



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMCEM

MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie des Produits Naturels

Par :

Melle TALEB Bouchra

Sur le thème

**Etude de l'interaction enzyme –substrat par modélisation moléculaire :Cas
de la maladie du cancer**

Soutenu en ligne, le 27 Septembre 2020 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mr GHALEM Said	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Mme BOUKLI-HACENE Faiza	M-C-B	Université de Tlemcen	Examinatrice
Mme MERAD- BENYAROU Meriem	Professeur	Université de Tlemcen	Encadrante

Année universitaire : **2019/2020**

Remerciement

Avant tout, je remercie « Allah » tout puissant, qui m'a donné la force et la puissance et m'avoir aidé à accomplir ce modeste travail, qui a été réaliser au sein du laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives LASNABIO de la faculté des sciences, Université de Tlemcen.

Je remercie tout d'abord Mme « MERAD-BENYAROU Meriem », professeur à l'université de Tlemcen, faculté des sciences, pour la disponibilité, l'orientation, la confiance, la patience, l'aide et le temps qu'elle a consacré et pour tous leur conseils, qu'il soit question de manip ou de rédaction et sans elle ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

J'exprime ma profonde et respectueuse gratitude à Mr «GHALEM Said», Professeur à l'université de Tlemcen et Directeur du laboratoire de recherche LASNABIO " Substances naturelles et bioactives" de m'avoir donné la chance de faire les calculs de modélisation moléculaire au sein de son laboratoire, je le remercie aussi de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Ma gratitude et mes sincères remerciements vont également à Mme «BOUKLI-HACENE Faiza», pour avoir aimablement accepté d'examiner mon travail et de participer à ce jury.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à tous les professeurs et enseignants du département de chimie qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

Merci

Dédicaces

Je dédie ce travail :

- ❖ *A ma chère mère, pour son sacrifice, son amour, son soutien et son encouragement tout au long de mes études, sans elle je n'en serais pas là. Que dieu la protège pour moi.*
- ❖ *A mon cher papa, pour son amour et son soutien. Que dieu le procure bonne santé et longue vie.*
- ❖ *A ma sœur « **Yasmina** » et mon frère « **Ahmed Riad** » qui m'ont aidé, soutenu et encouragé tout au long de mon parcours.*
- ❖ *A ma grande mère chérie, qui m'accompagne par ses prières, sa douceur et son amour, puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur.*
- ❖ *A la mémoire de mon oncle « **Moustafa** » que dieu lui garde dans son vaste paradis.*
- ❖ *A ma tante « **Rahima** » pour ses encouragements et son support et pour son mari « **Slimane** ».*
- ❖ *A toute ma grande famille.*
- ❖ *A tous mes amis que j'aime: **Rawnak, Ammaria, Souad, Asma, Houda, Djamila et Manel** pour leurs aides, leurs disponibilités, leurs sincères amitiés et confiance.*
- ❖ *A mon précieux ami « **Rabah** » pour son aide et son support.*
- ❖ *A tous les étudiants de ma promotion de chimie des produits naturels et à tous ceux, qui, de près ou de loin, m'ont aidé à mener à bon terme la réalisation de ce travail.*

Sommaire

Introduction générale	1
Référence.....	4
Chapitre 1 : Généralités sur le cancer	
1-Généralités sur le cancer.....	5
1.1Définition du cancer.....	5
1.2Types de cancer.....	5
a. Les cancers solides	5
b. Les cancers « liquide » ou sanguins	6
c. Les cancers neuro-ectodermiques	6
d. Les cancers «métastatiques»	6
1.3 Les stades de cancer.....	6
1.4Traitement du cancer.....	7
2-Leucémie.....	8
3-Cancer du sein.....	8
4-Le cancer dans le monde.....	8
5-Le cancer en Algérie.....	9
Référence.....	11
Chapitre 2 :L'enzyme LIM Kinase et son inhibiteur Pyr1	
1-Famille des LIM Kinase.....	12
2-Inhibiteur « Pyr1 »	13
Référence.....	17
Chapitre3 : La modélisation moléculaire	
1.1. Introduction à la modélisation moléculaire	18
1.2. Les objectifs de la modélisation moléculaire	18
1.3. Méthodes de la modélisation moléculaire	19

1.3.1 Les méthodes quantiques	19
A-Méthodes <i>ab-initio</i> (Hartree- Fock- Roothann)	20
B- Méthodes semi-empiriques	20
1.3.2 Les méthodes non quantiques	20
1-Mécanique moléculaire	20
a. Champ de force	21
b. Les principaux champs de force en mécanique moléculaire	22
2-Dynamique moléculaire	23
3- Docking moléculaire	24
Référence.....	26
 Chapitre 4 : Résultats et discussion	
Introduction	28
1.Matériels.....	29
1.1Ressources informatiques	29
A. Ordinateurs	29
1.2Logiciels utilisés.....	29
A. Molecular Operating Environment MOE (version 2014)	29
B. Chem DRAW Ultra 8.0	29
1.3Préparation de l'enzyme et ligands.....	30
1.3.1Préparation des ligands	30
1.3.2Préparation de l'enzyme	30
1.3.3Protocole générale du docking moléculaire.....	31
2. Discussion.....	32
2.1Classification des complexes.....	35
2.1.1Classification des complexes selon l'énergie d'interaction.....	35
2.1.2Classification des complexes selon la stabilité	35

2.2Discussion selon la stabilité	36
2.2.1Comparaison entre le pyr1 et leurs similaires	36
2.2.2Comparaison entre le ligand L_1 et les produits commercialisés (Paclitaxel et Taxane).	36
a.Classification selon l'énergie	36
b.Classification selon la stabilité.....	36
2.3Discussion selon l'énergie et les interactions	37
2.4 Solubilité et toxicité du Pyr1.....	40
2.5 L'ajout de lysine au Pyr1	41
Référence	44
Conclusion générale	46
Perspectives	47

Liste des figures

Figure 1: Schéma de développement des cellules cancéreuses.....	5
Figure 2: L'incidence du cancer dans le monde en 2018.....	8
Figure3: la mortalité par cancer dans le monde en 2018.....	9
Figure 4 : Projections de l'incidence du cancer en Algérie 2015-2025.....	10
Figure5 : Liminib (ou Pyr1) [5,11-Dimethyl-1-oxo-2,6-dihydro-1 <i>H</i> -pyrido [4,3- <i>b</i>] carbazol-9-yl benzoate].....	13
Figure 6 : synthèse des nouveaux analogues diversement substitués sur le C-5.....	14
Figure7 : Synthétise de Pyr1(Liminib) par C-H Nguyen.....	14
Figure8 : mécanique moléculaire.....	21
Figure 9: Principe général du programme de docking.....	24
Figure10 : Protocole général de docking(Férey N et coll,2008).....	25
Figure 11 : 5NXC non simplifié.....	30
Figure12 : 5NXC simplifié.....	30
Figure13 : Schéma présentatrice du Protocol de calcul pour le docking moléculaire.....	31
Figure14 : Interaction entre 5NXC et L1.....	39
Figure 15 : Dimension du Pyr1 dans le site actif de l'enzyme.....	40
Figure 16 : Liminib (ou Pyr1) [5,11-Dimethyl-1-oxo-2,6-dihydro-1 <i>H</i> -pyrido [4,3- <i>b</i>] carbazol-9-yl benzoate].....	46

Liste des tables

Tableau 1: Classification par stade des cancers.....	7
Tableau 2 : Fardeau mondial du cancer année 2018.....	9
Tableau 3 : Similaires de Pyr 1 téléchargés à partir de Pubchem.....	15
Tableau 4 : Caractéristiques de l'enzyme LIMK1	30
Tableau 5 : Pyr1 et ses similaires.....	32
Tableau 6 : Propriétés du Pyr1 et ses dérivés.....	34
Tableau 7 : Résultats des énergies des complexes 5NXC-ligands formés	35
Tableau8 : Résultats des énergies des complexes formés par 5NXC-Pyr1 et produits commercialisés.....	36
Tableau 9 : Distances entre les acides aminés qui forment le site actif de l'enzyme.....	37
Tableau 10 : Similaires de Pyr1 greffés.....	41

Liste des abréviations

LIMK : LIM Kinase

MOE: Molecular Operating Environment

CEA: Commissariat à l'Energie Atomique

CNRS: Centre National de Recherche Scientifique

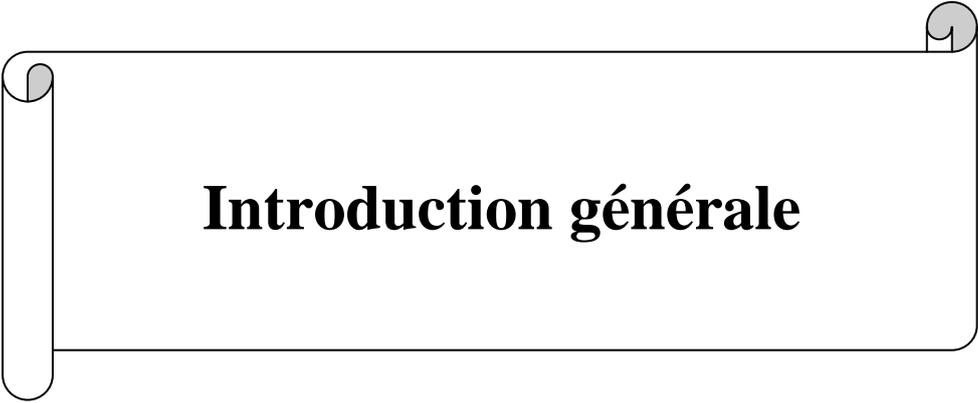
MM : Mécanique Moléculaire

PDB : Protéine Data Base

DMSO :Diméthyle sulfoxyde

PEG : Polyéthylène glycol

LNCaP:Lymph node Cancer of the Prostate



Introduction générale

Introduction générale

Les recherches sur le cancer ont débuté dès l'antiquité .Hippocrate, Celsus et Galien ont étudié des tumeurs et les stades de la maladie pour traiter leurs patients. Les phases d'évolution de la maladie sont très vite observées par les médecins de l'antiquité. La clinique sera pendant plusieurs centaines d'années la seule forme de recherche dans le domaine[1].

Un cancer est une pathologie caractérisée par la présence d'une (ou de plusieurs) tumeur(s)maligne(s) formée(s) à partir de la transformation par mutations et/ou instabilité génétique d'une cellule initialement normale. [2]

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, le cancer se définit comme « un grand groupe de maladies qui peuvent toucher n'importe quelle partie de l'organisme. L'une de ses caractéristiques est la prolifération rapide de cellules anormales qui peuvent essaimer dans d'autres organes, formant ce qu'on appelle des métastases ». [1]

Les cancers sont alors classés selon le type de la cellule dans laquelle s'est produite la première transformation (lymphomes, carcinomes, sarcomes). [2]

L'augmentation du fardeau du cancer est due à plusieurs facteurs, notamment la croissance démographique et le vieillissement, ainsi qu'à l'évolution de la prévalence de certaines causes de cancer associées au développement social et économique. [3]

Les enzymes sont des substances protéiques qui facilitent et accélèrent (« catalysent») les réactions biochimiques se produisant dans l'organisme. Une réaction qui, spontanément, demanderait des mois, se déroule en quelques fractions de seconde grâce aux enzymes.

L'origine des enzymes se confond avec l'apparition de la vie sur Terre. En effet, c'est la présence de ces catalyseurs biologiques qui a permis d'abaisser l'énergie des molécules participant à une réaction chimique, afin de rendre cette dernière possible dans des conditions compatibles avec la vie organique. Sans enzymes, la même réaction chimique demanderait un temps et une température élevée et, de ce fait, la vie serait tout simplement impossible. Les enzymes sont des substances qui rendent la vie possible.

Elles sont notamment indispensables pour digérer la nourriture, nettoyer le sang et les tissus, guérir les plaies, lutter contre les germes pathogènes et les cellules cancéreuses.

Un être humain ne peut être en bonne santé que si toutes les enzymes sont présentes en quantité suffisante et fonctionnent au mieux.

Parmi les enzymes on a choisi pour notre étude les kinases LIM (LIMK) : [4]

- Régulent l'architecture du cytosquelette de l'actine par phosphorylation,
- Inactive des facteurs de dépolymérisation de l'actine de la famille ADF/cofiline,
- Un régulateur essentiel de la dynamique de l'actine,

- Joue un rôle régulateur dans l'invasion des cellules tumorales

Il a été découvert et caractérisé une nouvelle molécule appelée Liminib (ou Pyr1) anticancéreuse et anti métastatique.[5]

Ces chercheurs ont testé l'efficacité thérapeutique de cette nouvelle molécule comme inhibiteur de la LIM kinase (enzyme surexprimée dans les cancers du sein) sur la croissance des tumeurs primaires et sur le développement de métastases dans cette forme de cancer.[6]

Avec l'arrivée des méthodes théoriques de calcul et des ressources de computation plus accessibles, la chimie par ordinateur est maintenant accueillie comme un outil de plus en plus utile à la fois pour le milieu académique et l'industrie [7]. Aujourd'hui, la modélisation moléculaire nous permet de traiter des systèmes à plusieurs atomes (molécules de solvant explicite pouvant atteindre des dizaines de milliers d'atomes, grandes surfaces moléculaires et protéines). De ce fait, un phénomène de compétition entre la taille des systèmes moléculaires et la puissance des superordinateurs est apparu [8].

La modélisation moléculaire est aujourd'hui mieux intégrée comme outil complémentaire. D'ailleurs, en 1998, le prix Nobel de chimie a été décerné à John. A. Pople et Walter Kohn pour leurs travaux dans les domaines de la chimie informatique et de la modélisation moléculaire [9].

La modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire (assemblage ou arrimage moléculaire) a rapidement investi le domaine de la recherche en biologie. Celui-ci peut être défini comme la recherche du meilleur appariement entre deux molécules. Le docking moléculaire a pour objectif essentiel de prédire la conformation (position et orientation relative) la plus favorable du ligand au sein de son récepteur [10], comme il peut servir à l'optimisation de molécules et au criblage de bases de données.

En pharmacie, la découverte et la mise au point de nouvelles substances médicamenteuses peuvent passer par le criblage de bases de données avec des millions de composés pour une même protéine cible, ce qui ne serait pas réalisable en biologie classique. En général, la cible est une protéine et le ligand peut être une petite molécule organique [11].

L'objet de ce travail est l'étude détaillée de méthodes de modélisation appliquées « Particulièrement le docking moléculaire », l'analyse des mécanismes de reconnaissance moléculaire et la conception de nouveaux composés bioactifs. La faisabilité et l'efficacité de ces méthodes seront démontrées par leur application.

Ce travail s'organise en 4 chapitres :

Dans le premier chapitre, nous avons effectué une recherche bibliographique sur le cancer, plus précisément le cancer du sein et la leucémie. Cette étude contient l'analyse statistique du cancer dans le monde et en Algérie.

Le deuxième chapitre comprend une étude sur l'enzyme « **LIM Kinase** » et son inhibiteur « **Pyr1** » qui est une nouvelle molécule anticancéreuse.

Dans le troisième chapitre, nous avons donné un aperçu sur les principales approches de la modélisation moléculaire :

-La mécanique moléculaire.

-La dynamique moléculaire.

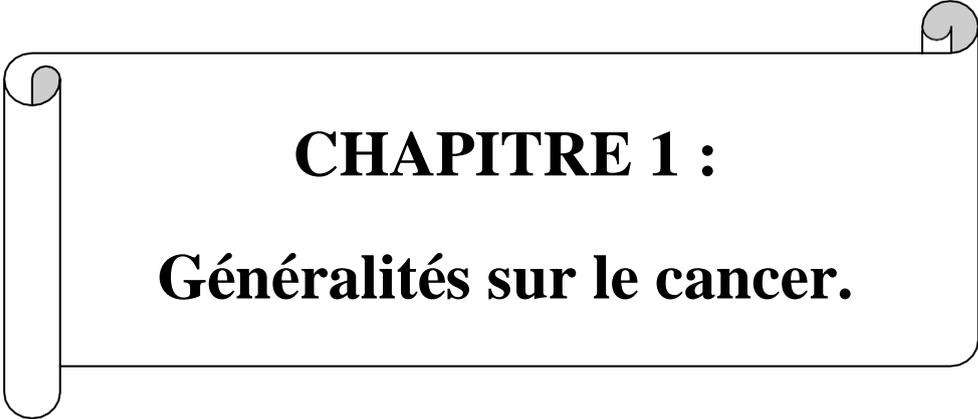
-Le docking moléculaire.

Le quatrième chapitre porte une description du matériel utilisé, la démarche expérimentale et une discussion des résultats obtenus, on se basant sur les énergies d'interactions et les distances entre certains groupements de la chaîne latérale des enzymes et celles des inhibiteurs. En utilisant dans cette étude le programme de docking moléculaire: MOE (Molecular Operating Environment).

La conclusion générale résume l'ensemble des approches réalisées et les perspectives que nous envisagerons dans l'avenir

Références

- [1] Favre, C. (2018). CHEMOTHERAPY-INDUCED ANEMIA Un exemple de prise en charge dans le cadre des soins oncologiques de support.
- [2] Habbour, N, N . Etude épidémiologique et Anatomopathologique du cancer du sein dans l'Ouest Algérien et recherche de quelques Facteurs de risques.
- [3] COMMUNIQUE DE PRESSE N° 26312 septembre 2018.
- [4] Scott RW, Olson MF. (2007). LIM kinases: function, regulation and association with human disease.
- [5] COMMUNIQUÉ DE PRESSE NATIONAL I PARIS I 28 AOÛT 2012.
- [6] Prunier, C. (2015). Evaluation de l'efficacité thérapeutique d'un nouvel inhibiteur des LIM Kinases " Pyr1 " dans le cancer du sein. Thèse de doctorat Grenoble , France
- [7] Debord , J. (2004) . Introduction à la modélisation moléculaire.
- [8] Van Gunsteren, W., Berendsen, H. J. C. Angew. (1990). Chem. Int. Ed. Engl.
- [9] D. Morgan. (1995). Principles of CD Kregulation. Nature.
- [10] Chikhi A. (2007). Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase – Substances antibactériennes a l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaire.
- [11] Oliveira E. B. (2009). Simulation moléculaire appliquée à l'acétylation de flavonoïdes catalysés par des lipases : influence des structures de la lipase et des flavonoïdes sur la régi sélectivité de la bio conversion.



CHAPITRE 1 :
Généralités sur le cancer.

1-Généralités sur le cancer :

1.1 Définition du cancer :

Le cancer (ou **tumeur maligne**) est une maladie caractérisée par une prolifération cellulaire anormale et anarchique des cellules au sein d'un tissu normal de l'organisme. Le cancer est un terme donné pour n'importe quelle maladie où certaines cellules du corps se détachent de la tumeur originelle d'une manière incontrôlée et sont transportées par voies sanguine et lymphatique vers des sites distants, pour y former **des métastases** (nouvelles tumeurs similaires aux tumeurs primitives) figure 1. [1,2]

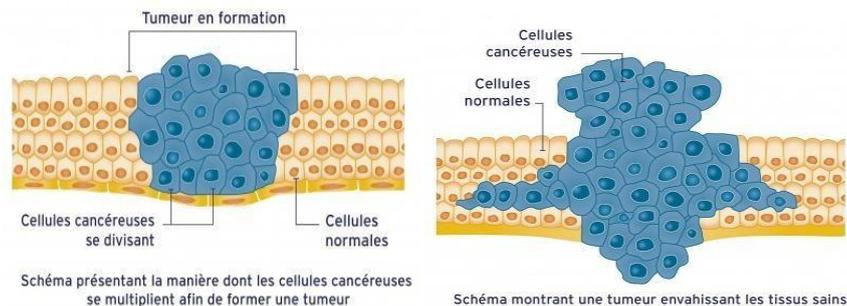


Figure 1: Schéma de développement des cellules cancéreuses. [3]

1.2 Les types de cancers:

On distingue plus de 200 types de cancers. Ils sont distribués en catégories :

a. Les cancers solides :

Ces tumeurs peuvent se multiplier dans n'importe quel tissu : os, muqueuses, peau, organe... Ils indiquent la majorité des cancers de l'être humain (90%).

Le terme « tumeur » (néoplasme ou néoplasie) désigne une augmentation de volume d'une partie du corps, causée par une multiplication anormale des cellules.

On distingue deux types de tumeurs :

- **Tumeurs bénignes** : Elles sont des tumeurs à développement local dont leur croissance est lente et elles peuvent atteindre un volume et un poids importants. Elles ne se renouvellent pas après une ablation chirurgicale, à condition que l'exérèse soit complète.
- **Tumeurs malignes** : Une croissance rapide des cellules avec une dislocation tumorale à distance (surtout par voie lymphatique et sanguine avec apparition et développement de tumeurs secondaires dans d'autres viscères : les métastases. Les tumeurs malignes ont tendance à récidiver après éradication locale. L'évolution, en dehors des traitements se fait spontanément vers la mort. Les métastases constituent le principal danger et la cause majeure de la mort des cancéreux.

On différencie deux types de tumeurs :

- **Les carcinomes** : ce sont des cellules cancéreuses qui se développent dans l'épithélium d'un organe du corps humain (peau, muqueuses et glandes). Ce type présente 80% des cas de cancers (cancer de sein, de l'intestin, du poumon, de la prostate, etc...).
- **Les sarcomes** : ce sont des cellules cancéreuses qui apparaissent dans un tissu de « soutien » (cancer de l'os, du cartilage, etc...)

a. Les cancers « liquide » ou sanguins :

- **Les cancers hématopoïétiques** : ce type de cancers concerne des cellules sanguines ou lymphatiques (leucémie et lymphome). Donc il existe 2 types de cancers liquides:
 - **les leucémies** sont des cancers du sang et de la moelle osseuse.
 - **les lymphomes** sont des cancers du système lymphatique : ganglions, rate, foie, etc. Les lymphomes simulent un type de globules blancs. Il existe 2 grands types de lymphome, hodgkinien et non hodgkinien

b. Les cancers neuro-ectodermiques :

Ils sont ceux qui se développent à partir des cellules nerveuses.

b. Les cancers « métastatiques »

Un cancer métastatique est une tumeur secondaire qui désigne la migration des cellules cancéreuses à travers le corps soit par la voie sanguine ou la voie lymphatique et se fixent dans autres organes. La nature d'un cancer est déterminée par son point de départ. [4 ,5]

1.3 Les stades de cancer :

En l'absence de traitement, la majorité des cancers (tumeurs dites « solides ») évoluent en suivant les mêmes étapes, mais à des vitesses très variables et selon des modalités propres à chaque type de cancer.

Une description par stade reposant sur l'étendue et le volume de la tumeur est parfois utilisée. Elle distingue quatre stades tableau 1 : [6]

Tableau 1 : Classification par stade des cancers (Héron, 2009) [1].

Stade	Description
Stade 0	Cancer in situ
Stade 1	Invasion très localisée, sans métastase à distance
Stade 2	Extension limitée localement et/ou atteinte ganglionnaire satellite minime
Stade 3	Atteinte locale importante et /ou atteinte ganglionnaire satellite majeur
Stade 4	Tumeur avancée localement et /ou métastases à distance

1.4 Traitement du cancer:

Le traitement du cancer est adapté en fonction de chaque situation. En effet, chaque patient atteint d'un cancer est un cas particulier et demande une prise en charge appropriée.

Le choix d'un traitement dépend de **plusieurs facteurs** .Les plus importants sont:

- le type de cancer
- le degré d'extension du cancer
- la présence éventuelle des autres maladies
- l'âge de la personne
- l'état général de la personne

Il existe **différents traitements du cancer** :

La chirurgie et la radiothérapie sont des traitements dits locaux, la chimiothérapie et l'hormonothérapie des traitements dits généraux. Ces traitements peuvent être plus ou moins associés. [7]

La détection précoce consiste à identifier les signes d'alerte dès leur apparition : ils varient d'un cancer à l'autre, mais il est important de savoir les reconnaître (toux persistante, présence de sang dans les selles, grosseur qui ne diminue pas...) et de consulter sans attendre.

Dans la majorité des cas, plus un cancer est soigné tôt, moins les traitements sont lourds et meilleures sont les chances de guérison.[6]

2-Leucémie:

La maladie est caractérisée par un surnombre de globules blancs anormaux. Selon la lignée de globules blancs anormaux (lymphoïdes ou myéloïdes), et selon le stade de différenciation au cours duquel les cellules sont devenues anormales, les leucémies prennent des formes variées. Leurs symptômes, leurs évolutions et leurs traitements sont donc différents. [8]

3-Cancer du sein :

Le **cancer du sein** est un ensemble de prolifération néoplasique de la glande mammaire. [9] Cette tumeur maligne est souvent agressive avec un potentiel métastatique élevé. [10] La majorité du cancer du sein prennent naissance dans les canaux galactophores. [11] En absence de traitement, les cellules cancéreuses prolifèrent et vont se disséminer. Donc, il est considéré comme la cause la plus fréquente de décès chez les femmes, et le cancer le plus diagnostiqué chez les femmes dans **140** sur **184** pays couverts par **GLOBOCAN** dans le monde. [11]

Le cancer du sein fait partie des désignations génétiques qui se réfèrent à l'ensemble du groupe de tumeurs des glandes mammaires qui diffère historiquement et en termes de leur comportement évolutif.

4-Le cancer dans le monde:

On estime que le fardeau mondial du cancer a aujourd'hui atteint 18,1 millions de nouveaux cas et 9,6 millions de décès en 2018. [6]. A l'échelle mondiale, le nombre total de personnes vivant avec un cancer dans les cinq ans suivant le diagnostic, appelé prévalence à cinq ans, est estimé à 43,8 millions figure 2,3.

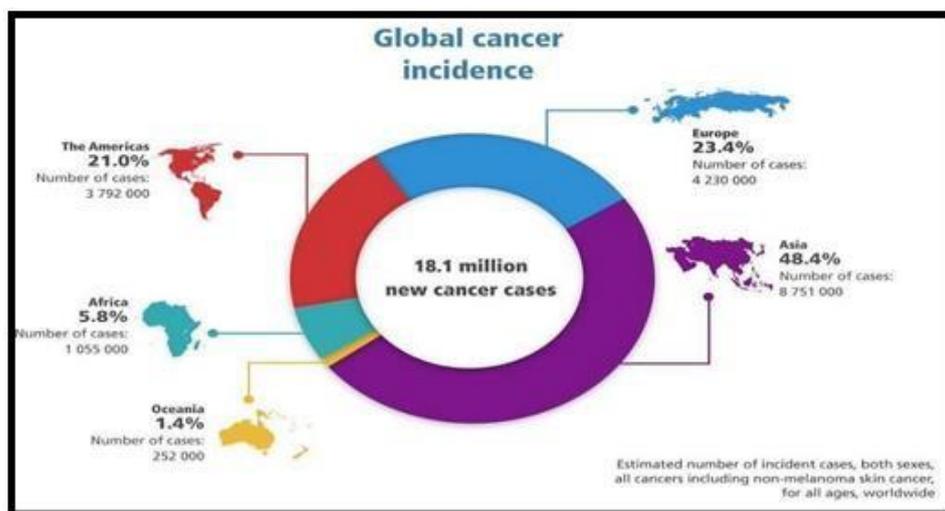


Figure 2:Incidence du cancer dans le monde en 2018. (source GLOBOCAN 2018)[6]

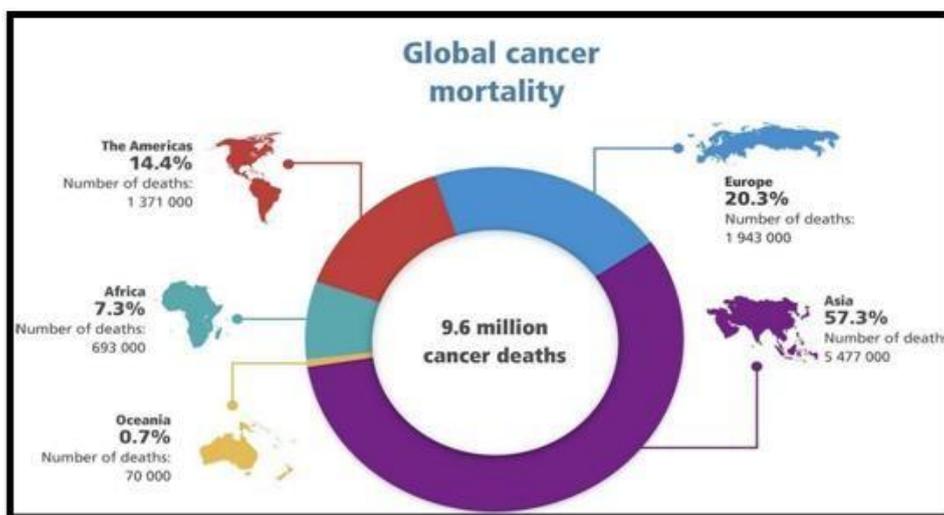


Figure 3: Mortalité par cancer dans le monde en 2018. (Source : GLOBOCAN 2018)[6]

L'augmentation du fardeau du cancer (Tableau 2) est due à plusieurs facteurs, notamment la croissance démographique et le vieillissement, ainsi qu'à l'évolution de la prévalence de certaines causes de cancer associées au développement social et économique. Cela est vrai dans les économies à croissance rapide, où l'on observe une évolution des cancers liés à la pauvreté et aux infections vers des cancers associés aux modes de vie plus typiques des pays industrialisés. [12]

Tableau 2 : Fardeau mondial du cancer année 2018. [12]

Continent	Europe	Afrique	Asie	Amérique
Cas du cancer	23,4%	5,8%	48,4%	21%
Décès	20,3%	7,3%	57,3%	14,4%

5-Cancer en Algérie:

Au cours des 25 dernières années, l'Algérie a connu une augmentation de l'incidence des principaux types de cancers ont été observés chez les deux sexes. En outre, le taux de survie à 5 ans est faible pour les tumeurs graves en raison d'une difficulté d'accès aux soins du cancer et d'un cadre de soins de santé incomplet[6].

Depuis son indépendance, l'Algérie a déployé d'énormes efforts pour la promotion et la défense de la santé notamment ces quinze dernières années dans le domaine

du cancer. Sur le plan des moyens, l'Algérie a ainsi investi dans la lutte contre le cancer de grandes ressources en financements, infrastructures, équipements et moyens humains [6].

Aujourd'hui, il s'agit pour nous, à travers le « Plan National Cancer 2015-2019 », d'impulser un nouvel élan porteur d'une vision stratégique renouvelée centrée sur le malade [13].

Ce plan a comme principal objectif, la réduction de la mortalité des patients par cancer et l'amélioration de la démarche préventive contre les facteurs de risque et de la qualité de vie pendant et après le traitement, dans le cadre de la sauvegarde de la stricte équité dans l'accès aux soins pour tous les Algériens. [6]

Les spécialistes indiquent que cette maladie pourrait connaître une progression constante dans les 10 prochaines années. En chiffres, plus de 50000 nouveaux cas de cancer par an sont attendus à partir de 2025.[6]

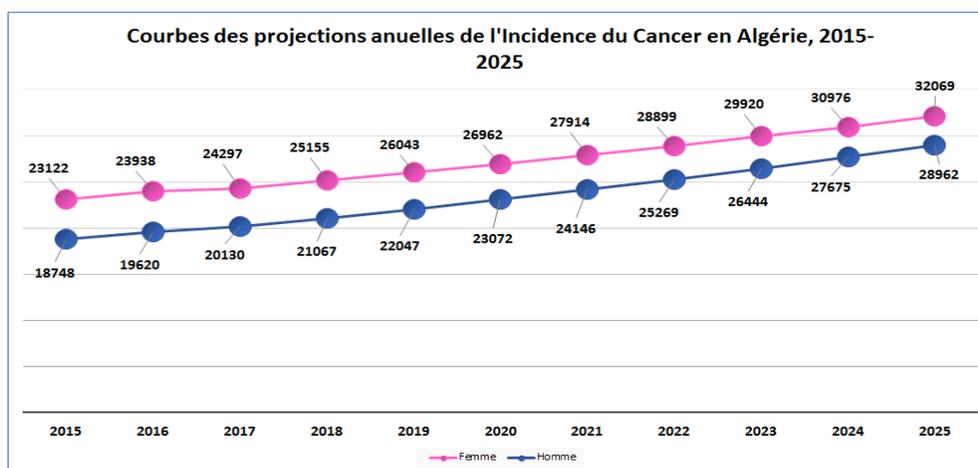
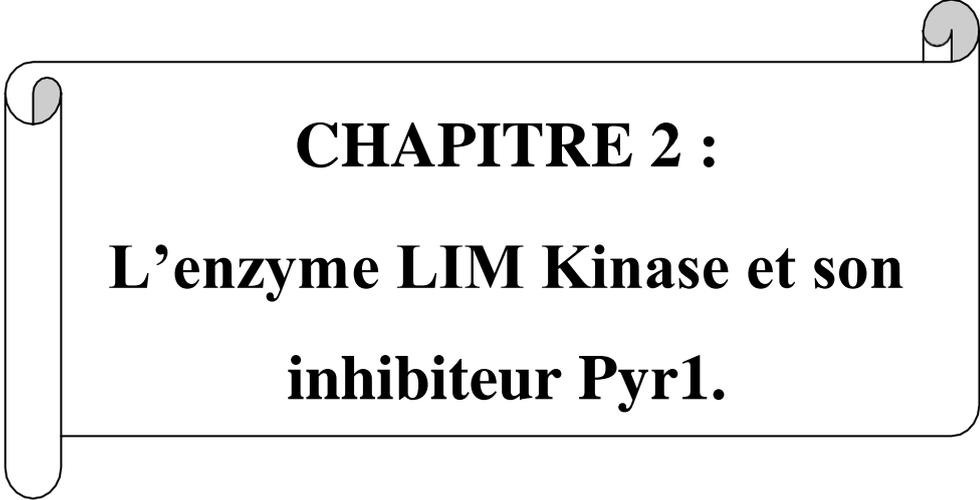


Figure 4 : Projections de l'incidence du cancer en Algérie 2015- 2025 [10]

Références

- [1] MANSOURI, B. (2016). Caractérisation épidémio- génétique de la population de Tlemcen par le cancer du col de l'utérus. Mémoire de MASTER. Université de Tlemcen.
- [2] Moreau, D. (2006). Étude de nouvelles cibles moléculaires de cancer bronchopulmonaire non à petites cellules pharmacomodulées par des substances originales naturelles et synthétiques. Thèse de DOCTORAT. Université de Nantes.
- [3]<https://www.medisite.fr/cancer-boules-sous-la-peau-un-signe-de-cancer.5532469.46.html?page=2>
- [4]<https://www.cancer.be/le-cancer/jeunes-et-cancer/les-cancers/les-types-de-cancers>
- [5]<https://cancer.ooreka.fr/comprendre/type-cancer>
- [6] GHRIEB, S., MEBARKI, F. (2019). Etat des lieux du plan cancer en Algérie 2014- 2019. Thèse de DOCTORAT en pharmacie. Université de Blida 1
- [7]<https://www.cancer.be/le-cancer/traitements-du-cancer>
- [8]<https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=leucemie>
- [9] Hachana, M.R. (2009). Contribution à l'étude de l'implication des virus et évaluation de leur valeur pronostique dans le cancer du sein de la femme dans la région du centre tunisien. Thèse de DOCTORAT. Université de Monastir.
- [10] MELLES AKHRI, S. (2015). Chimiothérapie néoadjuvante associée à l'acide zoledronique dans le cancer du sein localement avancé. Thèse de DOCTORAT. Université de Tizi Ouzou.
- [11] RAZALI, S. (2018). Cancer du sein Suivi d'une population sous chimiothérapie. Mémoire de MASTER. Université de Mostaganem.
- [12] Communiqué de presse N° 263 12 septembre 2018. IARC 2018.
- [13] Zitouni M, Amoukrane, Cherf-Bouzida. (2014). Plan national cancer 2015-2019: nouvelle vision stratégique centrée sur le malade, Algérie.



CHAPITRE 2 :
L'enzyme LIM Kinase et son
inhibiteur Pyr1.

1-Famille des LIM Kinases:

La famille des LIM Kinases (**LIMKs**) est composée de deux homologues: la LIM Kinase1 (**LIMK1**) et la LIM Kinase 2 (**LIMK2**). Découvertes dans les années **1990**, les LIMKs sont exprimées dans tous les tissus avec une localisation à la fois cytoplasmique et nucléaire dans les cellules épithéliales. La LIM Kinase (**LIMK**) contrôle deux structures polyvalentes et plastiques des cellules, le réseau des filaments d'actine et les microtubules. Quand la LIMK est inhibée, le réseau d'actine est désorganisé et les microtubules sont stabilisés. Les cancers invasifs, notamment les cancers du sein, produisent beaucoup plus de LIM Kinase (LIMK) que les cellules normales.[1]

F. Manetti, en 2012, présente les LIMKs comme des cibles thérapeutiques attrayantes dans le traitement du cancer avec de nombreux partenaires moléculaires mais très peu de molécules inhibitrices disponibles.

Cependant, des différences d'expression sont à noter entre LIMK1 et LIMK2 dans certains organes tels que le testicule, ce qui suggère des fonctions cellulaires spécifiques propres à chacune. D'un point de vue structural, ces deux protéines sont composées de deux domaines LIM situés en position N-terminale, d'un domaine PDZ connecté à une région riche en proline et serine, et d'un domaine catalytique situé en position C-terminale. Les LIMKs sont les seules protéines à domaines LIM ayant une activité catalytique.

Cette capacité a régulé deux des principaux composants du cytosquelette cellulaire, fait des LIMKs des cibles stratégiques pour le contrôle des processus de division ou de migration cellulaire.

Ainsi, depuis leur découvertes, l'intérêt pour les LIMKs ne cesse d'augmenter et particulièrement dans le domaine du cancer.

Les domaines LIMK sont des sites d'interactions avec d'autres protéines ou avec des complexes macromoléculaires. Ils sont composés de séquences riches en résidus cystéine et histidine qui ont la capacité de complexer un atome de Zinc. Les domaines LIM des LIMKs jouent un rôle important dans la régulation de l'activité kinase et contribuent à la fonction de cette dernière via l'interaction avec d'autres protéines.

L'inhibition de l'expression de LIMK1 par des ARN interférences restaure la dynamique des microtubules et démontre qu'il existe un lien entre l'expression de LIMK1 et la dynamique des microtubules.[1]

Les travaux de C.PRUNIER ont permis d'analyser l'effet anticancéreux d'un nouvel inhibiteur des LIMKs, «Pyr1 », dans le cancer du sein. Ils ont observé que Pyr1 avait

un effet thérapeutique sur la croissance des tumeurs primaires ainsi que sur la croissance des métastases issues de cancers du sein invasifs. Le composé est bien toléré et il est efficace sur des modèles résistants aux taxanes. Les résultats de leurs travaux contribuent à montrer que les inhibiteurs de LIMKs tels que Pyr1, représentent une alternative pharmacologique dans le traitement des cancers:

- Du sein résistant aux taxanes ainsi que sur la croissance des métastases.
- Induit une stabilisation des microtubules dans des cellules de cancer du col de l'utérus.

En effet, les paramètres d'instabilité dynamique ainsi que la capacité à générer des microtubules stables en présence de Pyr1 sont affectés par le composé et sont semblables à ceux que l'on pourrait observer en présence d'agents stabilisateurs des microtubules tels que les taxanes.

Le Pyr1 ne se fixe pas directement sur les microtubules, indiquant que l'effet de Pyr1 observé n'est pas due à une interaction directe avec les microtubules.

Des résultats similaires ont été récemment observés par l'équipe de MF. Olson dans des cellules de cancer de la prostate (LNCaP), en utilisant LIMKi. En 2010, la même équipe a montré qu'une inhibition par siRNA des LIMKs perturbe l'activité de dégradation de la matrice par les cellules de cancer du sein MDA-MB-231 [2] et la formation des invadosomes.

2- L'inhibiteur « Pyr1 »:

Une nouvelle molécule (figure5) aux propriétés anticancéreuses et anti-métastatiques vient d'être découverte par des équipes du CNRS, du CEA, de l'Institut Curie et de l'Inserm, en collaboration avec des chercheurs australiens et anglais.

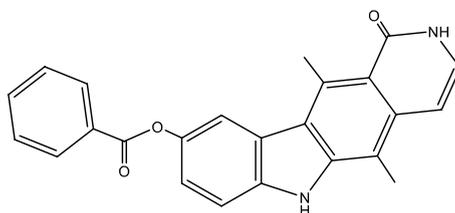


Figure5 :Liminib (ou Pyr1) [5,11-Dimethyl-1-oxo-2,6-dihydro-1*H*-pyrido [4,3-*b*] carbazol-9-yl benzoate]

Cette molécule anticancéreuse agit sur les cellules résistantes aux chimiothérapies conventionnelles grâce à un mécanisme d'action entièrement nouveau. Celui-ci, cible non seulement la multiplication des cellules mais également leur mobilité et empêcherait ainsi la formation de métastases. Le « pyr1 »(Liminib) a été obtenue par criblage d'une collection de 15000 molécules, elle a été synthétisée par C-H Nguyen de l'Institut Curie, France. [1]

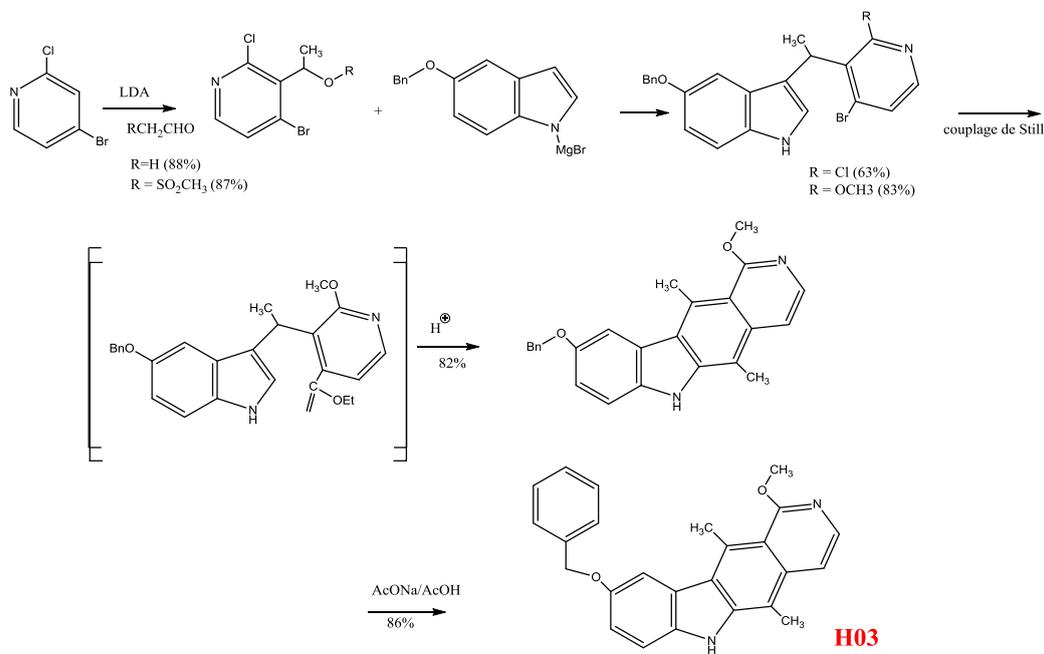


Figure 6 : synthèse des nouveaux analogues diversement substitués sur le C-5

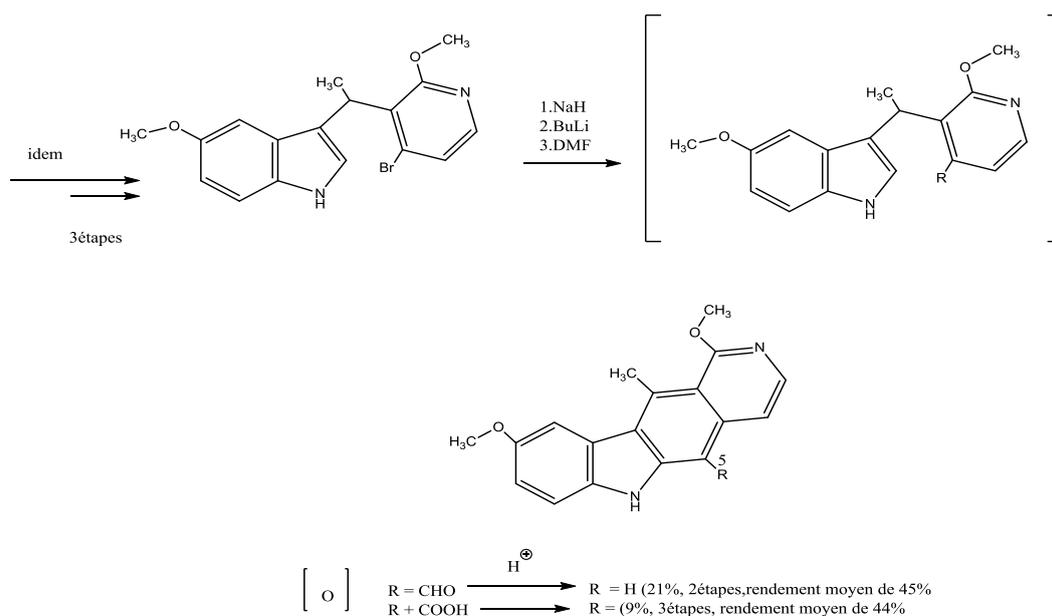
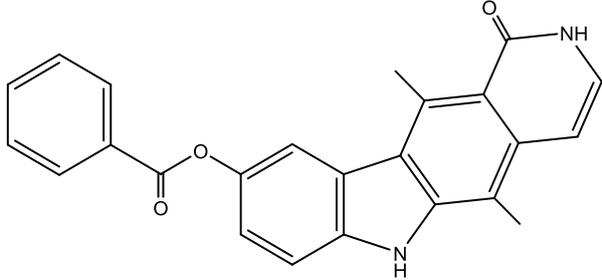
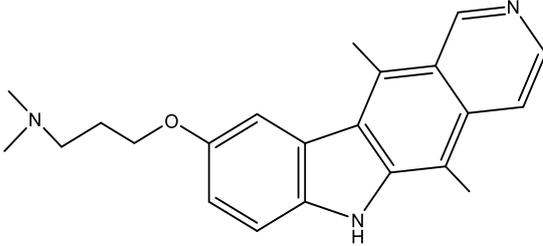
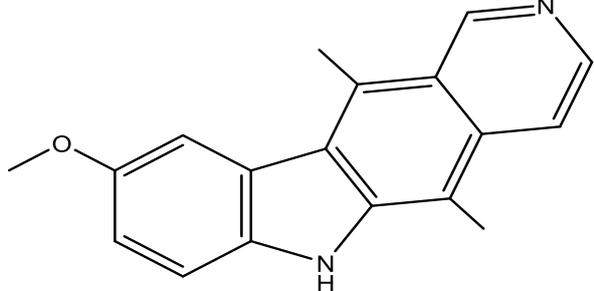
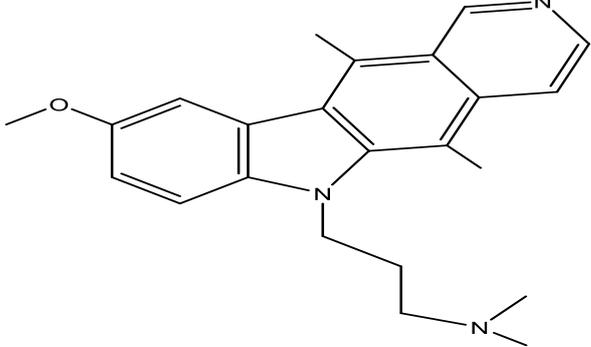
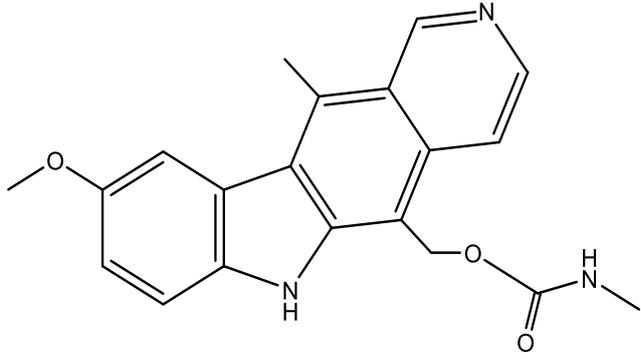
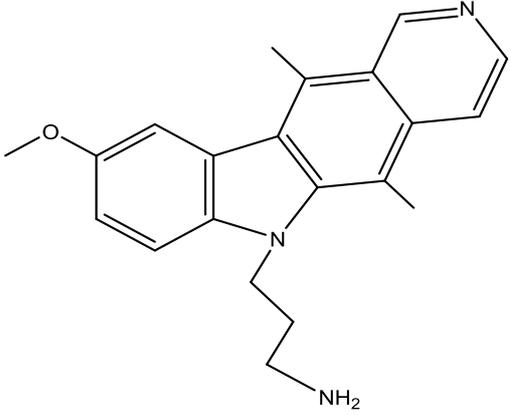


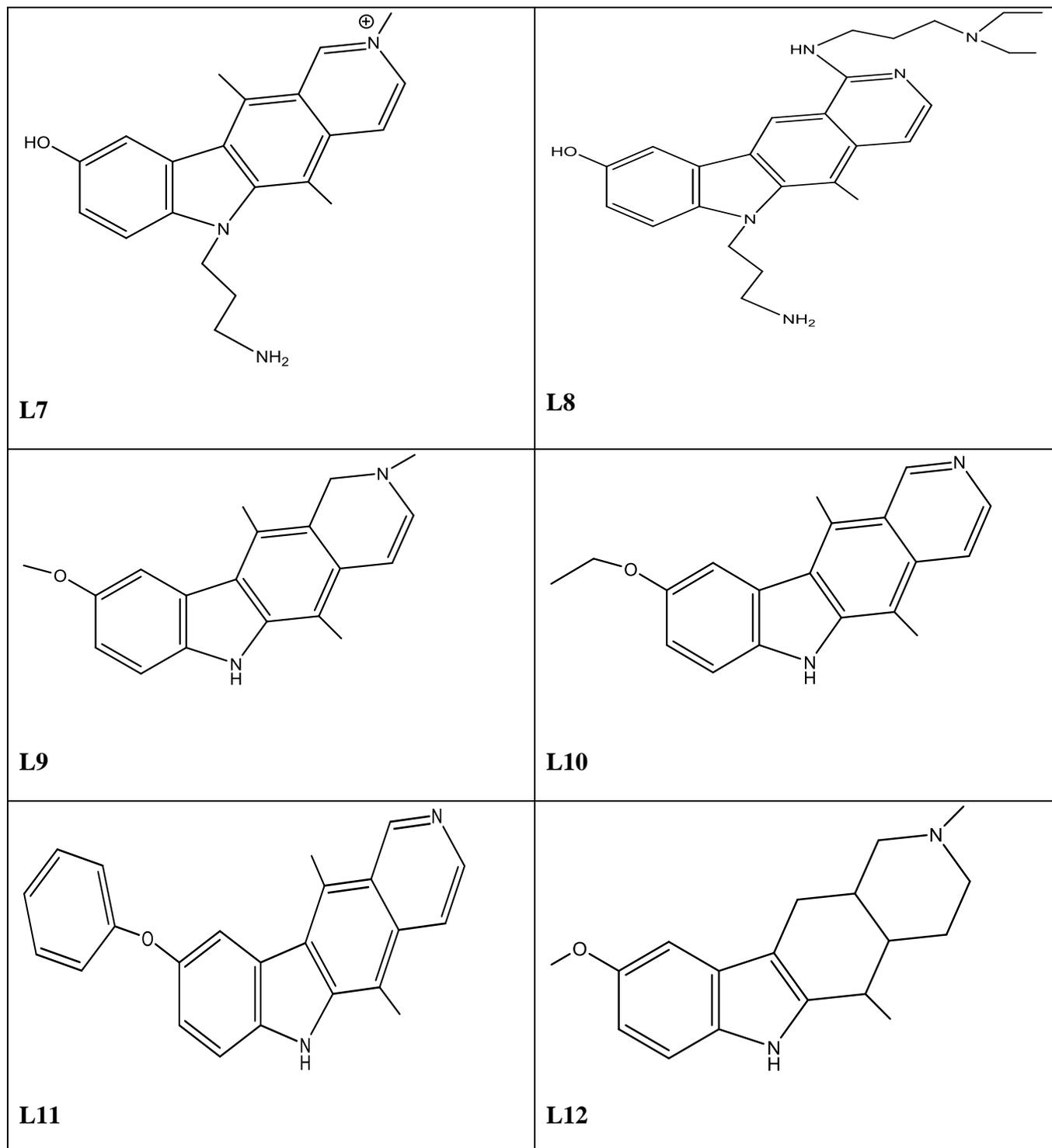
Figure7 : Synthétise de Pyr1(Liminib) par C-H Nguyen

Notre travail est basé sur une étude de l'interaction entre Liminib (ou Pyr1) et les composés similaires qu'on été téléchargé à partir de la base de donnée Pubchem avec l'enzyme LIMKinase (LIMK).

Les calculs des énergies et des distances entre les acides aminés du site actif de l'enzyme et les inhibiteurs seront effectués à l'aide du programme Molecular Operating Environment (MOE). Le complexe formé inhibiteur-enzyme possédant l'énergie la plus faible sera probablement le meilleur inhibiteur.

Tableau 3 : Similaires de Pyr 1 téléchargés à partir de Pubchem.

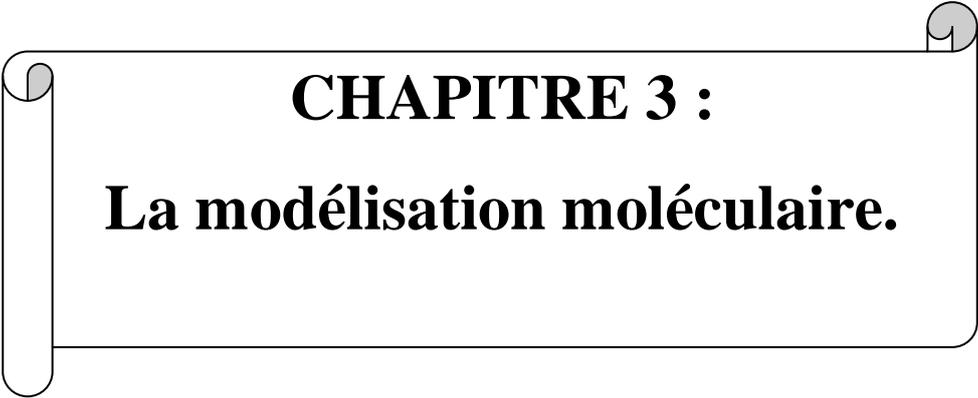
 <p>L1</p>	 <p>L2</p>
 <p>L3</p>	 <p>L4</p>
 <p>L5</p>	 <p>L6</p>



Références

[1]Prunier,C.(2015).Evaluation de l'efficacité thérapeutique d'un nouvel inhibiteur des LIM Kinases " Pyr1 " dans le cancer du sein .

[2]Scott, R. W. et al. LIM kinases are required for invasive path generation by tumor and tumor-associated stromal cells. *J. CellBiol.* 191, 169–185 (2010).



CHAPITRE 3 :
La modélisation moléculaire.

1.1. Introduction à la modélisation moléculaire :

La modélisation est un nouvel outil de travail qui regroupe des méthodes de graphisme moléculaire et de chimie computationnelle qui permettent de dessiner, afficher, stocker [1-2] et préciser, à partir des calculs, la position des atomes qui constituent dans l'espace et de calculer l'énergie potentielle des molécules organiques. [3]

Dès 1950, l'outil informatique a été mis en œuvre dans le domaine chimique dans le but de modéliser les structures les plus complexes de manière plus rigoureuse et réaliste. [3] En 1998, le prix Nobel de chimie a été donné à **John. A. Pople** et **Walter Kohn** pour leurs travaux dans les domaines de la chimie informatique et de la modélisation moléculaire. [4]

1.2. Les objectifs de la modélisation moléculaire :

Les objectifs de la modélisation moléculaire sont principalement :

- ✓ Présentation infographique et dessin des molécules à partir des données structurales et par l'utilisation d'un système informatique.
- ✓ Emploi des banques de données pour identifier les systèmes moléculaires.
- ✓ Avoir des informations sur les mouvements dynamiques des molécules et sur leurs énergies.
- ✓ Calcul du champ de force empirique pour déterminer les propriétés moléculaires et les distances interatomiques.
- ✓ Corrélation entre propriété et structure moléculaire donnée.
- ✓ Évaluation de la validité d'une structure moléculaire.
- ✓ Reproduction qualitative des propriétés des molécules et des macromolécules.
- ✓ Application de la représentation infographique à la reconnaissance des molécules issues de chimie organique, bio-organique et médicale ou de la science des matériaux. [4]

La modélisation moléculaire est une application des méthodes théoriques et des méthodes de calcul pour résoudre des problèmes. Ces méthodes peuvent être simples et utilisables rapidement ou elles peuvent être extrêmement complexes. [2]

Elle décrit le comportement électronique des atomes et des molécules pour expliquer leurs réactivités, comprendre les processus de repliement d'une protéine ou expliquer l'importance de certains acides aminés d'un site catalytique enzymatique. [5]

Une représentation «la plus proche possible de la réalité » correspondra à une structure de plus basse énergie. [3]

1.3. Méthodes de la modélisation moléculaire

On classe les méthodes actuelles de calcul en plusieurs catégories selon le niveau de théorie qu'elles utilisent ou bien selon le type de calcul qu'elles réalisent. [1]

Les méthodes de la modélisation moléculaire peuvent être rangées en deux grandes catégories [6]:

- ✓ Les méthodes quantiques.
- ✓ Les méthodes non quantiques.

1.3.1 Les méthodes quantiques :

La mécanique quantique est la suite de la théorie des quantas, issue des travaux de **Planck**, de leur interprétation par **Einstein** et de leur application à la théorie atomique par **Bohr** et **Sommerfeld**. Elle explique la quantification de certaines grandeurs (énergie, moment cinétique) et fait émerger le principe d'exclusion de **Pauli**. La nouvelle conception des particules qui découle de la dualité onde-corpuscule, explicitée dans les travaux de **De Broglie** (1923) conduit à la mécanique ondulatoire.

Les méthodes de la mécanique quantique impliquent des temps de calcul souvent élevés qui limitent leur usage à des petites molécules ou nécessitent le recours à de nombreuses approximations. Elles sont adaptées au calcul des charges et des potentiels électrostatiques, à l'approche des mécanismes réactionnels ou à la polarisabilité.

L'objectif de la mécanique quantique est la détermination d'énergie et la distribution électronique.

La chimie quantique définit la structure moléculaire comme un noyau autour duquel gravitent des électrons, qui sont décrits par leur probabilité de présence en un point et représentés par des orbitales [7].

L'état d'un système est défini à l'aide de la résolution de l'équation de **SCHRUDINGER** qui s'écrit pour les états stationnaires :

$$\mathbf{H} \Psi = E \Psi$$

Où:

Ψ : Fonction d'onde de la molécule.

\mathbf{H} : Hamiltonien total d'une molécule comportant \mathbf{N} noyaux et \mathbf{n} électrons.

E : Energie totale d'une molécule. [6]

La résolution exacte de cette équation n'est possible que pour l'atome d'hydrogène et les systèmes mono-électroniques. Pour les systèmes poly électroniques, on fait appel aux méthodes d'approximation, pour la résolution approchée de l'équation de **SCHRODINGER**.

A-Méthodes *ab-initio* (Hartree- Fock- Roothann):

Les méthodes *ab-initio* sont des méthodes non empiriques, toutes les intégrales sont calculées rigoureusement et il n'y a pas d'approximations à faire sauf celle de **Born Oppenheimer** et l'approximation **CLOA**.

Dans les méthodes *ab-initio*, toutes les particules (noyaux et électrons) sont traitées explicitement. On n'utilise aucun paramètre empirique dans le calcul de l'énergie.

B- Méthodes semi-empiriques :

Pour réduire le temps de calcul, il est nécessaire de simplifier les équations de **Roothann**. Une méthode semi-empirique est une méthode dans laquelle une partie des calculs nécessaires aux calculs **Hartree-Fock** est remplacée par des paramètres ajustés sur des valeurs expérimentales. En général, toutes ces méthodes sont très précises pour des familles de produits donnés voisines de celles utilisés pour la paramétrisation.

Les méthodes semi empiriques ne considèrent que les électrons de la couche de valence, les électrons des couches internes sont inclus.[7]

1.3.2 Les méthodes non quantiques :

1-Mécanique moléculaire :

La mécanique moléculaire (MM) est une méthode de calcul qui permet d'obtenir des résultats de géométrie d'énergies moléculaires en se basant sur la mécanique classique.

La mécanique moléculaire décrit les molécules en fonction de leurs noyaux et non pas de leurs électrons [11]. Elle est apparue en 1930, mais s'est développée à partir des années soixante, quand les ordinateurs furent plus accessibles et plus performants.

Cette méthode permet de minimiser l'énergie pour obtenir des conformations à basse énergie de notre système moléculaire et de réduire des forces initiales trop grandes qui finissent à une trajectoire aberrante.

La mécanique moléculaire utilise les approximations suivantes :

- Chaque atome constitue une particule.
- L'atome est considéré comme une sphère rigide ayant un rayon et une charge déterminés.
- Les liaisons sont assimilées à des ressorts.
- Les énergies sont calculées par des formules dérivées de la mécanique classique. [2]

Le but de la mécanique moléculaire est d'établir, par le choix des fonctions énergétiques et des paramètres qu'elles contiennent, un modèle mathématique, le « CHAMP DE FORCE », qui représente aussi bien que possible les variations de l'énergie potentielle avec la géométrie moléculaire. [2]

a. Champ de force :

Le champ de force est un modèle mathématique qui représente l'énergie potentielle d'une molécule en mécanique moléculaire.[8]

L'ensemble de trois concepts importants qui forment le champ de force :

- ✓ La forme analytique du potentiel.
- ✓ Le jeu de paramètres.
- ✓ Les types d'atomes.

Chaque champ de force a un domaine d'application différent. La configuration d'une molécule pouvait s'exprimer en fonction des longueurs de liaisons, angles et angles dièdres.

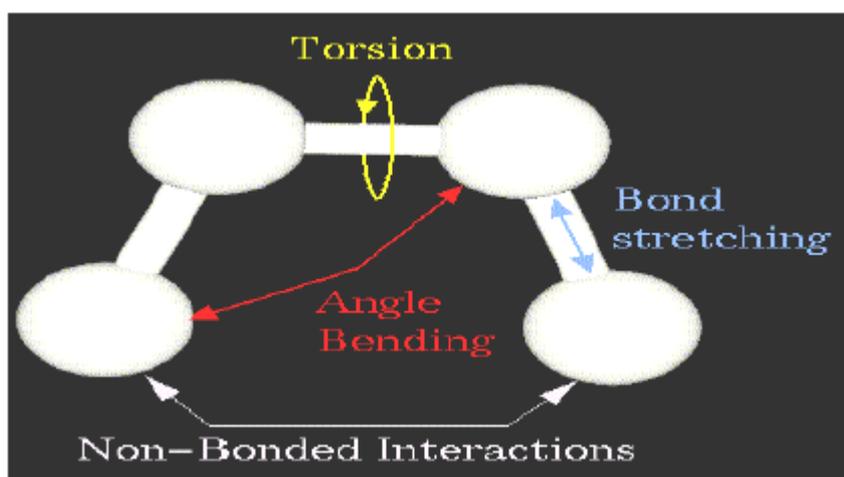


Figure8 : mécanique moléculaire

Le développement limité du potentiel pourra se faire selon ces trois types de coordonnées internes. Il faudra ajouter des termes non liés à ces termes liés pour tenir compte des interactions de types électrostatiques. [6]L'énergie potentielle totale peut être considérée comme la somme de plusieurs contributions :[5]

$$E_{Total} = E_{liés} + E_{non\ liés}$$

$$E_{Total} = E_{liaisons} + E_{angles} + E_{dièdres} + E_{impropres} + E_{vdW} + E_{elec} + E_{liaisonH}$$

b. Les principaux champs de force en mécanique moléculaire :

Divers champs de force utilisent le même type d'énergie mais avec des paramètres différents.

Les principaux les plus utilisés sont :[6]

-MM2/MM3/MM4 :

MM2 est le premier champ de force développé par **Allinger et Col.** Il a été conçu au début pour les molécules simples, mais ses versions améliorées MM3 (1989) et MM4 (1996) traitent des molécules organiques de plus en plus complexes. [2]

- OPLS :

Le programme OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations), décrit par **W. L Jorgensen et J. Tirado Rives**, est conçu pour optimiser le potentiel qui permet la description des propriétés de solvation. [2]

- GROMOS :

(Groningen Molecular Simulation Program Package), est décrit par **Van Gunsteren** est conçu spécialement pour les biomolécules en milieu aqueux en vue de l'étude des interactions entre les molécules d'eau et les groupements polaires des protéines. [2]

-CHARMM :(Chemistry at harvard using molecular mechanics)

Champ de force de mécanique moléculaire pour la modélisation moléculaire et l'étude dynamique des protéines [13], des acides aminés et des lipides.[12]

-CHARM (Bio+) : décrit par **Karplus et Col.**, pour le calcul de biomolécules. Son concept est semblable à celui d'**AMBER**. Bien qu'au début, ce champ de force était conçu pour les aminoacides et les protéines, maintenant il traite d'autres biomolécules. [3]

-EMO :

Le programme EMO (Energy Of Molecule), est développé par **B. Blaive**, il est basé sur le champ de force MM2. Il est articulé autour de trois menus :

Menu 1 : entrée de la molécule à l'aide d'un clavier.

Menu 2 : manipulation géométrique sur la molécule.

Menu 3 : minimisation de l'énergie par mécanique moléculaire.[9]

-AMBER:

(Assisted Model Building with Energy Refinement), écrit par **Kollman**.

Le champ est paramétré pour les protéines et les acides nucléiques (UCSF, 1994). Il a été utilisé pour les polymères et pour d'autres petites molécules. Dans le cadre de ce travail, nous utiliserons ce champ de force, puisque on va traiter des protéines.

-SPASIBA :

(Spectroscopic Potential Algorithm for Simulating biomolecular conformational Adaptability), élaboré par **Gérard Vergoten et col.** Il permet de trouver les structures, les énergies de conformation et les fréquences vibrationnelles au minimum énergétique d'une molécule. [2]

-ECEPP :

(Empirical conformational energy program of peptides)[14]

2-Dynamique moléculaire :

A partir des lois de la mécanique classique, la dynamique moléculaire simule les trajectoires des atomes en phase cristalline, en solution ou en phase gazeuse. [2]

Les simulations de la dynamique moléculaire consistent à calculer les positions et les vitesses d'un système d'atomes.[6]

Contrairement à la mécanique moléculaire, la dynamique moléculaire produit des conformations qui dépendent moins de la structure initiale. [9]

Le calcul de la dynamique moléculaire se compose de quatre phases différentes :

- **Initialisation :** La géométrie de départ utilisée résulte d'une structure établie expérimentalement lorsque c'est possible, sinon elle est générée à partir du champ de force utilisé. L'énergie du système est minimisée pour éliminer toutes les interactions défavorables pour ne pas perturber la simulation. Il faut injecter de l'énergie cinétique aux noyaux avec des vitesses initiales attribuées selon la statistique de Boltzmann.[12]
- **Thermalisation :** C'est le chauffage de système pour l'amener à la température souhaitée. On utilise comme structure initiale la structure minimisée. Une montée en température demande 2 à 10ps de simulation.
- **Equilibration :** C'est une phase où on stabilise la température du système. Il y a un échange important entre l'énergie potentielle et l'énergie cinétique. Cette étape peut durer entre 10 et 20ps. La température est calculée après chaque étape et ramenée à la température de référence par la formule :

$$\frac{dT}{dt} = \tau^{-1}(T_0 - T)$$

Avec :

τ : Temps de relaxation, la valeur doit être assez petite pour permettre un couplage efficace (généralement égale à 10ps).

T_0 : température de référence.

T : température du système.

- **Dynamique ou production** : C'est la phase exploitable qui dure en moyenne de 60 à 100ps. Au cours de laquelle les conformations sont sauvegardées toutes les 0.05 ou 0.1ps. [6]

3- Docking moléculaire :

Les interactions protéine-ligand et protéine-protéine ont un rôle dans les fonctions biologiques. Elles permettent la régulation de certains processus biologiques, la transmission des signaux et la catalyse de diverses réactions biochimiques. [6]

Le but du Docking moléculaire est la détermination du mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur selon le mode « clé-serrure ». [2]

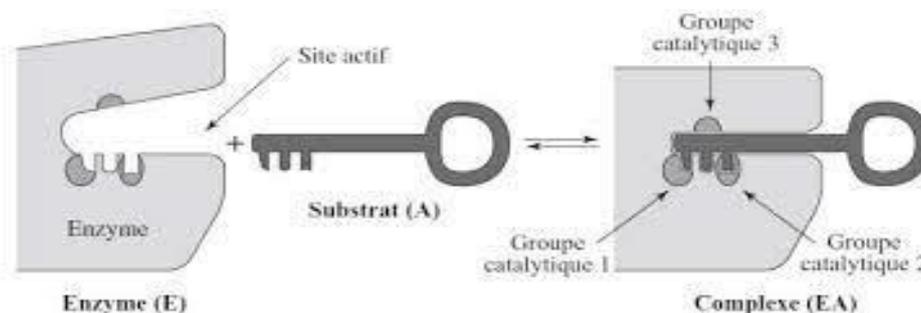


Figure 9: Principe général du programme de docking. [16]

Il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de Docking) et d'une petite molécule (ligand). [4]

Les méthodes de « Docking moléculaire » peuvent être décomposées en trois étapes :

- ❖ Caractérisation du récepteur et l'identification du site de fixation.
- ❖ L'orientation du ligand dans le site de récepteur.
- ❖ L'évaluation de l'orientation du ligand et de son adéquation au récepteur. [10]

Le Docking moléculaire permet aussi :

- soit de découvrir de nouvelles molécules,
 - soit de comprendre la nature d'un complexe de molécule obtenu par cristallographie.
- [6]

Le Docking comprend deux étapes :

- ✓ **Le Docking** : Le Docking moléculaire rigide est l'étape de sélection qui consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéine-ligand en considérant que chacune des

deux molécules conserve une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité, en interaction dans le complexe, n'est pas prise en compte. Cependant, il est tout à fait clair que les structures de la protéine et du ligand soient modifiées durant le processus de Docking moléculaire afin d'optimiser au mieux l'interaction entre les deux entités. On parle, dans ce cas, de Docking moléculaire flexible.

- ✓ **Le scoring** : c'est l'étape de classement, elle consiste à estimer la similitude entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de Docking. Ce score conduira aux choix de la meilleure pose parmi toutes celles présentées. [6]

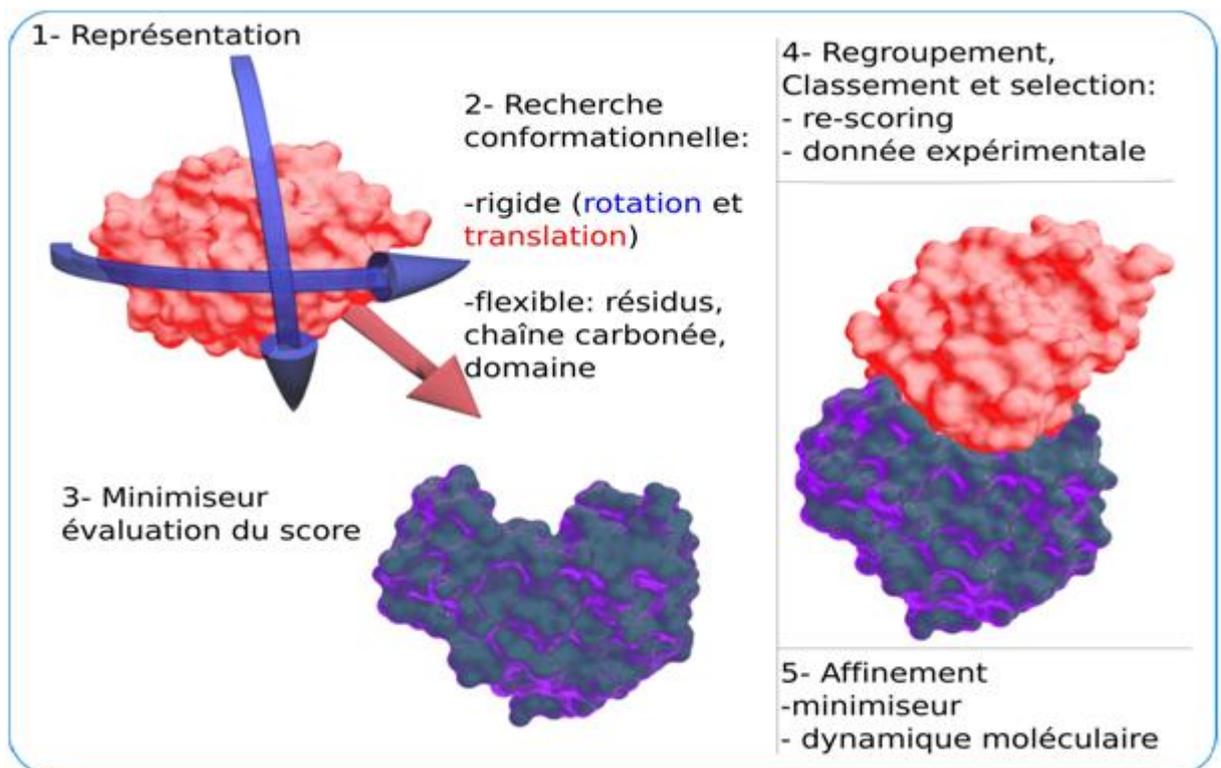


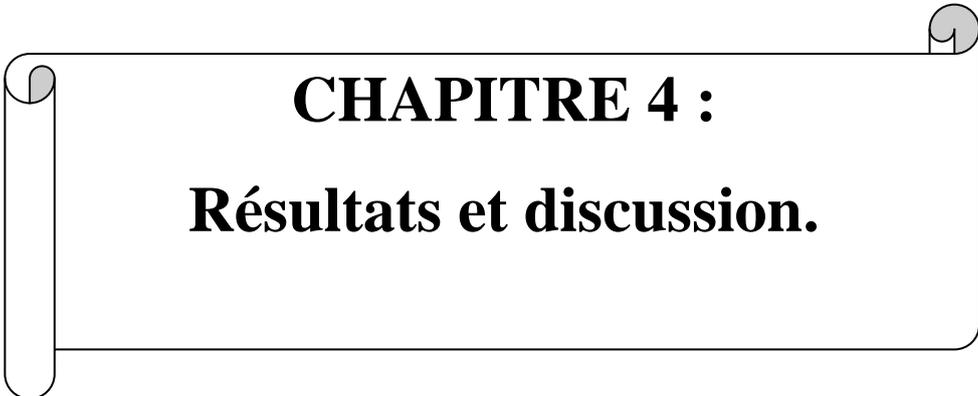
Figure10 : Protocole général de docking (Férey N et coll,2008)

Références

- [1] ABDELLI, I. (2012). Etude de la Structure de la β -Secretase et de ses Interactions avec des inhibiteurs par Modélisation Moléculaire : cas de la Maladie d'Alzheimer. Thèse de DOCTORAT. Université de Tlemcen.
- [2] MISSOUM, N. (2009). Modélisation de l'interaction enzyme-substrat. Mémoire de MASTER. Université de Tlemcen.
- [3] LEBBAD, F. (2011). Contribution à l'étude de la stabilité des complexes de « métaux-pyrazoles » par modélisation moléculaire. Mémoire de MAGISTER. Université de Tlemcen.
- [4] AYACHI, H. (2017). Compréhension du mécanisme enzyme-substrat par modélisation moléculaire : Cas du diabète de type 2. Thèse de DOCTORAT. Université de Tlemcen.
- [5] KHEBICHAT, N. (2014). Analyse conformationnelle des macromolécules biologiques. Thèse de DOCTORAT. Université de Tlemcen.
- [6] HADDAM, F. (2018). Modélisation des modalités d'interaction de la glycoprotéine ZP3 et contraception.. Mémoire de MASTER. Université de Tlemcen.
- [7] SOUFI-LALOUT, W. (2010). Etude de l'interaction enzyme-substrat par modélisation moléculaire. Mémoire de MAGISTER. Université de Tlemcen.
- [8] MOSTEFAOUI, Larbi. (2011). Contribution à la description et à la compréhension de la solvataion de la biomolécule.. Mémoire de MAGISTER. Université de Tlemcen.
- [9] BOUZIANE, C. (2014). Etude de l'interaction de la phospholipase A2 et flavanones isolées de *Inule Visqueuse* par modélisation moléculaire. Mémoire de MASTER. Université de Tlemcen.
- [10] AYACHI, H. (2011). Analyse de l'interaction Ribonucléase-Kanamycine par modélisation moléculaire. Mémoire de MAGISTER. Université de Tlemcen.
- [11] AMRAOUI, N. (2018). L'inhibition du VEGF au cours de l'angiogenèse. Mémoire de MASTER. Université de Tlemcen.
- [12] LAZREG, A. (2018). Calculs théoriques de quelques acides aminés et étude de l'interaction entre un cation et ces biomolécules. Thèse de DOCTORAT. Université Sidi Bel-Abbès.
- [13] AURELIEN, G. (2007). Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Diplôme d'état. Université de Grenoble, France.
- [14] Momany, F.A., McGuire, R.F., Burgess, A.W., and Scheraga, H.A. (1975). Energy parameters in polypeptides. VII. Geometric parameters, partial atomic charges, non bonded interactions, hydrogen bond interactions, and intrinsic torsional potentials for the naturally occurring amino acids. *The Journal of Physical Chemistry* 79, 2361–2381.

[15] EL HADJ SAID , K.(2016).Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire .Mémoire de MASTER. Université de Tlemcen.

[16]<https://telum.umc.edu.dz/enrol/index.php?id=957>



CHAPITRE 4 :
Résultats et discussion.

Introduction :

La discussion que nous allons engager est basée sur les énergies d'interaction et les distances entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme et ceux des ligands. Par conséquent l'optimisation des interactions de Van Der Waals de type attractif a lieu lorsque les géométries du site actif de liaison de l'enzyme et celle du substrat deviennent d'avantage complémentaire (modèle clé-serrure).

Il est à noter qu'une parfaite complémentarité de forme entre l'enzyme et le substrat est très rare.

Il faut signaler que tant que les atomes du substrat et de l'enzyme ne sont pas trop proches, les interactions de type de Van der Waals restent de nature attractive et certainement vont stabiliser le complexe formé. Il existe des situations défavorables dans lequel nous avons un très grand espace « vide » entre l'enzyme et le substrat.

Cette situation peut engendrer un changement conformationnel qui se produit afin de pouvoir accommoder l'établissement d'une nouvelle interaction entre enzyme et le substrat. Une interprétation possible suggère la création d'une grande différence entre ces deux entités du point de vue énergétique. Ceci ne peut être compensé par la formation d'une nouvelle interaction [1].

De même, la découverte de nouvelles drogues activant ou inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective. C'est dans ce but que des techniques de modélisation moléculaire, regroupées sous le nom d' "Amarrage" ou "Docking" moléculaire ont été développées.

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligands) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée.

Au niveau ce chapitre, nous présentons la discussion des résultats obtenus. Il s'agit de l'étude des interactions entre différents inhibiteurs et une enzyme par les méthodes de la modélisation moléculaire. Nous avons englobé tous les résultats de calcul effectués dans ces ensemble d'approches et la discussion que nous allons engager est basée sur les énergies d'interactions, fonction de score et les distances entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme et ceux de l'inhibiteurs.

1. Matériels :

1.1. Ressources informatiques :

A. Ordinateurs :

On a utilisé trois ordinateurs pour l'exécution et l'analyse de ces travaux :

- ✓ Un processeur Intel (R) Core (TM) 2 Duo CPU E8400 @ 3,00 GHz, équipé avec 2 Go de mémoire RAM.
- ✓ Un processeur Pentium(R) Dual Core-CPU T4400 @ 2,20 GHz 1,03 GHz avec 1,93 de mémoire RAM.
- ✓ Un processeur Pentium(R) Dual-Core CPU E5700 @ 3,00 GHz avec 6,00 de mémoire RAM.

1.2. Logiciels utilisés :

A. Molecular Operating Environment MOE (version 2014)

Molecular Operating Environment(MOE) est un package c'est-à-dire un ensemble de plusieurs programmes destinés à la découverte et à la conception assistée par ordinateur de molécules biologiquement actives. Celui-ci permet d'effectuer plusieurs tâches pendant un temps très réduit. Il permet de dessiner les molécules, de les minimiser pour avoir les meilleures conformations de ces molécules. Il permet également de docke plusieurs ligands rassemblés dans une base de données dans le site actif d'une protéine de manière successive.

Le logiciel MOE permet aussi en utilisant le module « Site Finder » de détecter la cavité enzymatique et identifier ainsi les résidus qui forment le site actif le plus volumineux en acides aminés ce dernier est le site le plus favorable pour l'interaction.

MOE (Molecular Operating Environment) présente une forme de docking moléculaire flexible dans lequel le récepteur et le ligand change de conformation et s'adaptent à l'environnement. (MOE Chemical Computing Group., 2012)

B. Chem DRAW Ultra 8.0

Chem Draw est l'outil de choix le plus complet pour les chimistes et biologistes, il leur permet de créer des modèles tridimensionnels, de visualiser, d'analyser et de déterminer les propriétés des molécules. C'est un logiciel qui est prêts à être utilisés dans des carnets de laboratoire électroniques, des publications et des bases de données. [2]

1.3 Préparation de l'enzyme et ligands :

1.3.1 Préparation des ligands :

Les ligands (inhibiteurs) sont :

- Soit téléchargés à partir des bases de données « **Pub Chem** ».
- Soit dessinés à l'aide de logiciel « **ChemDraw8.0** ». [3]

La molécule obtenue est enregistré au format .pdb ou .mol.

1.3.2 Préparation de l'enzyme :

L'enzyme est téléchargée (figure11) à partir de la Bank de donné suivante : Book haven Protein Data Bank (www.rcsb.org/pdb). [4]

Après le téléchargement de l'enzyme, on élimine les molécules d'eau et les éléments de Co-cristallisation (figure 12).[3]

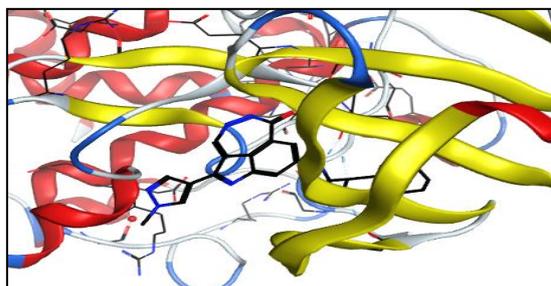


Figure 11 : 5NXC non simplifié

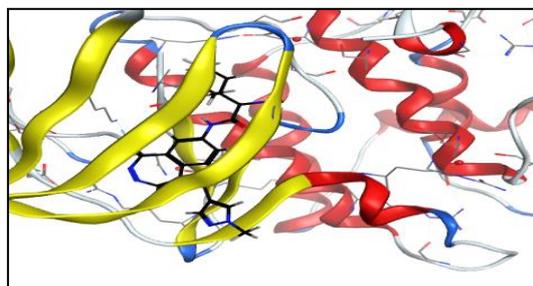


Figure12 :5NXC simplifié

La structure tridimensionnelle a été obtenue par diffractions des rayons X. Les données de la Co-cristallisation sont résumées dans le **tableau4**

Tableau 4 : Les caractéristiques de l'enzyme LIMK1 :

Enzyme	Classification	Poids (KDa)	Chaîne	Longueurs (Å)	Angles (°)	Résolution (Å)	Méthode
LIMK1 Code (5NXC)	Transférase	36,41	L	a=88,387 b=95,836 c=84,392	$\alpha = 90$ $\beta = 90$ $\gamma = 90$	2,25	X-RAY DIFFRACTION

1.3.3 Protocole générale du docking moléculaire:

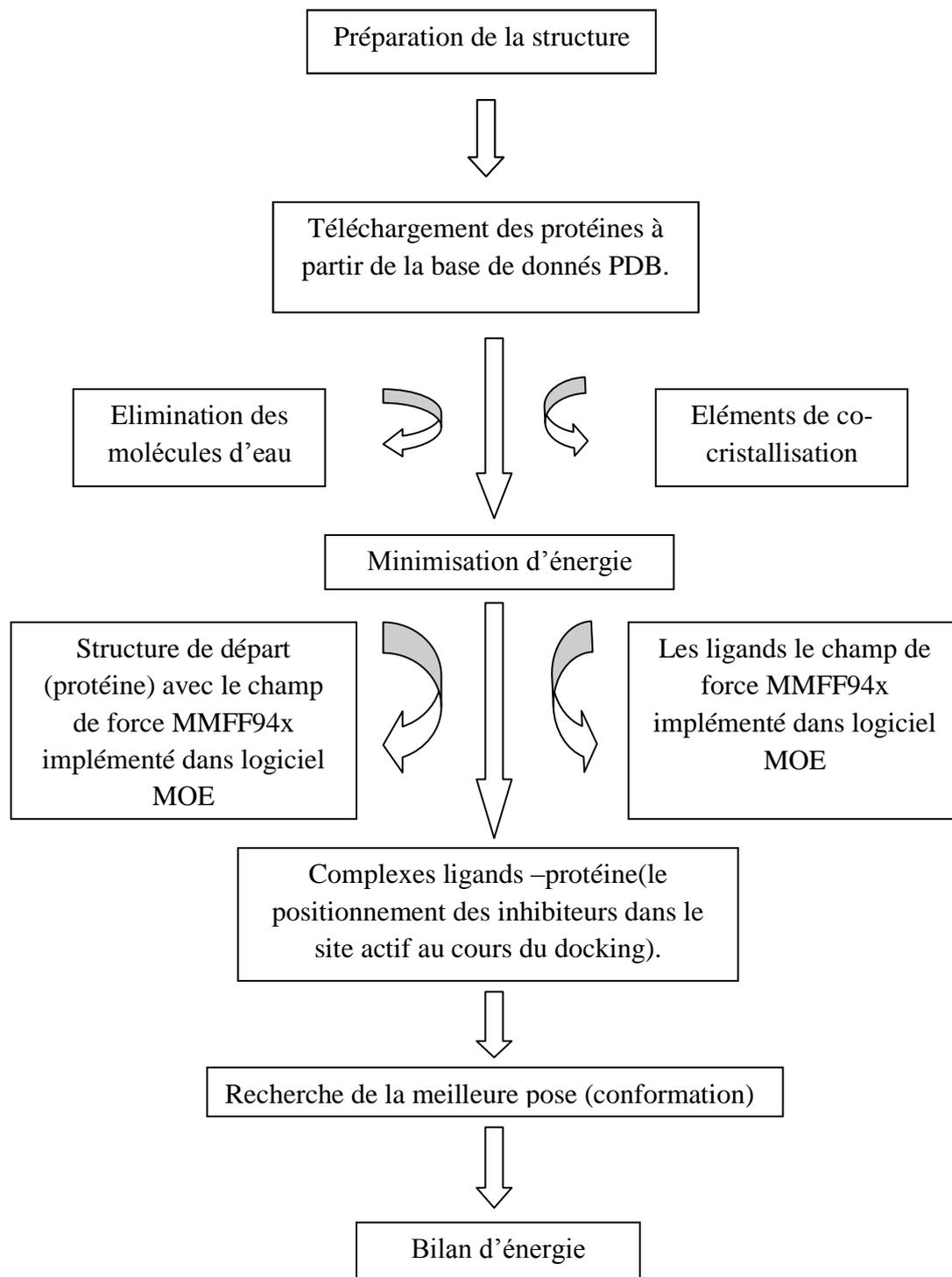
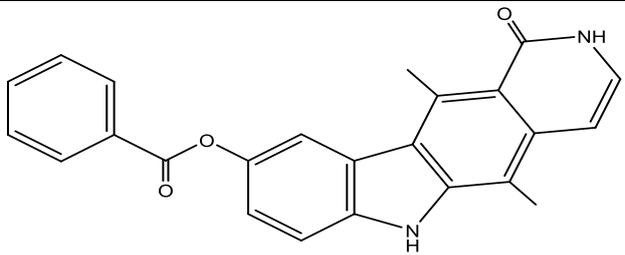
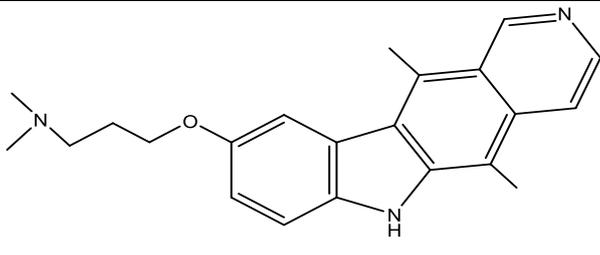
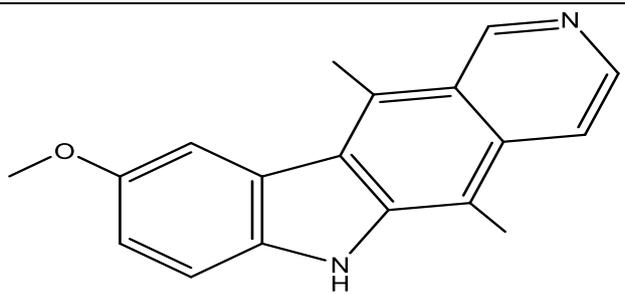
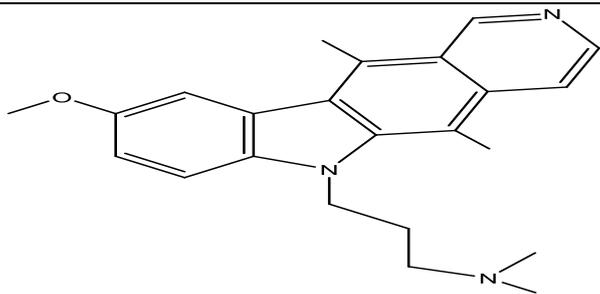
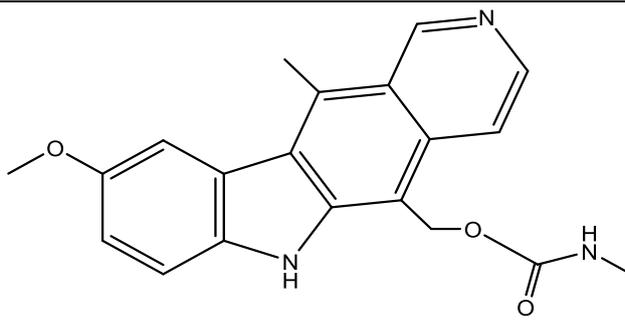
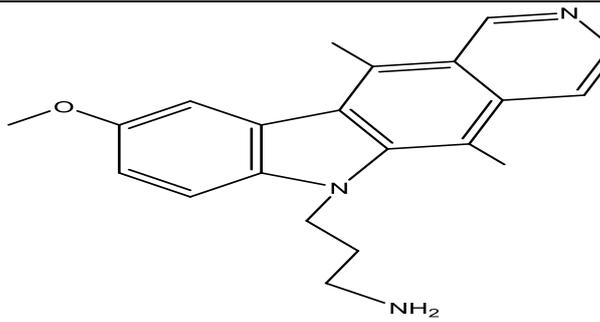
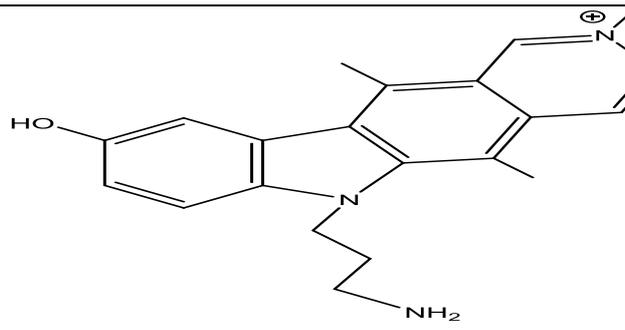
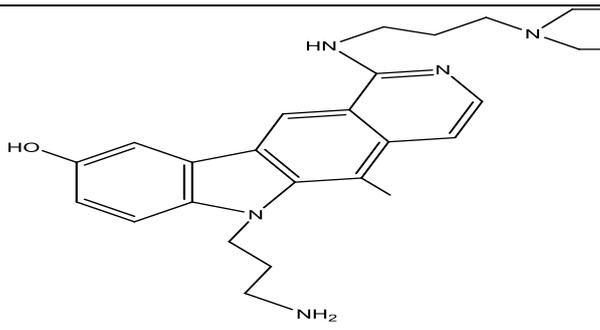


Figure13 : Schéma présentatrice du Protocol de calcul pour le docking moléculaire

2. Discussion :

Les similaires du Pyr1 utilisés dans notre étude sont téléchargé à partir de la base de donnée pubchem (www.pubchem.com). Ils sont reportés dans le **tableau 5**.

Tableau 5 :Pyr1 et ses similaires.

 <p style="text-align: center;">L1</p>	 <p style="text-align: center;">L2</p>
 <p style="text-align: center;">L3</p>	 <p style="text-align: center;">L4</p>
 <p style="text-align: center;">L5</p>	 <p style="text-align: center;">L6</p>
 <p style="text-align: center;">L7</p>	 <p style="text-align: center;">L8</p>

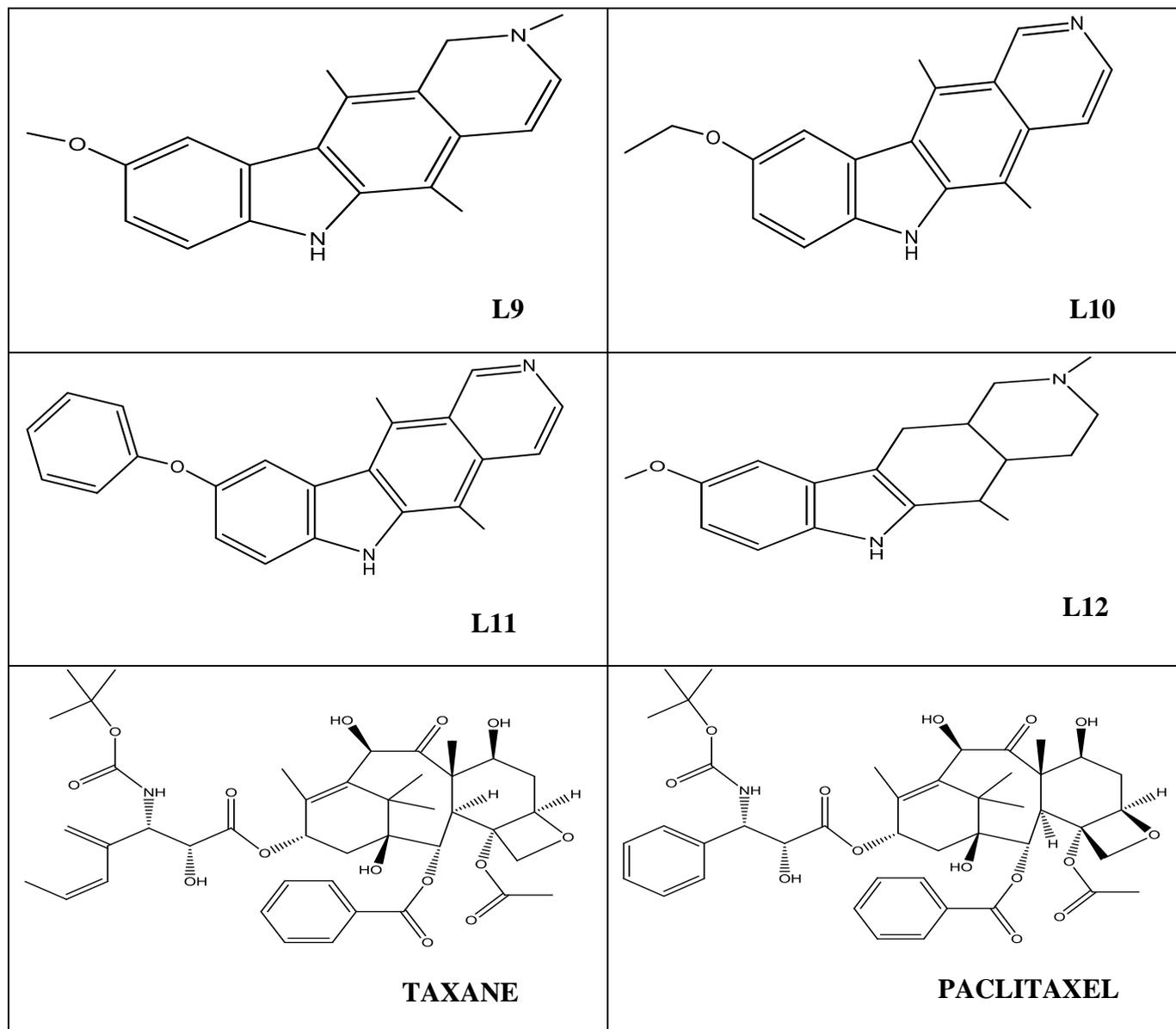


Tableau 6 : Propriétés du Pyr1 et ses dérivés

Ligands	Poids (g/mol)	TPSA	LogP	LogS	Toxicité
L1	382,42	71,19 A ² (don:2 ,acc: 2)	4,87	-6,81	Yes
L2	347,46	41 ,15 A ² (don:1 ,acc:3)	4,82	-4,93	Yes
L3	276,34	37 ,91 A ² (don:1 ,acc: 2)	4,49	-4,83	Yes
L4	361 ,49	30 ,29 A ² (don:0 ,acc: 3)	5,19	-4,82	Yes
L5	349,39	76 ,24 A ² (don:2 ,acc:3)	4,31	-4,89	Yes
L6	333,43	53 ,07 A ² (don:1 ,acc: 3)	4,58	-4,61	Yes
L7	334,44	55 ,06 A ² (don:2,acc:2)	4,07	-4,07	Yes
L8	433,60	79 ,34 A ² (don:3 ,acc:4)	5,12	4,59	Yes
L9	292,38	28 ,26 A ² (don:1 ,acc:1)	4,63	-4,47	Yes
L10	290,37	37 ,91 A ² (don:1 ,acc:1)	4,88	-5,15	Yes
L11	338,41	37 ,91 A ² (don:1 ,acc:1)	6,28	-6,56	Yes
L12	284,40	28 ,26 A ² (don:1 ,acc:2)	3,40	-2,70	No
TAXANE	807,89	221 ,29 A ² (don:5,acc:10)	3,36	-7,10	No
PACLITAXEL	853,92	224 ,45 A ² (don:4 ,acc:10)	3,83	-8,43	No

Les énergies de l'interaction de l'enzyme LIMK1 (code 5NXC) avec Pyr1 et ses similaires sont reportées dans le **tableau 7**.

Tableau 7 : Résultats des énergies des complexes 5NXC-ligands formés :

Composés	Nombre de poses	Score	RMSD
5nxc - réf	5	-9,5218	0 ,183
5NXC_L1	4	-6,9475	0 ,184
5NXC_L2	7	-5,6485	0 ,159
5NXC_L 3	4	-5,2798	0 ,299
5NXC_L4	6	-4,3642	0 ,184
5NXC_L5	9	-5,5239	0 ,183
5NXC_L6	8	-5,0180	0 ,190
5NXC_L7	9	-4,3675	0 ,181
5NXC_L8	10	-4,5977	0 ,184
5NXC_L9	7	-5,3831	0 ,183
5NXC_L10	4	-5,4654	0 ,183
5NXC_L11	5	-5,9340	0 ,158
5NXC_L12	5	-5,7265	0,181

2.1 Classification des complexes

2.1.1 Classification des complexes selon l'énergie d'interaction :

Ecomplexe_5NXC_L1<Ecomplexe_5NXC_L11<Ecomplexe_5NXC_L12<Ecomplexe_5NXC_L2<Ecomplexe_5NXC_L5<Ecomplexe_5NXC_L10<Ecomplexe_5NXC_L9<Ecomplexe_5NXC_L3<Ecomplexe_5NXC_L6<Ecomplexe_5NXC_L8<Ecomplexe_5NXC_L7<Ecomplexe_5NXC_L4

2.1.2 Classification des complexes selon la stabilité :

Complexe_5NXC_L1>Complexe_5NXC_L11>Complexe_5NXC_L12>Complexe_5NXC_L2>Complexe_5NXC_L5>Complexe_5NXC_L10>Complexe_5NXC_L9>Complexe_5NXC_L3>Complexe_5NXC_L6>Complexe_5NXC_L8>5NXC_L7>Complexe_5NXC_L4

2.2 Discussion selon la stabilité :

2.2.1 Comparaison entre le pyr1 et leurs similaires :

A la lumière de ces résultats, on conclut que le complexe **5NXC_L1** est le plus stable, possédant le Score (énergie) le plus faible (**-6,9475Kcal/mol**). Le ligand **L_1 (Pyr1)** est probablement le ligand le plus favorisé pour l'inhibition de l'enzyme LIMK1 (**5NXC**). Les tests anticancéreux de Pyr1 in vivo utilisés sur des rongeurs ont donné de bons résultats pour les cancers (seins et leucémie) mais le Pyr1 est toxique et insoluble. Pour cela, on propose de faire des tests de toxicité en utilisant différentes concentrations inhibitrices (**IC₅₀**) et de prévoir une méthode pour le solubiliser.

2.2.2 Comparaison entre le ligand L_1 et les produits commercialisés (Paclitaxel et Taxane) :

Tableau 8 : Résultats des énergies des complexes formés par 5NXC-Pyr1 et produits commercialisés

Composés	Nombre de poses	Score	RMSD
5NXC_L1	4	-6,9475	0,184
5NXC-Paclitaxel	10	-6,3470	0,467
5NXC- Taxane	7	-5,7136	0,489

a. Classification selon l'énergie :

E_5NXC_L1 < E_5NXC_PACLITAXEL < E_5NXC_TAXANE

b. Classification selon la stabilité :

Complexe 5NXC_L1 > Complexe 5NXC_PACLITAXEL > Complexe 5NXC_TAXANE

Le complexe **5NXC_L1** est plus stable que **5NXC_PACLITAXEL** et **5NXC_TAXANE**, possédant l'énergie la plus faible (**-6,9475Kcal/mol**).

Donc on conclut que le ligand **L_1 (pyr1)** est le ligand plus favorisé pour inhiber l'enzyme LIMK1 (**5NXC**) que les produits commercialisés (paclitaxel et taxane).

Pour la validation du protocole, les résultats reportés dans les tableaux 7 et 8 montrent que le **RMSD < 2** ce qui signifie que notre protocole d'amarrage est validé.

2.3 Discussion selon l'énergie et les interactions :

Les interactions entre l'enzyme et ces inhibiteurs sont de différents types : accepteurs H, donneurs H, H-pi, pi-H, pi-pi.

Les distances mesurées varient entre **2,26 Å** et **4.35 Å**. Ces valeurs sont applicables aux carbohydrates selon (Imberty., 1991) [3], on peut par analogie concernant nos macromolécules pouvoir appliqués ces intervalles.

D'après les résultats obtenus des interactions formé entre les ligands et les résidus du site actif de l'enzyme LIMK1 (5NXC) sont des liaisons hydrogène fortes et moyennes, on conclue qu'on a une meilleure fixation du ligand dans le site actif. Les résultats des interactions sont représentés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Distances entre les acides aminés qui forment le site actif de l'enzyme (code : 5NXC), les dérivés du Pyr1 et les produits commercialisés (Paclitaxel et Taxane)

Composés	Ligands	Récepteur	Types d'acide aminé	Interactions	Distances en Å	Energies (kcal/mol)
5nxc _ réf	N3	OD2	ASP 478(L)	H donneur	2,74	-6,2
	C9	OD2	ASP 478(L)	H donneur	3,17	-1,6
	N4	O	LYS 347(L)	H donneur	2,86	-10,2
	N4	O	HIS 464(L)	H donneur	3,11	-2,9
	O1	NZ	LYS 368(L)	H accepteur	3,04	-5,9
	5-ring	CA	GLY 419(L)	Pi-H	4,34	-1,0
5NXC_L1	N 10	ND1	HIS 464(L)	H donneur	3,18	-1,7
	6-ring	CD1	LEU 345(L)	Pi-H	4,04	-0,7
5NXC_L2	N 26	NZ	LYS368(L)	H accepteur	3,14	-5,7
	5-ring	CB	LEU 345(L)	Pi-H	3,74	-0,8
	6-ring	CD2	LEU 345(L)	Pi-H	4,36	-0,6
5NXC_L 3	N 27	NZ	LYS 368(L)	H accepteur	3,07	-5,9
	5-ring	CB	LEU 345(L)	Pi-H	3,77	-0,9

	6-ring	CD2	LEU 345(L)	Pi-H	4,31	-0,6
5NXC_L4	6-ring	CD1	LEU 345(L)	Pi-H	4,00	-0,8
5NXC_L5	N 39	O	HIS 464(L)	H donneur	2,82	-3,2
	N 27	NZ	LYS 368(L)	H accepteur	3,30	-3,9
	5-ring	CD	LEU 345(L)	Pi-H	3,63	-0,6
5NXC_L6	N 26	NZ	LYS 368(L)	H accepteur	3,49	-1,3
	5-ring	CB	LEU 345(L)	Pi-H	4,06	-0,6
	6-ring	CD2	LEU 345(L)	Pi-H	4,38	-0,6
	5-ring	CD2	LEU 345(L)	Pi-H	4,22	-0,6
5NXC_L7			Pas d'interaction	Pas d'interaction	Pas d'interaction	Pas d'interaction
5NXC_L8	N 42	O	LYS 347(L)	H donneur	3,07	-1,0
	N 42	ND1	HIS 464(L)	H donneur	3,44	-0,7
	O 13	NZ	LYS 368(L)	H accepteur	2,85	-1,1
	6-ring	CD1	LEU 345(L)	Pi-H	4,27	-0,7
5NXC_L9	5-ring	CB	LEU 345(L)	Pi-H	3,77	-0,6
	6-ring	CD1	LEU 345(L)	Pi-H	4,09	-0,7
	6-ring	CA	GLY 419(L)	Pi-H	4,45	-0,6
5NXC_L10	N 23	NZ	LYS 368(L)	H accepteur	3,07	-5,9
	5-ring	CB	LEU 345(L)	Pi-H	3,77	-0,9
	6-ring	CD2	LEU 345(L)	Pi-H	4,30	-0,6
5NXC_L11			Pas d'interaction	Pas d'interaction	Pas d'interaction	Pas d'interaction
5NXC_L12	5-ring	CD1	LEU 345(L)	Pi-H	4,14	-0,8
5NXC - Paclitaxel			Pas d'interaction	Pas d'interaction	Pas d'interaction	Pas d'interaction
5NXC-Taxane			Pas d'interaction	Pas d'interaction	Pas d'interaction	Pas d'interaction

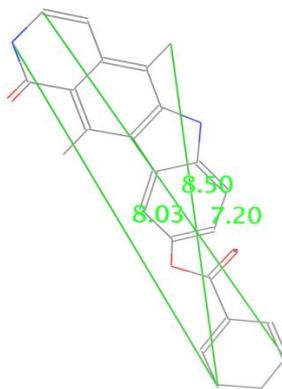


Figure 15 : Dimension du Pyr1 dans le site actif de l'enzyme

L'examen de la cavité enzymatique et le calcul des distances entre les inhibiteurs et les chaînes latérales des résidus constitutifs du site actif et des énergies obtenus confirment que l'inhibiteur Pyr1 présente une forte interaction et une meilleure complémentarité avec le récepteur LIMK (code 5NXC).

2.4 Solubilité et toxicité du Pyr1

Afin de déterminer *in vivo* la dose à injecter aux souris, l'équipe de C.PRUNIER s'est appuyée sur une étude de toxicité de Pyr1 préalablement réalisée au laboratoire[5]. Cette étude, réalisée sur 7 jours, consiste à traiter quotidiennement les souris avec des doses allant de **15 à 60 mg/Kg** de Pyr1 injectées par voie intra péritonéale. Pyr1 semble très bien toléré par les animaux, y compris pour des administrations de longue durée. A aucun moment, **PRUDENT** et ces collaborateurs n'ont observé d'effets secondaires notables (perte de poids, signes de souffrance ou mort) pour des durées de traitements allant de 9 à 35 jours. Ces mesures sont bien sûr indirectes et nécessitent d'être renforcées par une étude de toxicité à long terme plus approfondie

Aucun effet indésirable n'a été observé (prostration, perte de poids) si ce n'est une inflammation au niveau du point d'injection pour des doses égales ou supérieures à **30 mg/Kg**. L'analyse de paramètres hématologiques (créatinine, alcaline phosphatase, etc...) ainsi qu'une autopsie post-mortem ont été réalisés et n'ont révélées aucun signe de toxicité. Ils ont donc choisi de se placer à une dose de **10 mg/Kg** qui est 3 fois inférieure à celle où les premiers signes de toxicité sont observés.

De plus, sur un modèle de leucémie, il avait été observé que cette dose pouvait être suffisante pour une efficacité thérapeutique.

Même si le composé Pyr1 est bien adapté pour établir la preuve de concept des effets thérapeutiques d'une inhibition des LIMKS, la solubilité du composé reste un

problème majeur. En effet, les solvants utilisés pour injecter le composé aux souris (Notamment le PEG et le DMSO) ne sont pas autorisés pour une utilisation chez l'homme. La start-up **Cellipse**, recherche actuellement des inhibiteurs plus solubles des LIMKs .[5]

2.5 L'ajout de lysine au Pyr1 :

Pour vérifier si la solubilité augmente ou diminue, on a greffé un similaire de la lysine sur les différentes positions du Pyr₁, lorsque le $(-CH_2)_n$ « n= 1,2 et 3 » augmente, la solubilité augmente en valeur absolue pour chaque ligand.

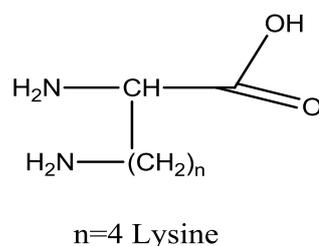
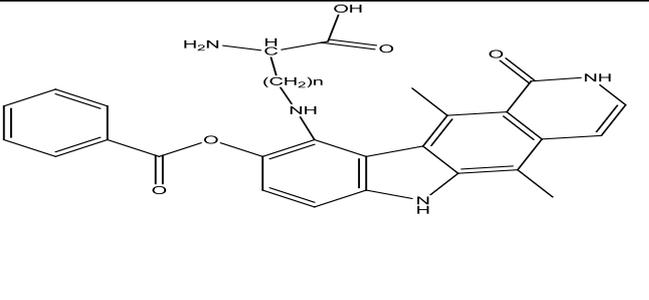
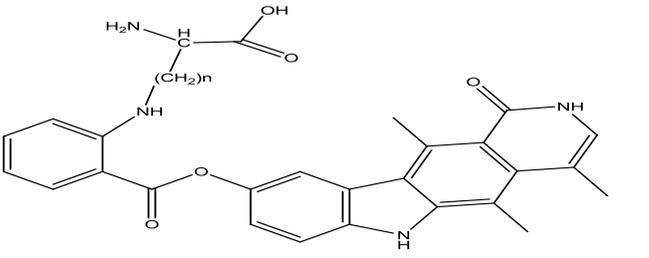
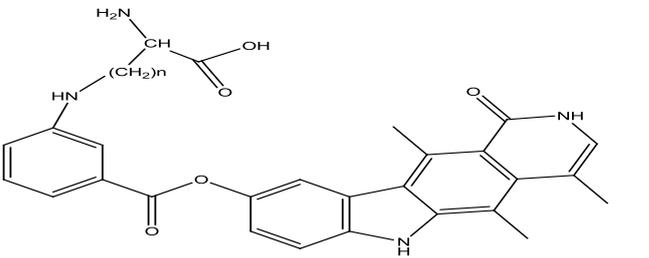
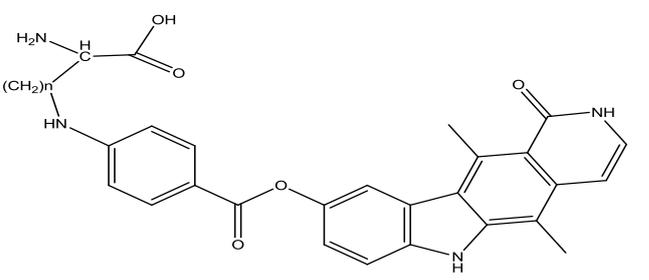
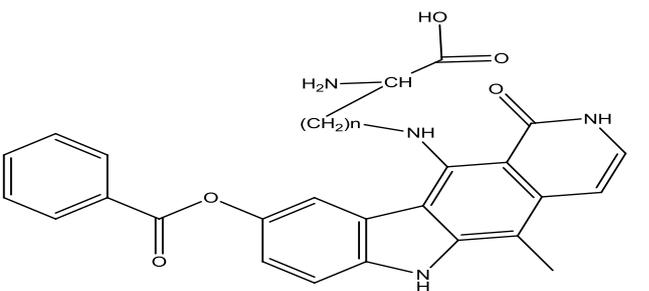
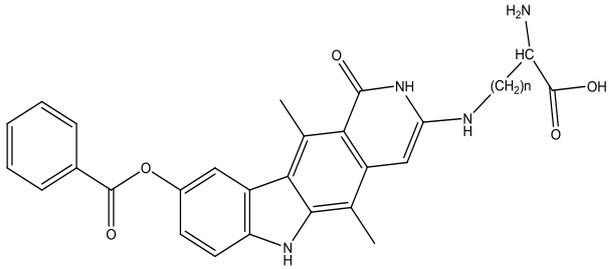
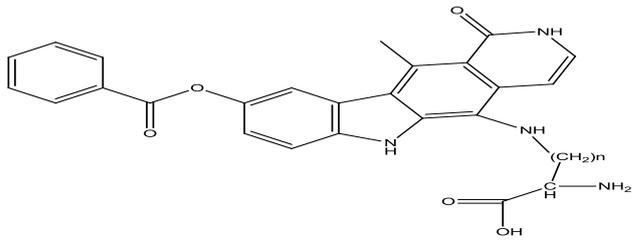


Tableau 10 : Similaires de Pyr1 greffés.

<i>Ligand pyr1 +lysine</i>	<i>Log S</i>			
	<i>n=1</i>	<i>n=2</i>	<i>n=3</i>	<i>n=4</i>
L13 	-6,33	-6,53	-6,73	-6,91
L14 	-6,31	-6,51	-6,72	-6,90
L15 	-6,29	-6,50	-6,70	-6,90

				
<p>L16</p> 	<p>-6,31</p>	<p>-6,51</p>	<p>-6,72</p>	<p>-6,90</p>
<p>L17</p> 	<p>-6,31</p>	<p>-6,51</p>	<p>-6,72</p>	<p>-6,90</p>
<p>L18</p> 	<p>-6,29</p>	<p>-6,50</p>	<p>-6,70</p>	<p>-6,90</p>
<p>L19</p> 	<p>-5,82</p>	<p>-6,02</p>	<p>-6,22</p>	<p>-6,43</p>

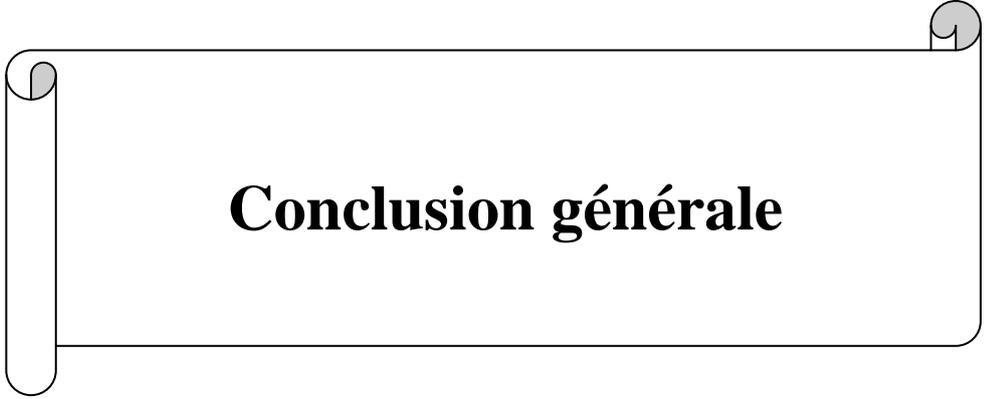
<p>L20</p> 	-6,62	-6,82	-7,02	-7,23
<p>L21</p> 	-6,13	-6,34	-6,54	-6,98

Lorsqu'on a greffé un acide amine « lysine » sur différentes positions du meilleur inhibiteur Pyr_1, on remarque que la solubilité augmente en valeur absolue.

Pour conclure le développement d'un médicament est un processus long et à risque. Pour cela il faut vérifier toujours les activités biologiques tel que l'activité antioxydante, la toxicité.....

Références

- [1] AYACHI, H.(2011). Analyse de l'interaction Ribonucléase-Kanamycine par modélisation moléculaire. Mémoire de MAGISTER. Université de Tlemcen.
- [2] Mme LALOUT- née- SOUFI, W. (2015). Contribution à la modélisation des interactions dans les biomolécules .Thèse de doctorat. Université de Tlemcen.
- [3]A.Imberty, K. D. Hardman, J.P. Carver, S. Pérez: “Molecular of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavoline a”, *glycobiology*, 1, 631–642, 1991.
- [4] HADDAM, F.(2017). Modélisation des modalités d'interaction de la glycoprotéine ZP3 et contraception. Master en biologie. Université de Tlemcen.
- [5]Prunier,C.(2015).Evaluation de l'efficacité thérapeutique d'un nouvel inhibiteur des LIM Kinases “ Pyr1 ” dans le cancer du sein .Université de Grenoble ,France.



Conclusion générale

Dans le cadre de l'étude des mécanismes régissant l'évolution de la maladie du cancer, nous nous sommes intéressés aux interactions moléculaires entre l'enzyme LIM Kinases les différents inhibiteurs similaires de Liminib (ou Pyr1) à l'aide des méthodes de modélisation moléculaire. Les outils informatiques retenus pour mener à bien cette étude sont la mécanique moléculaire, la dynamique moléculaire et le Docking moléculaire.

Cette étude comprend quatre chapitres :

Dans le premier chapitre, on part du constat que le cancer est désormais en passe de devenir un véritable fléau qui ronge de plus en plus la santé des adultes et les jeunes aux quatre coins du monde. La maladie du cancer est décrite par :

- Des généralités sur cette maladie,
- Statistiques de la maladie,
- Traitement actuel de la maladie.

Le deuxième chapitre est réservé à un rappel sur l'enzyme choisit et l'inhibiteur Pyr1 une nouvelle molécule (figure16) aux propriétés anticancéreuses et anti-métastatiques vient d'être découverte par des équipes du CNRS, du CEA, de l'Institut Curie et de l'Inserm, en collaboration avec des chercheurs australiens et anglais.

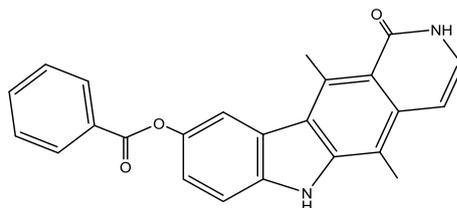


Figure16 :Liminib (ou Pyr1) [5,11-Dimethyl-1-oxo-2,6-dihydro-1H-pyrido [4,3-b] carbazol-9-yl benzoate]

Les différents aspects de la modélisation moléculaire sont abordés dans le troisième chapitre. On a mis le point sur l'intérêt du docking moléculaire. Dans notre étude on a considéré le ligand comme flexible et l'enzyme rigide. La notion de champ de force, l'ensemble des termes de l'énergie stérique est défini précisément dans l'expression mathématique en mécanique moléculaire. L'importance de la paramétrisation justifie le choix du champ de force.

Le quatrième chapitre, est consacré aux résultats obtenus ainsi qu'à la discussion et l'interprétation de ces derniers.

Nous avons pu élucider les mécanismes d'interaction entre l'enzyme étudiée et les différents inhibiteurs similaires de Pyr1 par visualisation des différents types de liaisons mis en jeu. La discussion est basée sur les énergies d'interaction minimale des complexes

LIMK1 similaires de Pyr1 obtenus à l'aide du programme Molecular Operating Environment (MOE).

L'examen de la cavité enzymatique, et le calcul des distances entre les inhibiteurs et les chaînes latérales des acides aminés constitutifs du site actif et des énergies calculées, confirment que l'inhibiteur L1 avec les groupes OH présentent une forte interaction de liaison hydrogène et une meilleure complémentarité avec l'enzyme LIMK1.

D'après une étude comparative qui a été réalisé entre le meilleur inhibiteur Pyr1 et des produits commercialisés (le PACLITAXEL, et le TAXANE) l'énergie du complexe – inhibiteur Pyr1 formé est plus faible que celle des complexes commercialisés (le PACLITAXEL, et le TAXANE) formés.

Le complexe **5NXC_Pyr1** est plus stable que **5NXC_PACLITAXEL** et plus stable que **5NXC_TAXANE**, possédant l'énergie la plus faible (**-6,9475Kcal/mol**). Donc le ligand L_1 (pyr1) est le ligand le plus favorisé pour inhibé l'enzyme LIMK1 (5NXC) que les produits commercialisés (le PACLITAXEL, et le TAXANE).

Pour conclure, au vu des résultats obtenus dans ce travail, qui consiste en l'élucidation de l'inhibition de la LIMK1 par les méthodes de modélisation moléculaire et sachant que l'inhibiteur Pyr1 est le meilleur mais il présente une toxicité et il est insoluble, nous proposons de faire une étude de solubilité et d'autres essais sur la toxicité.

En perspective

Ce travail n'est cependant pas encore terminé, les prochaines étapes consisteront :

- A utiliser d'autres programmes de docking moléculaire, parmi les plus récents et les plus performants, pour tester tous les inhibiteurs de l'enzyme étudié jusqu'à présent afin de proposer les meilleurs
- De réaliser dans un futur s'articuleront autour des applications dans le domaine de l'activité biologique, et l'étude des interactions protéine-protéine.
- Il faut tenir compte également de l'effet de solvant qui a été négligé dans notre approche..
- Un autre aspect dont il faut tenir compte et qu'on ne peut le quantifier, est le paramètre RMSD (RootMean Square Deviation) entre deux conformations supposées

Résumé

La recherche en chimie, biologie, médecine et pharmacie ne peut 'actuellement, se passer des outils informatiques pour traiter les données produites et optimiser ses avancées. L'un de ses outils est la modélisation moléculaire et plus précisément l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme « docking moléculaire »). L'utilisation du docking moléculaire consiste à prévoir et à reproduire des complexes protéine-ligand. Le docking moléculaire est à la base de la reconnaissance moléculaire et du type d'interaction.

Notre recherche consiste à étudier l'inhibition de l'enzyme appliqué dans la maladie du cancer avec une série d'inhibiteurs à l'aide des programmes de docking moléculaire pour prédire l'effet inhibiteur de ces molécules sur la stabilité des complexes formés.

Mots Clés : Modélisation Moléculaire, docking moléculaire, Interactions et cancer.

Abstract

Research in chemistry, biology, medicine and pharmacy cannot currently do without computer tools to process the data produced and optimize its progress. One of these tools is molecular modeling and more precisely molecular docking (more often known as "molecular docking"). The use of molecular docking is to predict and reproduce protein-ligand complexes. Molecular docking is the basis of molecular recognition and type of interaction.

Our research consists of studying the enzyme inhibition applied in cancer disease with a series of inhibitors using molecular docking programs to predict the inhibitory effect of these molecules on the stability of the formed complexes.

Key Words : Molecular modeling, molecular docking, Interactions and cancer

ملخص

لا يمكن للبحث في الكيمياء والبيولوجيا والطب والصيدلة في الوقت الحالي الاستغناء عن أدوات الكمبيوتر لمعالجة البيانات المنتجة وتحسين تقدمها. واحدة من هذه الأدوات هي النمذجة الجزيئية وبشكل أكثر دقة الالتحام الجزيئي (المعروف في الغالب باسم "الالتحام الجزيئي"). يتمثل استخدام الالتحام الجزيئي في التنبؤ بمجمعات البروتين - الترابط وإعادة إنتاجها. الالتحام الجزيئي هو أساس التعرف الجزيئي ونوع التفاعل.

يتكون بحثنا من دراسة تثبيط الإنزيم المطبق في مرض السرطان بسلسلة من المثبطات باستخدام برامج الالتحام الجزيئي للتنبؤ بالتأثير المثبط لهذه الجزيئات على استقرار المجمعات المتكونة.

الكلمات المفتاحية: النمذجة الجزيئية ، الالتحام الجزيئي ، التفاعلات ، السرطان