Le graphique de l'activité biologique observée par rapport à l'activité biologique prévue des ensembles d'apprentissage et de test est illustré dans la figure III.2.

CHAPITER III : Résultats et Discussion

Tableau III.1. Données d'activité Expérience/prédite pour l'apprentissage et le test de l'ensemble de ligands.

Numéros de ligand	Ensemble QSAR	Activité Exp	Facteurs PLS	Activité prédite
1	Apprentissage	5.769	5	5.749
2	Apprentissage	5.244	5	5.287
3	Apprentissage	5.337	5	5.332
4	Apprentissage	5.677	5	5.686
5	Apprentissage	5.818	5	5.827
6	Apprentissage	7.301	5	7.270
7	Test	4.740	5	4.930
8	Apprentissage	4.675	5	4.629
9	Apprentissage	6.00	5	5.990
10	Apprentissage	5.434	5	5.443
11	Apprentissage	4.772	5	4.751
12	Apprentissage	5.619	5	5.602
13	Test	5.698	5	6.364
14	Apprentissage	5.602	5	5.596
15	Apprentissage	5.537	5	5.648
16	Test	5.443	5	5.511
17	Apprentissage	5.468	5	5.400
18	Apprentissage	5.202	5	5.221
19	Test	5.206	5	5.210
20	Apprentissage	4.775	5	4.749
21	Apprentissage	5.832	5	5.732
22	Test	6.207	5	5.732
23	Apprentissage	6.346	5	6.318
24	Apprentissage	5.167	5	5.185
25	Test	5.657	5	5.658
26	Apprentissage	5.552	5	5.581
27	Apprentissage	5.795	5	5.803

CHAPITER III : Résultats et Discussion

28	Apprentissage	5.880	5	5.859
29	Apprentissage	5.443	5	5.459
30	Apprentissage	6.309	5	6.356
31	Apprentissage	5.701	5	5.676
32	Apprentissage	5.571	5	5.564
33	Apprentissage	5.844	5	5.841
34	Apprentissage	5.216	5	5.259

Tableau III.2. Valeurs statistiques pour le modèle 3D-QSAR généré par PLS.

# Les facteurs	SD	R ²	F	P	RMSE	Q ²	Pearson-r
1	0.272	0.740	74.3	4.26e-009	0.21	0.786	0.903
2	0.159	0.914	134.0	4.36e-014	0.24	0.714	0.886
3	0.106	0.963	209.9	2.37e-017	0.27	0.634	0.870
4	0.053	0.991	643.6	3.06e-023	0.25	0.682	0.862
5	0.033	0.996	1346.7	1.4e-026	0.25	0.687	0.885

SD: écart type de la régression; **R²**: coefficient de régression; **F**: rapport de la variance du modèle à la variance de l'activité observée (ratio de variance); **P**: niveau de signification du rapport de variance; **Q²**: coefficient de corrélation à validation croisée pour l'ensemble de test; **RMSE**: l'erreur RMS dans les prédictions de l'ensemble de test.

CHAPITER III : Résultats et Discussion

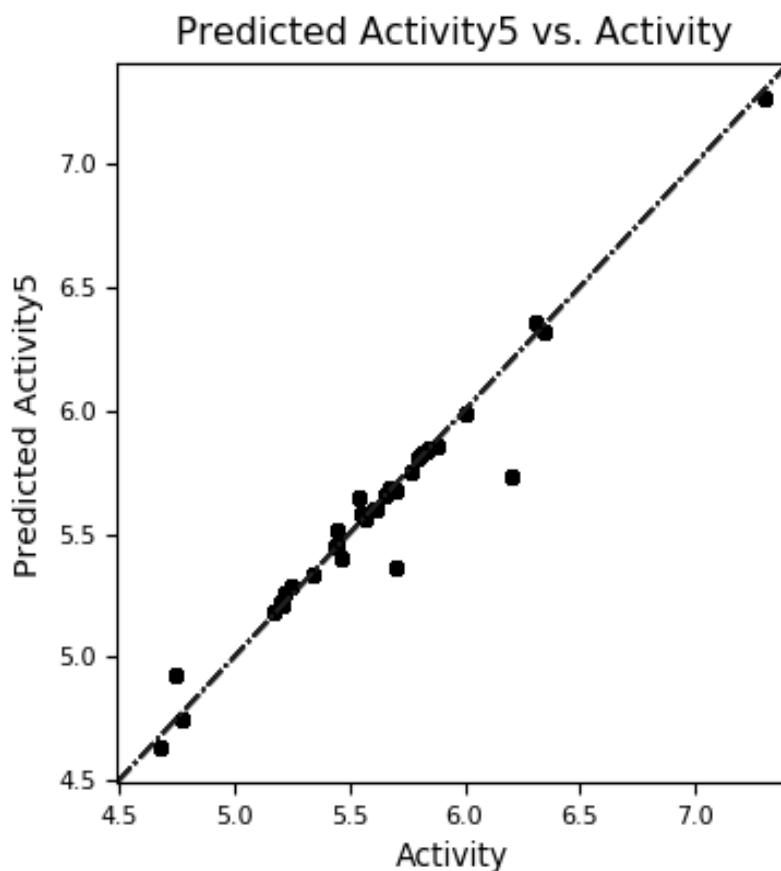


Figure III.2 : Graphique de corrélation de pIC50 expérimental et prédit des ensembles d'apprentissage et de test.

Les contributions relatives des champs stérique, électrostatique, hydrophobe, accepteur de liaison d'hydrogène et donneur de liaison d'hydrogène sur l'activité sont respectivement de **0,385**, 0,104, 0,212, **0,183** et 0,114 (voir le tableau III.3 pour le meilleur PLS). La validité effective du modèle est indiquée par sa capacité à prédire l'activité biologique de nouvelles molécules. . D'après le tableau III.3, il apparaît que le champ stérique contribue de façon remarquable sur l'activité par rapport les champs hydrophobe, accepteur de liaison d'hydrogène, électrostatique et donneur de liaison d'hydrogène, respectivement.

CHAPITER III : Résultats et Discussion

Tableau III.3. Détails des calculs du modèle QSAR basé sur le terrain.

# facteurs	Les	Stérique gaussien	Électrostatique gaussien	Hydrophobe gaussien	Accepteur Hbond	Donateur Hbond
1		0.466	0.081	0.202	0.152	0.096
2		0.404	0.094	0.212	0.181	0.106
3		0.397	0.098	0.212	0.181	0.109
4		0.388	0.102	0.211	0.184	0.113
5		0.385	0.104	0.212	0.183	0.114

Les données d'interaction ainsi obtenues permettent la construction d'un modèle de régression PLS comprenant un grand nombre de coefficients. Afin de faciliter la compréhension de ce modèle, les résultats sont généralement représentés sous la forme d'aires de contour indiquant les régions favorables et défavorables aux interactions stériques, électrostatiques, hydrophobique, accepteur de liaison d'hydrogène et donneur de liaison d'hydrogène.

Les contours 3QSAR basés sur le champ gaussien pour les interactions stérique, hydrophobique et accepteur de liaison d'hydrogène sont représentés sur les figures III.3a, III.3b et III.3c, respectivement. Dans les aires de contour, chaque contour coloré correspond à des propriétés spécifiques telles que les contours verts pour les régions à haute influence de stérique, jaune pour une faible influence de stérique. Les contours orange représente les régions hydrophobique favorisées et les contours bleus pour les régions hydrophobique défavorisées. Les contours magenta et rouge indiquent des régions favorables et défavorables pour l'accepteur de liaison hydrogène, respectivement.

CHAPITER III : Résultats et Discussion

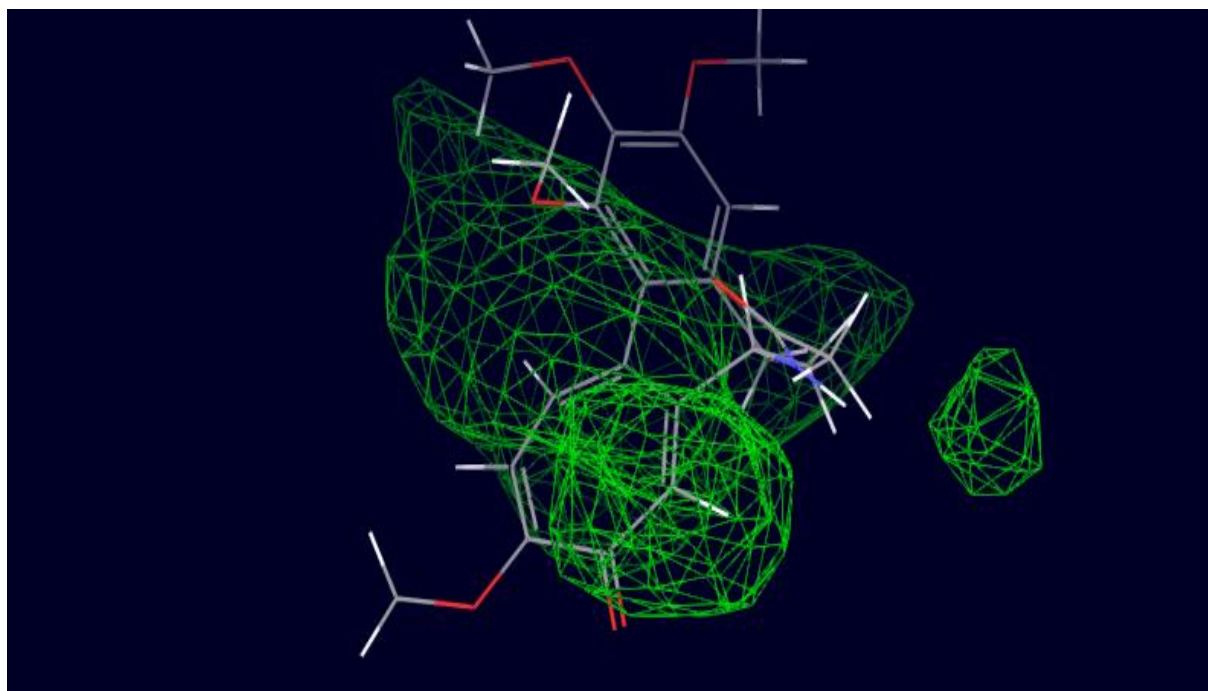


Figure III.3a : Aires du champ gaussien stérique pour la colchicine (ligand de référence).

les interactions stériques de 3D QSAR basé du champ gaussien dans la figure III.3a ne montre aucune présence de contours jaunes sur la molécule de référence indiquant l'absence de régions défavorables. Le grand contour vert situé sur les cycles de colchicine (ligand de référence) indique une influence stérique élevée dans ces zones (la zone où le groupe volumineux favorise l'activité)).

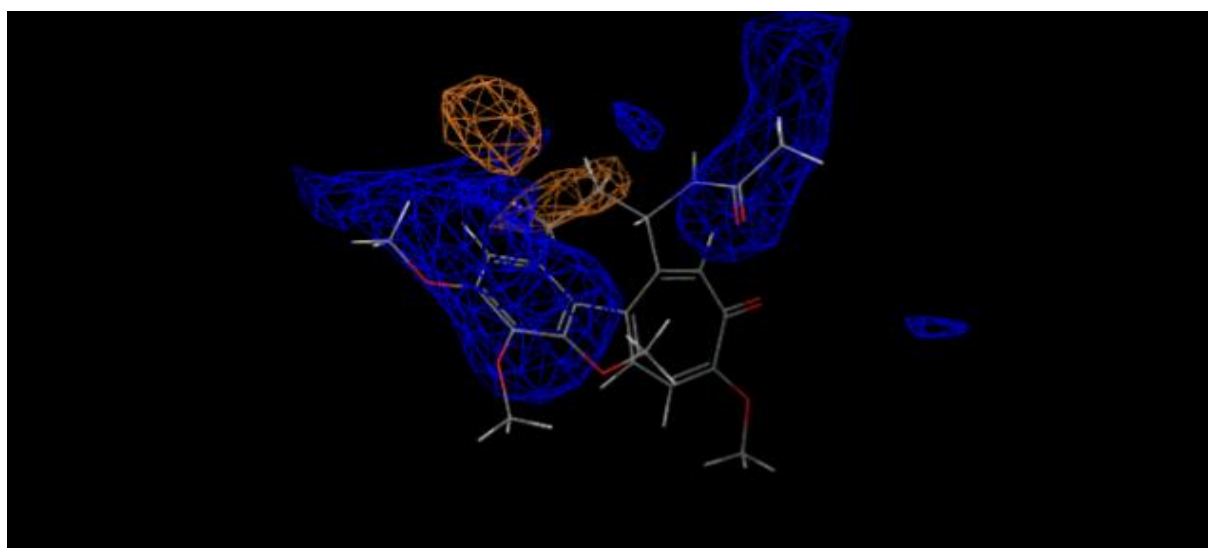


Figure III.3b. Aires du champ gaussien d'hydrophobe pour la colchicine.

CHAPITER III : Résultats et Discussion

Les aires de contours hydrophobes sont affichées sur la **figure III.3b**. Les contours bleus montrent des régions hydrophobes défavorables situées sur le cycle benzénique (cycle A), les groupes méthoxy et la fonction amide. Les contours orange sont présents dans des zones hydrophobes favorables situées sur une partie du cycle B de la colchicine, ce qui indique que tout groupe en présent à cette position représente des régions hydrophobiques favorisées.

Les aires de contours d'accepteur de liaison d'hydrogène sont indiquées par des contours rouges et magenta sur la **figure III.3c**. Les contours rouges représentent des régions où les accepteurs de liaisons hydrogène sont favorables et les contours magenta indiquent des régions où les accepteurs de liaisons hydrogène sont défavorables pour l'activité. Dans cette position (rouge), tout substituant contenant un groupe accepteur augmente l'activité.

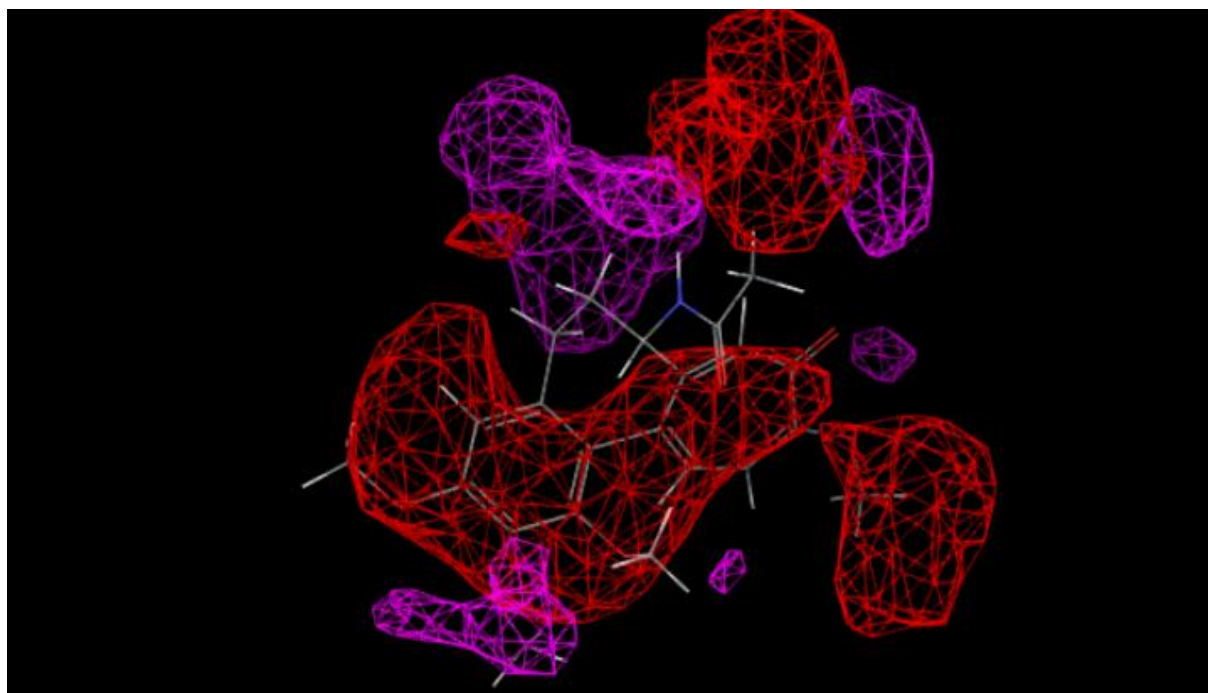


Figure III.3c : Aires du champ gaussien d'accepteur de liaison d'hydrogène pour la colchicine.

III. 3.2. Amarrage (Docking)

Etudes de la structure docking ont été menées pour étudier l'interaction intermoléculaire entre le ligand et l'enzyme ciblée à l'aide de Glide (Glide 5.8, Schrödinger, 2018). Le docking

CHAPITER III : Résultats et Discussion

a été effectué pour étudier le mode de liaison des composés actifs avec le récepteur : 28ai et obtenir des informations pour de nouvelles améliorations structurales. La génération de grille pour définir le site de liaison sur le récepteur a été effectuée à l'aide du panneau de génération de grille du récepteur avec les paramètres par défaut. Le docking Glide (XP) a été utilisé pour cette étude. Pour évaluer le docking des ligands protonnés, le score de docking doit être utilisé. Ainsi, dans ce travail, le score de docking a été utilisé pour comparer la stabilité des complexes simulés.

Le site actif le plus susceptible d'effectuer le processus d'amarrage se compose des acides aminés suivants : ASN A :101, ALA A :180, VAL A :181, LYS B :352, THR B : 353, ALA B :354, ALA B :316, ALA B :317, VAL B : 318, CYS B :241, MET B : 259, ASN B :258, VAL B :238, ILE B : 378, LEU B :255, LYS B :254, LEU B :252, ASP B : 251, ALA B : 250, ASN B : 249, LEU B : 248, GLN A : 11.

Le score d'amarrage obtenu pour les inhibiteurs potentiels L-2, L-6, L-22, L-23 et L-30 sont -5.67,-5.45,-5.45,-6.97 et -7.30, respectivement (Voir le tableau III.4). D'après le tableau III.4, le complexe L-30/ tubuline est plus stable que les complexe L-23/ tubuline, L-2/ tubuline, L-6/ tubuline, L-22/ tubuline, respectivement. Parmi ces inhibiteurs étudiés, l'inhibiteur L-30 a un score d'amarrage plus élevé par rapport à tous les inhibiteurs actifs.

Tableau III.4: Résultats de l'analyse d'amarrage des ligands sélectionnés.

Ligands	Score docking	Energie Glide	Activité PIC ₅₀
L2 (Colchicine)	-5.67	-42.72	5.244
L-6	-5.45	-53.32	7.301
L-22	-5.45	-44.87	6.207
L-23	-6.97	-49.12	6.346
L-30	-7.28	-44.75	6.309

CHAPITER III : Résultats et Discussion

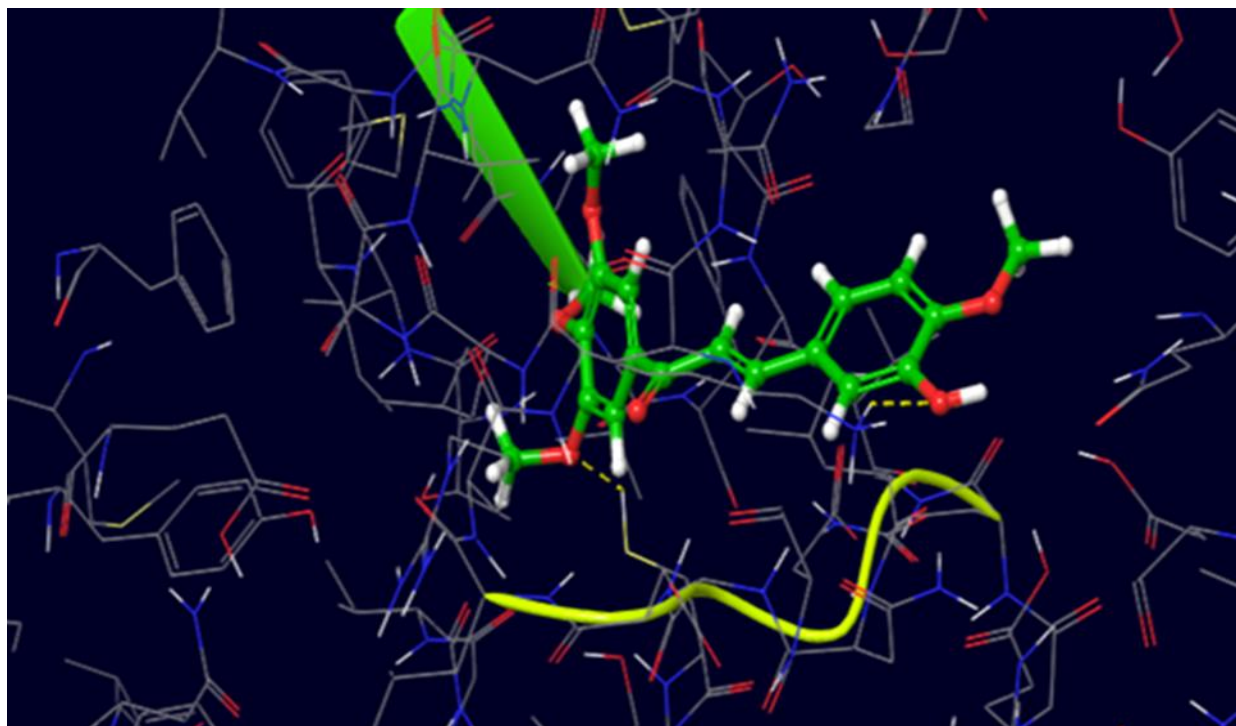
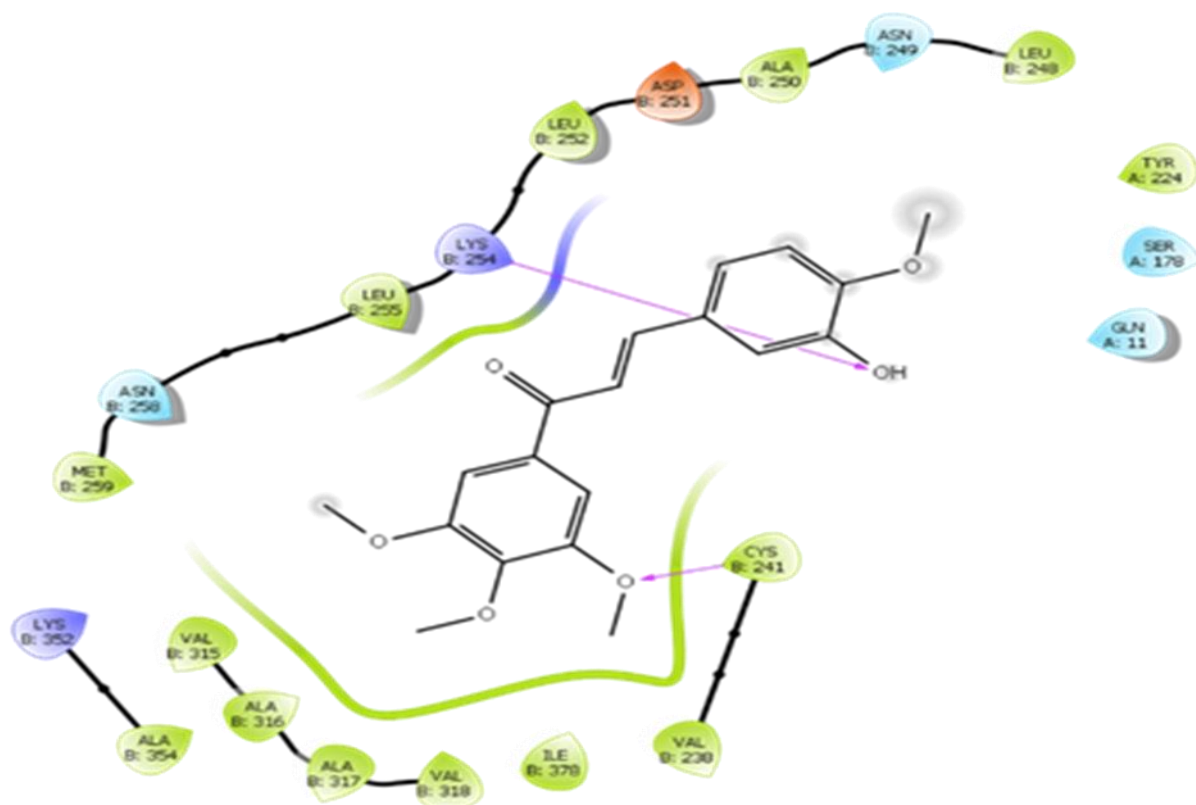


Figure III.4b : Interactions 2D et 3D du ligand 22 dans le site actif du récepteur 1SA0.

CHAPITER III : Résultats et Discussion

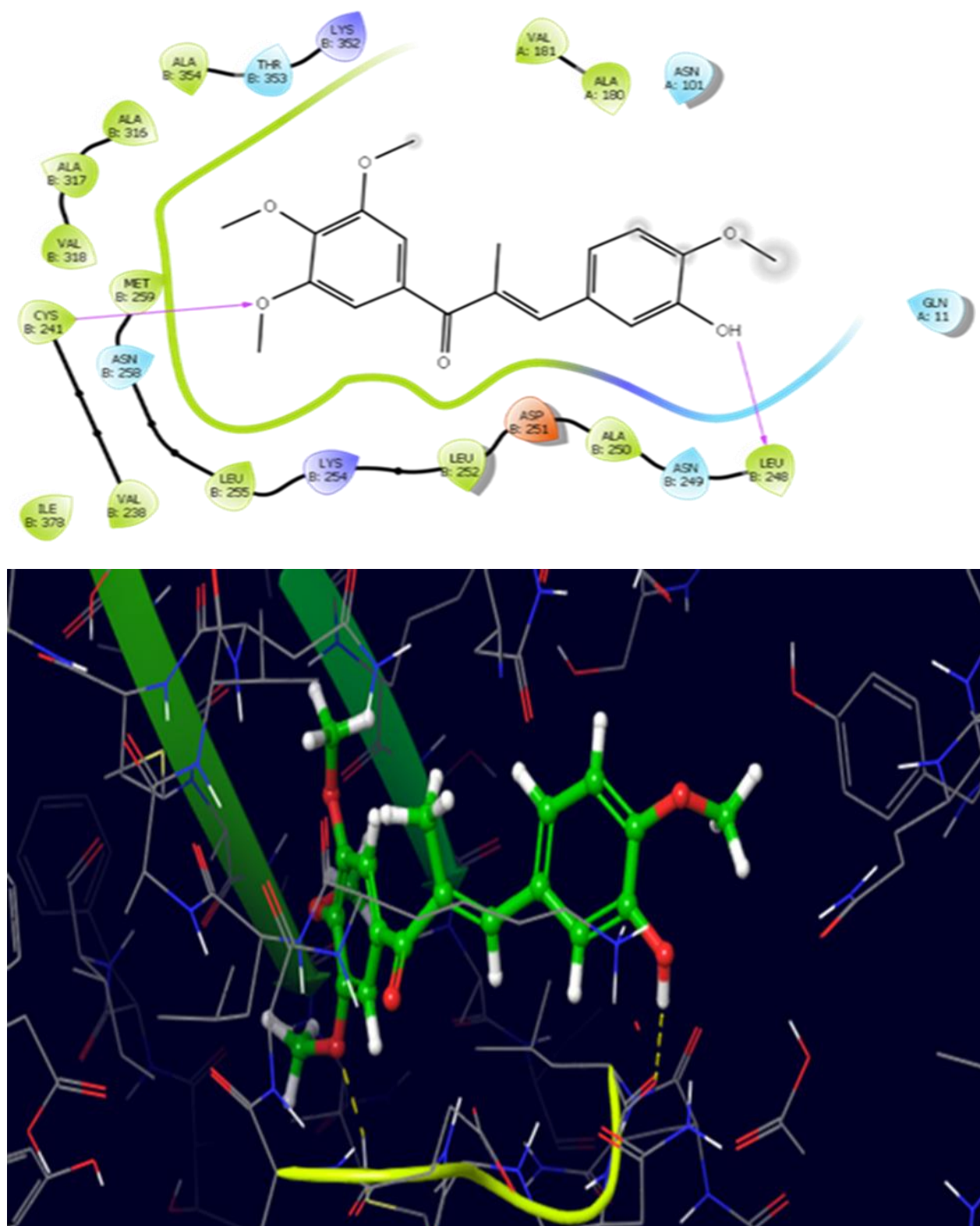


Figure III.4c : Interactions 2D et 3D du ligand 23 dans le site actif du récepteur 1SA0.

CHAPITER III : Résultats et Discussion

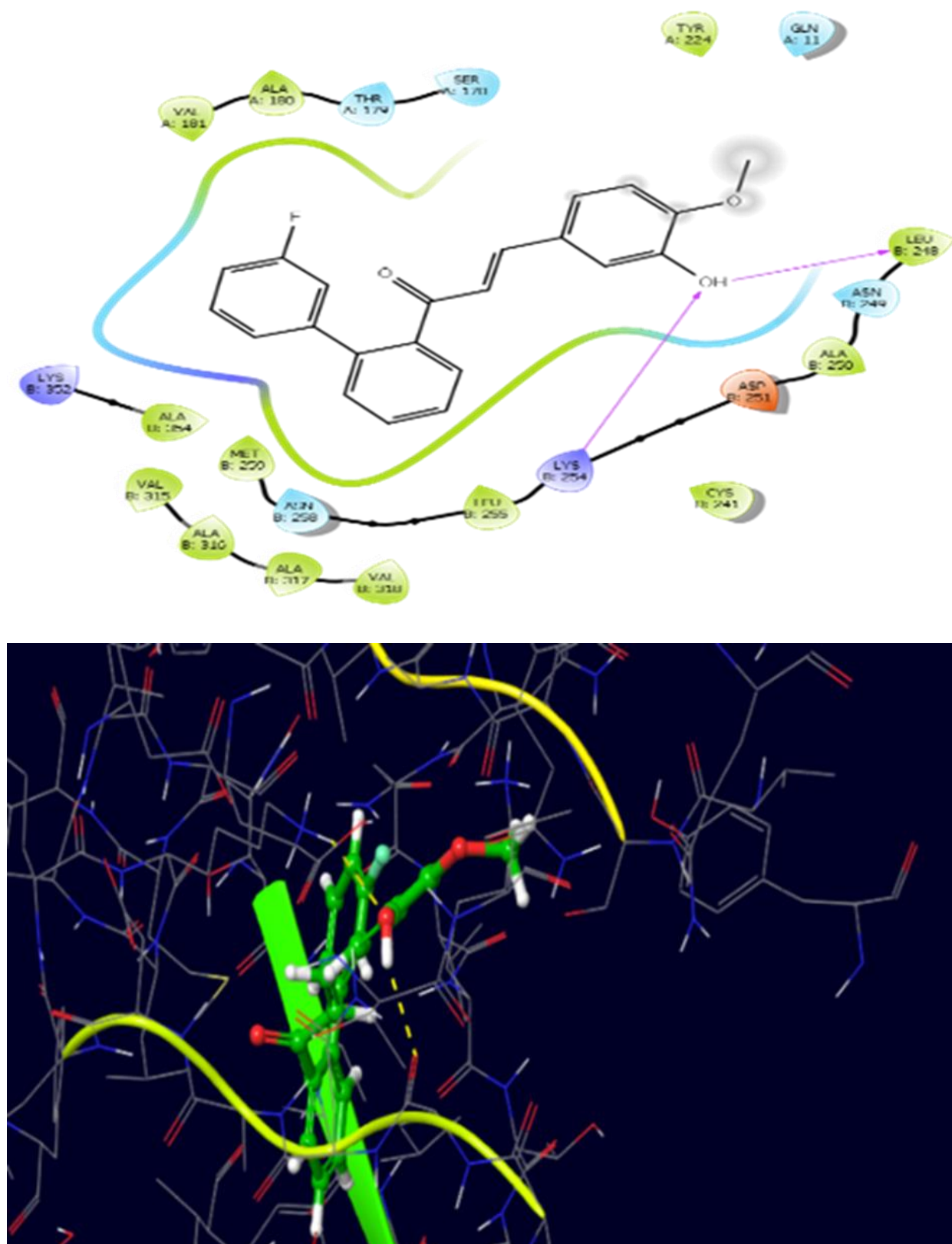


Figure III.4.d : Interaction 2D et 3D du ligand 30 dans le site actif du récepteur 1SA0.

CHAPITER III : Résultats et Discussion

Des études d'amarrage de ligand **6** ont montré que l'atome d'oxygène du groupe (OCH₃) dans le cycle benzénique (contient trois groupes OCH₃) agit comme accepteur et crée une liaison hydrogène avec **LYS B : 254** (Figure III.4a). Pour le **ligand 22**, l'atome d'oxygène du groupe (OH) agit comme un accepteur et crée une liaison hydrogène avec **LYS B : 254** et l'atome d'oxygène du groupe (OCH₃) dans le cycle benzénique (contient trois groupes OCH₃) agit comme un accepteur de liaison hydrogène et crée une liaison hydrogène avec **CYS B : 241** (Figure III.4b). Pour le **ligand 23**, le groupe (OH) agit comme un donneur de liaison d'hydrogène et crée une liaison hydrogène avec le **LEU B : 248** et l'atome d'oxygène de méthoxy (OCH₃) dans le cycle benzénique (contient trois groupes OCH₃) agit comme un accepteur de liaison d'hydrogène et crée une liaison hydrogène avec **CYS B : 241** du récepteur 1SAO (Figure III.3c). Pour le **ligand 30**, l'atome d'oxygène (OH) agit comme un donneur de liaison hydrogène et crée une liaison hydrogène avec le **LEU B : 248** et en même temps agit comme accepteur de liaison hydrogène et crée une liaison hydrogène avec le **LYS B : 254** du récepteur (Figure III.3d).

Ces interactions globales avec **LYS B : 254** pourraient être la raison de score de docking élevé et par conséquent il permet d'être puissant et aussi sélectif pour l'activité biologique étudiée.

III. 3.3. Prédiction d'ADMET

Les propriétés d'analyse ADMET (absorption, distribution, métabolisme, élimination et toxicité) pour les ligands peuvent être déterminées in-silico en utilisant le module qikprop de Schrödinger suite 2018. Nous avons évalué les descripteurs physio-chimiques et les propriétés pharmaceutiques pertinentes des ligands actifs sélectionnés pour analyser les propriétés médicamenteuses (**tableau III.5**).

Le nombre calculé de réactions métaboliques probables (# metab) est compris entre 2 et 7. Tous les ligands actifs ont montré de bonnes valeurs de coefficient de partage (QP log Po / w) (2.592 à 4.972), qui étaient essentielles pour l'absorption et la distribution des médicaments. Le nombre estimé de liaisons hydrogène qui seraient données par le soluté aux molécules d'eau dans une solution aqueuse des composés est compris entre 1.000 et 2.000. Le nombre estimé de liaisons hydrogène qui seraient acceptées par le soluté à partir de molécules d'eau

CHAPITER III : Résultats et Discussion

dans une solution aqueuse des composés est de l'ordre de 3.500 à 8.250. Le nombre de violations de la règle de cinq de Lipinski est de 0-1. Les composés ont 100% d'absorption orale humaine. Le coefficient de partage cerveau / sang estimé (QPlogBB) est compris entre -0.993 et -0.391. Ainsi, presque toutes les propriétés des ligands actifs se situent dans les valeurs recommandées. À partir de ces résultats, nous pouvons dire que les ligands actifs peuvent être utilisés dans les essais cliniques en raison de bonnes propriétés ADMET. Les détails des propriétés ADMET pour les ligands actifs sont indiqués dans le **Tableau III.5**.

Tableau III.5 : Criblage in silico ADMET de ligands sélectionnés.

Ligand	QPlogBB	QPlogHERG	QPlogKP	QPPcaco	QPPMD CK
L-2	-0.604	-3.119	-2.524	926.974	710.227
L-6	-0.483	-4.137	-2.335	646.788	3957.227
L-22	-0.993	-5.460	-1.878	1129.637	564.379
L-23	-0.865	-4.923	-1.886	1353.127	685.980
L-30	-0.604	-6.734	-0.911	1624.067	1511.397
Valeurs recommandées	-3.0 to 1.0	AU DESSUS -5	-8 à 1	≤25 : faible ; ≥ 500 : super	≤ 25 : faible ; ≥ 500: super

Ligand	Donneur HB	Accepteur HB	QPLog PO /W	#metab	QPlog Khsa	Règle de cinq	%Humane Orale Absorption
2	1.000	7.500	2.592	5	-0.084	0	300
6	2.000	7.750	4.949	7	0.632	1	100
22	1.000	5.750	3.381	5	0.138	0	300
23	1.000	5.750	3.629	6	0.247	0	300
30	1.000	3.500	4.972	2	0.703	0	300
Valeurs recommandées	≤ 5	≤ 10	-2.0 – 6.5	1 – 8	-1 .5 – 1.5	Max 4	>80% super <25% faible

CHAPITER III : Résultats et Discussion

Donneur HB : Nombre estimé de liaisons hydrogène qui seraient données par le soluté aux molécules d'eau dans une solution aqueuse. Les valeurs sont des moyennes prises sur un certain nombre de configurations.

Accepteur HB : Nombre estimé de liaisons hydrogène qui seraient acceptées par le soluté à partir de molécules d'eau dans une solution aqueuse. Les valeurs sont des moyennes prises sur un certain nombre de configurations.

QPlogPo / w : Coefficient de partage octanol / eau prévu.

QPlogHERG : Valeur IC50 prévue pour le blocage des canaux HERG K +.

QPPCaco : Perméabilité apparente prévue des cellules Caco-2 en nm / s. Les cellules Caco-2 sont un modèle pour la barrière intestinale. Les prédictions QikProp concernent le transport non actif.

QPlogBB : Coefficient de partage cerveau / sang prédit. Remarque : les prédictions QikProp concernent les médicaments administrés par voie orale

QPMDCK : Perméabilité apparente prévue des cellules MDCK en nm / s. Les cellules MDCK sont considérées comme une bonne imitation de la barrière hémato-encéphalique. Les prédictions QikProp concernent le transport non actif.

QPlogKp : Perméabilité cutanée prévue.

Metab : Nombre de réactions métaboliques probables. Voir l'annexe A du manuel d'utilisation de QikProp pour une liste complète des réactions.

QPlog Khsa : Prédiction de la liaison à l'albumine sérique humaine

Pourcentage d'Absorption Humaine Orale : Absorption orale humaine prédite sur une échelle de 0 à 100% La prédiction est basée sur un modèle de régression linéaire multiple quantitative. Cette propriété est généralement bien corrélée avec HumanOralAbsorption, car les deux mesurent la même propriété.

Rule Of Five : Nombre de violations de la règle de Lipinski de cinq.

Références

- [1] S. Kim *et al.*, “PubChem 2019 update: improved access to chemical data,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 47, no. D1, pp. D1102–D1109, 2019.]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- [2] M. Dong, F. Liu, H. Zhou, S. Zhai, and B. Yan, “Novel natural product-and privileged scaffold-based tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site,” *Molecules*, vol. 21, no. 10, 2016, doi: 10.3390/molecules21101375.
- [3]. Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>).
- [4]. Maestro v11.5, Schrödinger, LLC, New York, USA.
- [5] T. A. Halgren *et al.*, “Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 2. Enrichment factors in database screening,” *J. Med. Chem.*, vol. 47, no. 7, pp. 1750–1759, 2004.
- [6] R. A. Friesner *et al.*, “Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy,” *J. Med. Chem.*, vol. 47, no. 7, pp. 1739–1749, 2004.

A large, horizontally-oriented oval with a light orange or peach color. It has a subtle gradient and a thin, darker orange border. The text is centered within this oval.

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans cette étude, des analyses de modèle QSAR basé sur le champ ont été utilisées pour prédire l'activité antipolymérisation de tubuline d'un ensemble de dérivés de plusieurs familles de colchicine, combrétastatine A-4, podophyllotoxine, myosevérine, sulfonamide et de chalcone.

Les modèles QSAR ont donné de bons résultats statistiques en termes de valeurs r^2 et Q^2 ($r^2=0.996$, $Q^2=0.687$). Le modèle QSAR basé sur le champ a fourni une corrélation significative du champ stérique, hydrophobe et accepteur de liaison d'hydrogène avec les valeurs d'activité biologique. Les champs du modèle 3D QSAR au niveau des molécules alignées sur l'activité biologique ont été expliqués en analysant les aires de contour.

L'amarrage a été effectué pour étudier le mode de liaison des ligands actifs sur le récepteur afin d'obtenir des informations pour une optimisation plus poussée de la structure. Le ligand L-30 affiche le meilleur score d'amarrage.

Le criblage insilico ADMET de ces ligands actifs a également été effectué et les valeurs de toutes les propriétés sont dans les valeurs recommandées.

Les informations obtenues dans cette étude fournissent une méthodologie pour prédire l'affinité des dérivés de ces familles apparentés pour inhiber la polymérisation de tubuline