

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie-Microbiologie

N° d'ordre : 015/Mag/2012
N° de série : 003/SN/2012

Mémoire

Présenté par

MERZOUG Amina

Pour obtenir le diplôme de MAGISTRE EN BIOCHIMIE

Option: Technologies des explorations biochimiques

THEME

Étude *in silico* de l'inhibition de la peptide déformylase

Soutenu le : 25/01/2012

Devant le jury :

Président : Mr KHELIFI D. Professeur Université de Constantine

Rapporteur : Mr CHIKHI A. Maître de conférences Université de Constantine

Examineurs :

Mr BENSEGUENI A. Maître de conférences Université de Constantine

Mr NOUADRI T. Maître de conférences Université de Constantine

Remerciements

*Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse Monsieur le Docteur
CHIKHI Abdelouahab, maître de conférences à l'université Mentouri de
Constantine, pour son aide, sa confiance, ses orientations judicieuses et sa
disponibilité.*

*Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur KHELIFI Douadi
d'avoir accepté de présider mon jury.*

*Je tiens également à remercier Monsieur le Docteur BENSEGUENI
Abderrahmane, maître de conférences à l'université Mentouri de Constantine,
qui m'a fait l'honneur de participer à mon jury.*

*Mes remerciements vont également à Monsieur le Docteur NOUADRI Tahar,
maître de conférences à l'université Mentouri de Constantine, d'avoir accepté
d'examiner ce travail*

Que mes remerciements aillent aussi à mes collègues

Dédicaces

A mon cher papa, qui ma toujours aidé et guidé vers le chemin de la réussite

*A ma très chère maman, pour m'avoir toujours écoutée, pour son soutien moral
et ces précieux conseils.*

*A mon cher mari Farid qui ma encouragé, qui ma donné la force et la volonté
de surmonter tous les obstacles et les difficultés.*

A mes frères, mes sœurs.

A la famille de mon mari

A ma famille, à mes amis, je dédie ce mémoire

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

CHAPITRE I

LA PNEUMONIE.....	3
-------------------	---

1. Définition de la pneumonie.....	3
2. Épidémie de la pneumonie.....	4
3. Etiologie de la pneumonie.....	4
3.1.Les bactéries	5
3.2.Les virus	6
4. Traitement.....	6
4.1.Traitement de la pneumonie bactérienne	6
4.2.Traitement de la pneumonie virale	7
4.3.La vaccination	7
5. Résistance aux antibiotiques utilisés.....	7
5.1.Sensibilité de <i>Streptococcus pneumoniae</i> aux antibiotiques.....	7
5.2.Les conséquences de cette résistance	8

CHAPITRE II

LA PEPTIDE DÉFORMYLASE.....	9
-----------------------------	---

1. La fonction biologique de la peptide déformylase.....	9
2. Classification des PDFs	10
3. Le site actif de la PDF.....	12
4. La PDF des eucaryotes	13
5. Inhibiteurs de la PDF bactérienne	13
6. Les différentes classes d'inhibiteurs	13
6.1.Les inhibiteurs naturels	13
6.2.Les inhibiteurs synthétiques	14
6.3.Les candidats en clinique	17

CHAPITRE III**LE DOCKING MOLÉCULAIRE.....19**

1. Les interactions protéine-ligand.....19
 - 1.1.les différentes d'interactions19
 - 1.2.Implication des interactions dans la structure et la flexibilité.....21
2. Le docking moléculaire21
 - 2.1.Du docking rigide à l'introduction de la flexibilité21
 - 2.2.Programmes de docking les plus cites22
 - 2.3.Applications de docking.....23
 - 2.4.Les étapes de docking moléculaire23
3. Le programme utilisé (FlexX).....26
 - 3.1.la flexibilité conformationnelle du ligand.....26
 - 3.2.Les niveaux d'interaction.....26
 - 3.3.La fonction de score27

CHAPITRE IV**MATERIEL ET METHODES.....28**

1. Test d'évaluation de programme utilisé28
2. Le programme FlexX28
3. L'inhibition de la PDF de *Streptococcus pneumoniae* par divers inhibiteurs29
 - 3.1.Choix de la cible.....29
 - 3.2.Les ligands mis en jeu30
4. Les mono et bi substitutions de la VRC 430731
 - 4.1.Les mono substitutions du VRC 430732
 - 4.2.Les bi substitutions du VRC 430733
5. Inhibition de la PDF de *Streptococcus pneumoniae* par les dérivés du noyau indole.....33
6. Les mono et bi substitutions du composé 6g34
 - 6.1.Les mono substitutions du composé 6g34
 - 6.2.Les bi substitutions du composé 6g35
7. Le filtrage ADME/Tox35

CHAPITRE V :**RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.....37**

- 1. Fiabilité de programme utilisé37**
- 2. L'inhibition de la PDF de *Streptococcus pneumoniae* par les divers inhibiteurs de la PDF.....40**
 - 2.1.La structure de 2AIE40**
 - 2.2.L'étude de l'interaction de la PDF de *Streptococcus pneumoniae* et les divers inhibiteurs de la PDF41**
- 3. Substitutions effectuées sur VRC430750**
 - 3.1.Les Mono substitutions du VRC 4307.....51**
 - 3.2.Les bi substitutions du VRC 4307.....52**
 - 3.3.Le filtrage ADME/Tox de molécules proposées55**
- 4. Inhibition de la PDF de *Streptococcus pneumoniae* par les dérivés du noyau indole55**
- 5. Les mono et les bi substitutions effectuées sur de composé 6g.....58**
 - 5.1.Les Mono substitutions58**
 - 5.2.Les Bi substitutions59**
 - 5.3.Prédiction des propriétés pharmacocinétiques.....61**

CONCLUSIONS.....62**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....64****ANNEXES**

INTRODUCTION :

Les maladies infectieuses sont provoquées par la transmission des microorganismes : virus, bactéries, parasites, champignons. Selon L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) elles sont responsables de 17 millions de décès par an, ce qui représente un tiers de la mortalité [1]. La pneumonie est parmi les plus redoutables d'entre elles [1].

La pneumonie est une atteinte infectieuse des poumons causée par plusieurs germes pathogènes. Leur origine majeure est bactérienne : *Streptococcus pneumoniae* (représente 2/3 des pneumopathies bactériennes), *Haemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*. Mais elle peut être également due au virus *Influenzae A*, à des champignons ou à des parasites [2].

L'OMS et le Fonds des Nations Unies pour l'Enfance ont annoncé en novembre 2010 que la pneumonie tuera chaque année 1,6 million d'enfants de moins de cinq ans, soit 18% des neuf millions de moins de cinq ans qui meurent chaque année dans le monde [3]. En Algérie, 19% des décès des enfants de moins de 5 ans sont causés par la pneumonie dont la moitié par le pneumocoque [4].

L'hygiène et les antibiotiques ont constitué des armes d'une remarquable efficacité dans la maîtrise des maladies infectieuses, mais l'utilisation d'antibiotiques et d'agents antimicrobiens a également pour résultat une résistance accrue à ces agents. Du fait que les bactéries deviennent résistantes aux agents microbiens plus anciens, plus largement utilisés.

Une des démarches possibles pour pallier le problème de résistance des bactéries aux antibiotiques est de développer des inhibiteurs de nouvelles cibles non encore exploitées en antibiothérapie. A ce titre deux métalloprotéases, la peptide déformylase et la méthionine aminopeptidase, sont apparues comme des cibles privilégiées car impliquées dans la maturation des protéines chez les bactéries en participant au processus d'excision de la N-formyl méthionine terminale.

La peptide déformylase est une enzyme essentielle chez une grande variété de microorganismes pathogènes mais qui n'est pas requise pour la synthèse protéique cytoplasmique chez les eucaryotes et constitue ainsi une cible potentielle intéressante pour les agents antimicrobiens [5].

Ceci démontre l'importance d'approfondir l'étude biochimique de cette enzyme dans le but de mieux comprendre le mécanisme d'action et contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs par les nouvelles approches de modélisation moléculaire. Plus précisément l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme anglo-saxon "docking"). Celui-ci consiste à prédire et à reproduire les interactions protéine-ligand [6]. Cette méthode est couramment utilisée en pharmacochimie pour l'obtention de nouveaux médicaments, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée.

L'objectif du présent travail est, dans un premier temps, de tester la fiabilité du programme FlexX utilisé dans cette étude. Dans un deuxième temps, nous nous sommes attachés à mieux comprendre les mécanismes mis en jeu dans les interactions entre l'enzyme considérée dans cette étude, la peptide déformylase, et ses inhibiteurs. Enfin, dans un troisième temps, nous avons tenté de proposer, à la lumière des résultats précédents, des structures nouvelles avec une meilleure affinité vis-à-vis de la peptide déformylase dans le but de découvrir de nouveaux antibiotiques.

CHAPITRE I : LA PNEUMONIE

CHAPITRE I : LA PNEUMONIE

1. Définition de la pneumonie :

Le terme de pneumonie désigne une atteinte inflammatoire d'origine infectieuse des structures du poumon profond [7].

La pneumonie se présente sous beaucoup de formes différentes dont le spectre de gravité varie grandement. Il y en fondamentalement 4 types [2] :

- **la pneumonie extra-hospitalière ou communautaire :**

Elle est la forme de pneumonie la plus courante. Elle est causée par des bactéries, des virus et d'autres organismes acquis hors d'un hôpital. La majorité (70-80%) des pneumonies communautaires sont d'origine bactérienne.

- **la pneumonie hospitalière ou nosocomiale :**

Elle se déclare au moins 48 heures après l'admission dans un établissement hospitalier. Elle peut être déclenchée par des bactéries ou d'autres organismes habituellement différents de ceux qui sont à l'origine de la pneumonie extra-hospitalière. Les pneumonies sont au deuxième rang (20%) des infections nosocomiales après les infections urinaires; elles affectent 1% des patients hospitalisés. En réanimation, l'incidence varie selon la provenance, la ventilation ou non des patients étudiés. La mortalité est élevée, de 20% à 50% des cas, ce qui place les pneumonies en tête des causes de décès par infection nosocomiale.

- **la pneumonie d'aspiration :**

Outre les maladies infectieuses, la pneumonie peut être causée par des substances chimiques qui pénètrent dans les poumons et y provoquent de l'inflammation. La pneumonie par aspiration est provoquée par l'inhalation de liquides ou d'autres agents irritants dans les poumons, la plus courante est celle qui est causée par l'inhalation du contenu de l'estomac après des vomissements, les bactéries présentes dans ce liquide atteignent alors les bronches et les alvéoles pulmonaires et causent une infection.

- **la pneumonie opportuniste :**

Elle atteint les personnes qui ont un système immunitaire affaibli (par ex. par le SIDA, un cancer, une greffe d'organe). Les organismes qui causent ce type d'infections ne nuisent habituellement pas aux personnes jouissant de systèmes immunitaires sains.

On distingue aussi les pneumonies en fonction de la partie des voies respiratoires inférieures qui est atteinte. Par exemple, si les lobes des poumons sont infectés, on parle de *pneumonie lobaire*. Le terme *bronchopneumonie* indique que les alvéoles pulmonaires adjacentes aux bronches sont infectées [8,9].

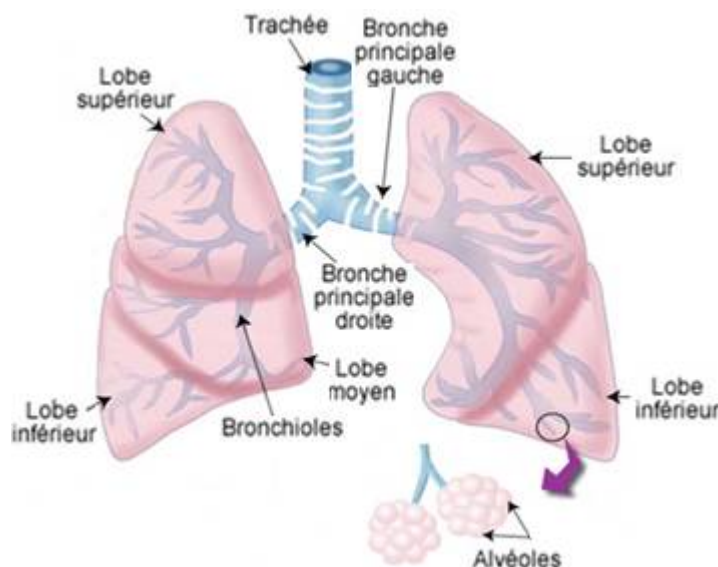


Figure I-1: Structure du poumon.

2. Épidémie de la pneumonie :

La pneumonie est une maladie courante dans toutes les régions du monde. Sa mortalité est la sixième cause de décès et la première cause de décès par pathologies infectieuses [7,10]. L'Organisation Mondiale de la Santé et le Fonds des Nations Unies pour l'Enfance ont déclaré en novembre 2010 que la pneumonie est la première cause de mortalité infantile, elle tuera chaque année 1,6 million d'enfants de moins de cinq ans, soit 18% des neuf millions des décès dans ce groupe d'âge à l'échelle mondiale [3].

19% des décès des enfants de moins de 5 ans en Algérie sont causés par la pneumonie, et la moitié de ces pneumonies est causée par le pneumocoque. C'est ce qui a été affirmé lors d'un sommet maghrébin sur le pneumocoque à Marrakech qui est organisé par les laboratoires Pfizer le 12 février 2011 [4].

3. Étiologie de la pneumonie:

La pneumonie peut varier de légère à grave, et peut même être mortelle. La gravité dépend du type de l'organisme causant la maladie. Les formes sévères de pneumonie sont principalement dues à *Streptococcus pneumoniae* [10]. *Haemophilus influenzae* de type b est un autre agent pathogène bactérien fréquemment responsable. Enfin, d'autres pneumonies peuvent être provoquées par des virus, des bactéries moins courantes ou des champignons.

3.1. Les bactéries :

Plus de 60% des cas de pneumonie sont dus à des bactéries [2,10] :

- **La pneumonie à pneumocoques :**

Streptococcus pneumoniae est l'agent infectieux le plus couramment incriminé dans les cas graves de pneumonie. Il représente 2/3 des pneumopathies bactériennes [2,11]. Cette bactérie fait partie de la flore normale des voies respiratoires, mais elle peut devenir pathogène.

Streptococcus pneumoniae est une bactérie sphérique (coccus) à Gram positif. Comme les cocci sont généralement regroupés par paires. Les paires de bactéries sont entourées d'une capsule dense qui les rend résistantes à la phagocytose [12], les pneumocoques encapsulés peuvent alors se multiplier et envahir les tissus pulmonaires [8]. La pneumonie à pneumocoques atteint à la fois les bronches et les alvéoles pulmonaires. En réaction à l'infection, les alvéoles se remplissent d'érythrocytes, de granulocytes neutrophiles et de liquide provenant des tissus adjacents ; l'altération des alvéoles réduit les échanges gazeux, ce qui peut entraîner une détresse respiratoire (Figure I-2). Les crachats sont fréquemment de couleur rouille, car ils contiennent du sang expulsé des poumons [10].

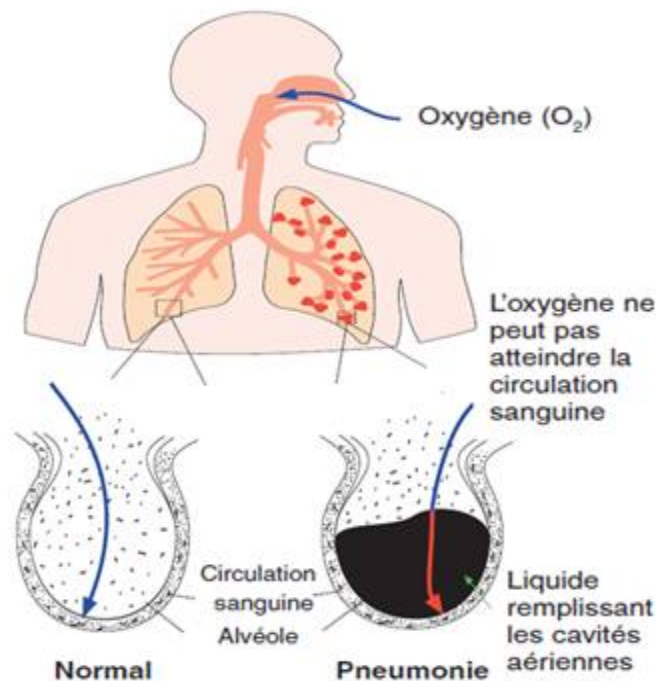


Figure I-2: la pneumonie.

- **La pneumonie à *Haemophilus influenzae* :**

Haemophilus influenzae est un coccobacille à Gram négatif que l'on trouve dans la flore normale des voies respiratoires de porteurs sains [8]. Selon l'OMS l'*Haemophilus influenzae* de type b, est une bactérie responsable de quelque 3 millions de cas de maladies graves et

d'environ 386 000 décès par an, principalement dus à des méningites et à des pneumonies. Les victimes sont presque toutes des enfants de moins de cinq ans [13].

Cette infection par *Haemophilus influenzae* représente 5 à 20 % des infections pulmonaires communautaires, et est une des causes principales d'hospitalisation des pneumonies [9].

- **Autres pneumonies bactériennes**

On découvre de plus en plus de bactéries responsables de pneumonies ; les plus importantes sont *Legionella pneumophila* (elle est responsable de 1 à 5 % des pneumonies aiguës communautaires, et de 1 à 40% des pneumonies nosocomiales), *Mycoplasma pneumoniae* (elle est responsable de 10 % à 15 % des pneumonies communautaires) , *Staphylococcus aureus* (représente moins de 5 % des pneumonies communautaires mais 10 % des pneumonies nosocomiales), *Klebsiella pneumoniae* (elle est responsable de 1 à 5 % des pneumonies lobaires communautaires, et de près de 30 % des pneumonies nosocomiales), *Pseudomonas aeruginosa* (la plus fréquente et la plus grave des pneumonies nosocomiales), *Streptococcus pyogenes* (ne représente que 1 % des pneumonies chez l'adulte) et *Chlamydia pneumoniae* [2,9].

3.2. Les virus :

Les virus causent souvent des infections respiratoires qui affectent surtout les voies respiratoires supérieures. Certains virus peuvent cependant affecter les poumons et provoquer une pneumonie, surtout chez les enfants [2,9,14].

4. Traitement :

4.1. Traitement de la pneumonie bactérienne :

Les antibiotiques sont utilisés pour traiter la pneumonie bactérienne, le choix des antibiotiques dépend du micro-organisme pathogène et de sa sensibilité aux antibiotiques connus :

- *L'amoxicilline* à dose élevées est l'antibiotique de premier choix lorsqu'un pneumocoque est l'agent étiologique le plus probable [15-18].
- L'association *amoxicilline* + *acide clavulanique* (*co-amoxiclav*) est un choix raisonnable en cas de suspicion d'une infection par *l'Haemophilus influenzae* [15,18,19].
- Les quinolones récentes *lévofloxacine* et *moxifloxacine* peuvent être envisagées dans le traitement de la pneumonie chez les patients avec une allergie aux antibiotiques β -lactamines [18,19].
- En cas de suspicion de pneumocoques résistants, le traitement est basé sur les *céphalosporines du troisième groupe* [18,19].

- Un *néomacrolide* ou un *fluoroquinolone* doit être associé à l'*amoxicilline* lorsqu'une pneumonie atypique est suspectée [17,18,19].

La durée du traitement de la pneumonie acquise en communauté est généralement de 5 à 10 jours

4.2. Traitement de la pneumonie virale :

Plusieurs types de virus peuvent causer la pneumonie virale. La plupart des cas de pneumonie virale sont bénins et guérissent sans traitement. Mais certains cas plus graves nécessitent une hospitalisation. Les cas sérieux peuvent être traités avec des médicaments antiviraux [9].

4.3. La vaccination :

Selon l'OMS la vaccination contre *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* type b a réduit l'incidence de la pneumonie dans différentes situations, respectivement de 30 % environ (entre 20 et 37 %) et de 20 % environ (entre 12 et 55 %) [11].

5. Résistance aux antibiotiques utilisés:

La résistance bactérienne aux antibiotiques se caractérise par son caractère naturel ou acquis.

5.1. Sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques :

Le pneumocoque est une espèce naturellement sensible à la plupart des antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram positif [7,10,17]. L'acquisition de résistances vis-à-vis de ces familles d'antibiotiques représente un problème de santé publique.

La pénicilline G représentait avec les aminopénicillines, le traitement de choix des infections dues à *Streptococcus pneumoniae* jusqu'au début des années 1970 où les 1^{ers} souches résistantes à la pénicilline G ont été rapportées en Australie [20,21,22].

Depuis la description de ces souches, la résistance du pneumocoque à la pénicilline G n'a cessé de progresser partout dans le monde avec l'apparition de souches multi résistantes [23].

L'augmentation de l'incidence des souches de sensibilité diminuée à la pénicilline est régulière, passant de 1 % en 1986, à 12 % en 1990, 20,1 % en 1992, 32,1 % en 1994, 44 % en 1999 et 55,4 % en 2001 [24], pour redescendre à 38 % en 2006 [25].

Streptococcus pneumoniae possède six protéines de liaison à la pénicilline (PLP). La résistance aux bêta-lactamines résulte de modifications qualitatives et quantitatives des PLP, ces modifications sont d'origine chromosomique. Une résistance significative à la pénicilline G implique souvent au moins trois PLP altérées [7,10].

Cette résistance ne se limite pas aux bêta-lactamines, mais elle touche d'autres familles d'antibiotiques. La résistance aux β -lactamines est associée dans plus de 50 % des cas à la résistance à une ou plusieurs familles d'antibiotiques [10].

5.2. Les conséquences de cette résistance :

Elles sont graves. Les infections provoquées par des germes résistants ne réagissent pas aux traitements, ce qui entraîne la prolongation de l'état pathologique et l'accroissement du risque de décès. Les échecs thérapeutiques allongent également la période de contagiosité, ce qui augmente le nombre de personnes infectées en circulation dans les collectivités et expose l'ensemble de la population au risque de contracter une infection à souches résistantes.

Face à l'évidence de l'augmentation des taux de résistance parmi de nombreuses espèces bactériennes pathogènes, le besoin permanent du développement de nouveaux antibiotiques est évident. Pour cela plusieurs molécules appartenant à des classes d'antibiotiques connues sont en cours de développement par l'amélioration de leurs spectres d'action. C'est le cas par exemple de nouveaux fluoroquinolones (délafloraxine, zabofloxacin et prulifloxacin), des nouvelles céphalosporines à large spectre (ceftobiprole et ceftaroline) [26]. De nouvelles familles d'antibactériens avec des mécanismes d'action originaux sont aussi en cours d'étude, comme les inhibiteurs de la peptidase-déformylase [27,28].

CHAPITRE II : LA PEPTIDE DÉFORMYLASE

CHAPITRE II : LA PEPTIDE DÉFORMYLASE

1. La fonction biologique de la peptide déformylase:

Le mécanisme universel de synthèse des protéines impose que toutes les protéines débutent par une méthionine. Pourtant cette première méthionine sera le plus souvent clivée alors que la protéine est encore en cours de synthèse. Le mécanisme d'excision de la méthionine N-terminale (NME) est responsable de cette modification co-translationnelle [29].

Dans le cytoplasme eucaryote la NME est assurée par une activité méthionine aminopeptidase. Chez les eubactéries, où la méthionine initiatrice est N-formylée, il existe une activité peptide déformylase (PDF, EC 3.5.1.88) supplémentaire (Figure II-1). L'activité de la méthionine aminopeptidase bactérienne est alors subordonnée au clivage antérieur du groupement N-formyle par la PDF. La fonction de la NME est essentielle chez les bactéries. Ce processus est actuellement la cible de plusieurs drogues à effets thérapeutiques [29].

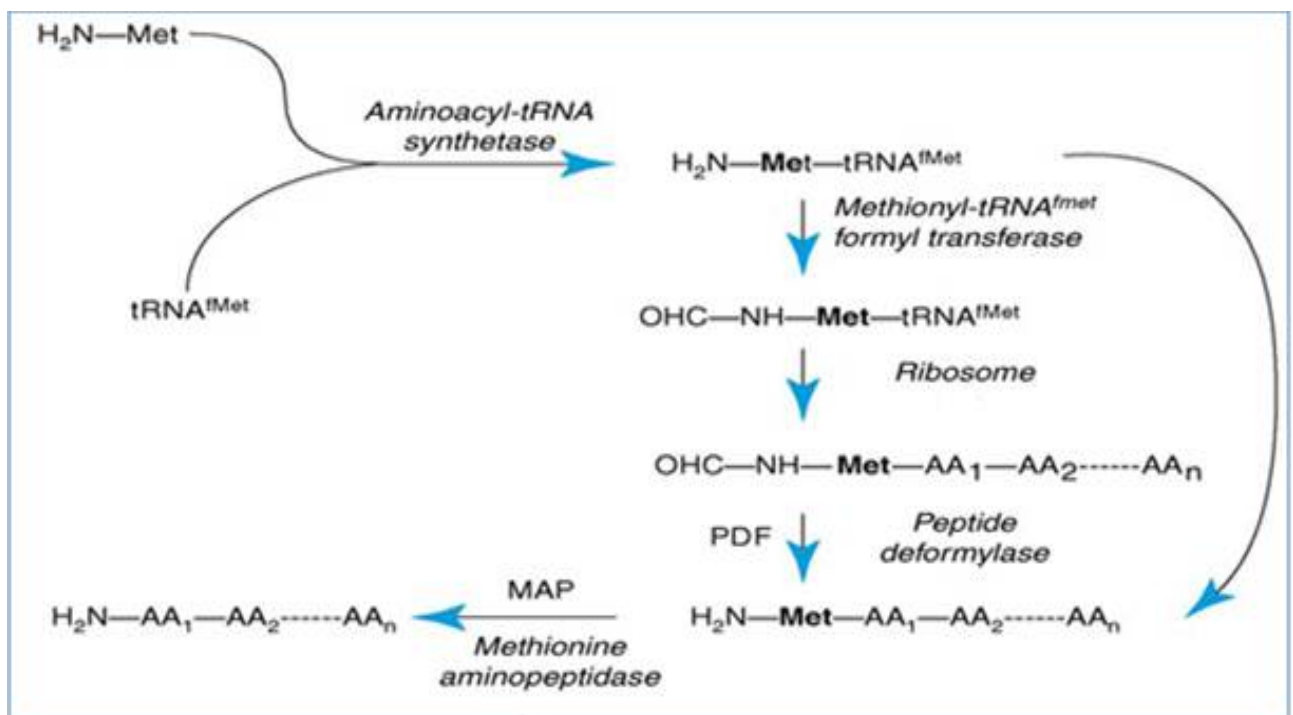


Figure II-1: La synthèse protéique chez les bactéries.

Les récents séquençages des génomes eucaryotes ont révélé la présence de séquences des homologues de PDF dans les chromosomes nucléaires de parasites, des plantes, des mammifères ainsi que des êtres humains, ces homologues sont spécifiquement adressées vers les organites [29].

Bien que l'activité de la PDF bactérienne ait été décrite en premier en 1968 [30], l'incapacité de purifier cette enzyme a empêché les tentatives de sa caractérisation jusqu'au clonage du gène codant la PDF, le *def* de *E.coli*, en 1993[31]. Depuis, les gènes *def* de plusieurs espèces bactériennes ont été clonés.

La PDF bactérienne utilise le Fe^{2+} comme l'ion métallique catalytique [32,33]. Cependant, l'ion ferreux de la PDF est très instable, il est rapidement et irréversiblement oxydé en ion ferrique à l'air libre, rendant ainsi l'enzyme inactive [33]. Heureusement, le fer peut être remplacé par le nickel (Ni^{2+}) ou le cobalt (Co^{2+}) in vitro, entraînant ainsi une très grande stabilité de l'enzyme avec une faible diminution de l'activité enzymatique [34].

2. Classification des PDFs :

A partir des analyses phylogénétiques des différentes séquences des PDFs bactériennes et des PDFs homologues, il a été conclu que les PDFs peuvent être divisées en trois classes majeures : PDF1, PDF2 et PDF3. Les eucaryotes sont de type 1; les procaryotes sont soit de type 1 ou 2, tandis que les Archaea et les Trypanosomatida sont de type 3 [35-37].

- **La classe I (PDF1):** elle peut être divisée en deux sous classes :
 - **PDF1A :** Représente les PDFs homologues des eucaryotes, sont spécifiquement exportées vers les mitochondries [29]. Contrairement aux PDFs1B, qui sont spécifiques aux plantes, les PDFs1A se trouvent dans presque tous les eucaryotes.
 - **PDF1B :** cette sous classe est représentée par les PDFs trouvées dans les mitochondries et les chloroplastes des plantes [29] et par les PDFs bactériennes (en général les bactéries Gram-négatives) [35].
- **La classe II (PDFs2) :** appartiennent exclusivement à des bactéries (bactéries Gram-positifs) [31].

Les séquences de type 2 ont entre 30% et 36% de similitude avec les séquences de type 1 [38].
- **La classe III (PDFs3) :** correspondent à des PDFs des Archaea et Trypanosomatida. Ces PDFs n'ont pas une activité déformylase, due à des substitutions d'acides aminés dans les trois motifs conservés [39].

<i>Haemophilus influenzae</i> Rd	MTA	LNVL IYPDDHLKVVCEP VTKV	NDAIRKIVDDMFD T
<i>Neisseria meningitidis</i> MC58	MAL	LNIL QYPDERLHTVAKP VEQV	DERIRKLIADMF ET
<i>Vibrio cholerae</i> El tor N16961	MAV	LEILT APDPRLRVQSKQ VTDV	ASVQTLIDDL LDT
<i>Escherichia coli</i> H7	MSV	LQVL HIPDERLRK VAKPVEEV	NAIQIRIVDDM FET
<i>Staphylococcus aureus</i> N315		MLTMKDIIRDGHPTLRQKAAE LELPLTK EEKETLIAMREF	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> M129		MELLPTKAWLVLDV KEINEPTKPVQFPLD QASLDCIAKM MAY	
<i>Bacillus subtilis</i>		MITMENIVRDGHPALRETAEP VELDPTD AEKQQLAD MI EF	
<i>Enterococcus faecalis</i> V583		MITMKDIIREGNPTLR AVAEV VP PI TEEDRQLGED ML TF	
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>		MISMDDIIREGYPTLRE VANDVTLPL SD EDI ILGEK MLQ F	
<i>S. pyogenes</i> SF370		MSAQDKLIKPSHLIT MDDIIREGNPTLR AVAKE VS LP LC DEDILLGEK MMQ F	

Motif 1		GΦGΦAA XQ	
<i>H.i.</i>	MY	QEK GIG LAAPQ VD ILQRIIT D VEGD	KQNQ F
<i>N.m.</i>	MY	ESR GIG LAATQ VD VHERVV MD L T ED	RSEPR
<i>V.c.</i>	LY	ATDN GIG LAAPQ V GREEAIV VD LSDN	RDQPL
<i>E.c.</i>	MY	AEE GIG LAATQ VD IHQRIIV D VSEN	RDERL
<i>S.a.</i>		LVNSQDEEIAKRYGLRSG VGLA APQINIS K RMI AVL IPDDG S G	KSYDY
<i>M.p.</i>		VDAS Y NGD AE KYGIIP GIG IAANQIGY W KQMFYIHLMD G G	VEH KC
<i>B.s.</i>		VKNSQNP E LAEKYKLR PGV GLAAPQINIK K RMI AV HAED S G	KLY SY
<i>E.f.</i>		LKNSQDPV KAE ELQLR GGV GLAAPQ L DIS K RI IA VHVP S NDPEN E T	PSL ST
<i>L.l.</i>		LHNSQDPV MAE KMGLR GGV GLAANQ L GLL K KVIAV L IPNEPEVDE D GN E I	PPKEA YKMRE
<i>S.p.</i>		LKHSQDPV MAE KLGLR AGV GLAAPQ I DV S KRI IA VLVP HL PK B GN	PPKEA YS W QE

Motif 2		EGCΦS	
<i>H.i.</i>		VLIN PEILASE GETGI EEG CL S IPGFR ALVPRKE K VTVRALD RDG KEFTLDADGL LA IC	
<i>N.m.</i>		VFIN PVIVEKD GETTY EEG CL S VPGIY D IV TRAER V KVEALN EK GEK PT LEADGL LA IC	
<i>V.c.</i>		VLIN PKVVSGS NKEMG QEG CL S VPD Y Y AD V ERYTS V VVEALD REG KPLRIETS D FL AI V	
<i>E.c.</i>		VLIN PELLEKS GETGI EEG CL S IP E QR ALVPR A E K VKIRALD RDG K P FELEADGL LA IC	
<i>S.a.</i>		MLVNPKIVSHSVQEAYLPT GEG CL S VDDNVAGLVH R HN R ITIKAKD IEG NDIQLRLKGYP AI V	
<i>M.p.</i>		LLINPKIINLSANKSFLKS GEG CL S VPKMH Q GYVIRHEWITITG F DWLQ Q KEITITAT Q LC F CMC	
<i>B.s.</i>		ALFNDPKIVSHSV E KSYLTS GEG CL S VDEAIPGYVPR Y ARIRVK G TT LEG ENIDIRLKGFP AI V	
<i>E.f.</i>		VMYNPKILSHSVQDVCLG EGEG CL S VDRD V PGYVVR H NKITVSY F D MAGE KHKVRLK NYE AI V	
<i>L.l.</i>		IMYNAKVVSHSVQDA A VEGG GEG CL S VDR E VPGYVVR H ARVT VE YYN KEG EKKIRL KD FPAIC	
<i>S.p.</i>		VLYNPKIVSHSVQDA A LS D G GEG CL S VDR V EGYVVR H ARVT VD YYD KEG Q Q HR IK LKG Y NA I V	

Motif 3	HEΦDH	
<i>H.i.</i>	IQHE IDHLNGIL F VDYL	SPL KRQRI K E K L I KY K Q I AK S
<i>N.m.</i>	VQHE LDHLMG I V F VERL	SQ L K Q C R I K T K L K R Q K H T I
<i>V.c.</i>	MQHE IDHLSGN L FIDYL	SPL K Q Q M AM K V K H V KN R AR
<i>E.c.</i>	IQHE MDHLVG L FMDYL	SPL K Q R I R Q X VE K L D R L K A R A
<i>S.a.</i>	FQHE IDHLNGVMFYDHIDKNH P L Q PHTDA V EV	
<i>M.p.</i>	LQHE FDHLQGRFY Y HRINPL N PL F T N KEW K VIN P AL P SD S E	
<i>B.s.</i>	FQHE IDHLNGVMFYDHIDKEN P F K EPEN A IA I ER	
<i>E.f.</i>	VQHE IDH I NGIMFYDHINKEN P F A L K EG V L V IE	
<i>L.l.</i>	VQHE IDHTNGVMFYDHIN M ND P WE I K D G M I V K	
<i>S.p.</i>	VQHE IDH I NG V L F YDRINAK N P F ET K E L L I L D	

Figure II-2: Alignement des séquences de la PDF classe I et II d'après Baldwin E. T *et al.* (2002) [40]. Cette figure montre l'alignement des séquences de PDF bactérienne provenant d' *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Lactococcus lactis* et *Staphylococcus pyogenes*.

3. Le site actif de la PDF :

Les fonctions de la plupart des protéines résultent de la capacité de ces dernières à reconnaître d'autres molécules en se liant à elles. Une telle reconnaissance dépend de sites de liaison tridimensionnels spécifiques susceptibles d'établir des interactions multiples avec le ligand.

L'alignement de séquences de la peptide déformylase d'eubactéries révèle trois régions conservées, GΦGΦAAxQ, EGCΦS, et HEΦDH (Φ est un acide aminé hydrophobique et x un acide aminé quelconque), qui sont censées former le site catalytique de l'enzyme [41,42]. Le métal du site actif est lié de manière tétraédrique à 2 Histidines du motif conservé HEΦDH et une Cystéine du motif EGCΦS et une molécule d'eau [42,43].

La glutamine de la région GΦGΦAAxQ et le glutamate de la région HEΦDH qui sont conservés dans les différentes PDFs jouent un rôle important dans la fonction catalytique de cette enzyme, car leurs chaînes latérales sont directement impliquées dans la reconnaissance de groupement formyle du substrat [44-47].

Le site actif de la PDF peut être divisé en trois zones principales, les poches S1', S2', S3'. La structure de l'enzyme avec le formyl-Met-Ala-Ser comme substrat révèle que la chaîne du substrat, du côté de la méthionine, s'incruste soigneusement dans la poche S1', qui est une poche hydrophobe [48]. La comparaison des structures des PDFs de différentes espèces bactériennes suggère que la poche S1' garde la même forme dans toutes les enzymes, bien que différents résidus revêtissent la poche dans chaque cas [49]. Les PDFs de toutes les espèces bactériennes ayant besoin d'éliminer le groupement formyle, il n'y a pas de surprise à ce que toutes ces enzymes aient une poche similaire pour recevoir la chaîne latérale de la méthionine.

Les poches S2' et S3' ne sont pas bien définies, mais dans les structures tridimensionnelles, la poche S2' des PDF de type 1 est légèrement plus vaste que celle des PDF de type 2 [37]. Les résidus d'acides aminés formant le revêtement de la cavité S2' diffèrent selon les espèces, mais la nature chimique de la totalité de la cavité demeure la même pour toutes les PDFs [48].

Au contraire, les cavités S3' des PDF de différentes espèces, présentent une grande variation avec des différences qui altèrent la forme et la nature chimique de la poche [48]. Le degré variable de conservation de la structure au niveau des poches de liaison avec le substrat peut permettre la différenciation entre les inhibiteurs spécifiques et les inhibiteurs à large spectre. Il est probable que les inhibiteurs à large spectre pourraient être désignés à condition que l'énergie de liaison provienne principalement des interactions avec des sites invariables des poches de liaison, tandis que les inhibiteurs spécifiques à certaines espèces pourraient résulter d'une focalisation sur les interactions avec des domaines variables [48].

4. La PDF des eucaryotes :

Les homologues humains sont des PDF1A (HsPDF), spécifiquement exportées vers les mitochondries [29]. Elles possèdent une activité déformylase faible [50,51]. L'alignement de la séquence d'acides aminés de HsPDF avec d'autres formes de PDF montre que la HsPDF a une identité significative de 30 à 40 % aux autres PDFs [38,52,53].

La comparaison des séquences des PDFs animales avec celles de leurs homologues bactériennes et végétales fait apparaître chez les formes animales la présence de nombreuses substitutions dans des motifs qui sont strictement conservés chez toutes les PDFs [38], qui est impliqué dans le site actif des PDFs et dans des fonctions catalytiques et structurales majeures.

Les trois motifs GΦGΦAAxQ, EGCΦS, et HEΦDH sont conservés dans tous les pdfs, mais l'alignement des séquences protéiques de HsPDF et des autres mammifères suggèrent des différences dans les motifs CΦGΦSAPQ et EGCES [38]. Ces différences pourraient être utilisées comme base pour améliorer les inhibiteurs des pdfs pour les utiliser dans les traitements des infections bactériennes chez les êtres humains.

5. Inhibiteurs de la PDF bactérienne :

Tous les inhibiteurs de la PDF identifiés jusqu'ici contiennent une partie qui se lie à l'ion métallique au niveau du site actif de l'enzyme. Les futurs inhibiteurs doivent garder le groupement hydrophobe en position P1', lequel limite la chaîne latérale de la méthionine, afin d'occuper la cavité S1' de l'enzyme et contribuer à l'affinité de la liaison. Au contraire, il y a plus d'opportunité à faire varier les domaines destinés à occuper les cavités S2' et S3'. Les inhibiteurs actuels de la PDF se distinguent, en effet, par des différences au niveau de ces régions qui resteront les parties critiques dans la détermination de la sélectivité des futurs inhibiteurs.

6. Les différentes classes d'inhibiteurs :

6.1. Les inhibiteurs naturels :

6.1.1. Actinonin :

L'actinonin est un antibiotique naturel, il a été isolé pour la première fois en 1962 à partir d'un actinomycète [54]. Il a une activité antimicrobienne *in vitro* contre un large spectre des bactéries Gram-positives et Gram-négatives [55], cette puissante activité antibactérienne ne se traduit pas *in vivo* et cela est vraisemblablement dû à de mauvaises propriétés

pharmacocinétiques [55]. L'identification de l'actinonin comme un puissant inhibiteur de la PDF a été la clé dans le développement des nouveaux inhibiteurs [56].

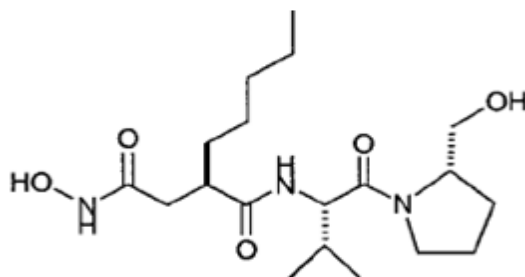


Figure II-3: Structure chimique de l'actinonin.

6.1.2. Macrolactin N :

Est un inhibiteur naturel de la PDF, produit par *Bacillus subtilis*. Il est actif contre la PDF de *S. aureus* et d'*E. coli* [57].

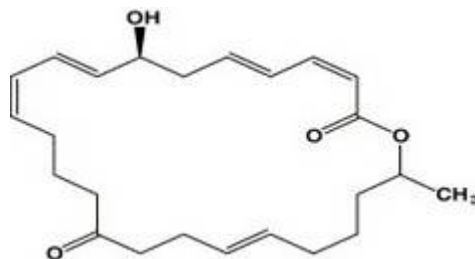


Figure II-4: Structure chimique de la macrolactin N.

6.2. Les inhibiteurs synthétiques :

Se basant sur le mécanisme de la réaction catalysée par la PDF, une structure générique d'un inhibiteur de la PDF (Figure II-5) a été proposée [58].

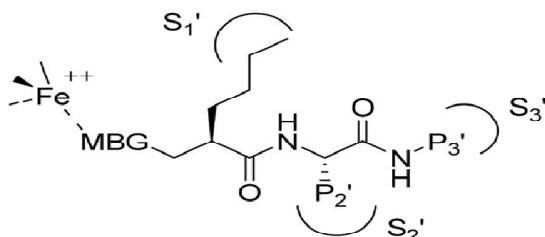


Figure II-5: Structure générale proposée pour les inhibiteurs de la PDF.

- MBG (*Metal Binding Group*): représente le groupement chélateur qui sera le composant crucial à pourvoir l'énergie de liaison.
- P₂' et P₃' sont les régions de l'inhibiteur qui peuvent fournir une énergie de liaison additionnelle, une sélectivité, et des propriétés pharmacocinétiques favorables.

Depuis la production, en quantité suffisante, de la PDF d'*E. coli*, en 1996 [49], les structures de plusieurs types d'inhibiteurs de la PDF ont été rapportées. Tous les inhibiteurs de la PDF,

publiés à ce jour, possèdent une fonction à une des extrémités de leur molécule qui peut se lier à l'ion métallique de l'enzyme pour former un chélate. Sur la base de la structure de chélateur les inhibiteurs de la PDF peuvent être classés de la manière suivante :

6.2.1. Des inhibiteurs utilisant comme groupement chélateur l'hydroxamate ou la N-formyl-N-hydroxylamine :

Généralement les membres de cette classe possèdent une activité antibactérienne significative *in vitro*. La plupart d'entre eux ne traduisent pas ses activités antibactériennes *in vivo* et cela est vraisemblablement dû à de mauvaises propriétés pharmacocinétiques (Figure II-6) [59,60]. Un faible nombre d'inhibiteurs de la PDF sont actifs *in vivo* (Figure II-7) [61-66].

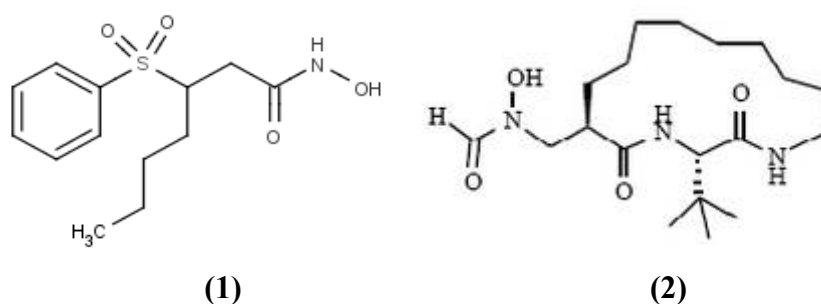


Figure II-6: Structures chimiques des inhibiteurs de la PDF possédant une activité antibactérienne *in vitro*.

(1) 3-(benzenesulfonyl)-N-hydroxyheptanamide

(2) N-[(3S,6R)-3-tert-Butyl-2,5-dioxo-1,4-diaza-cycloheptadec-6-ylmethyl]-N-hydroxyformamide

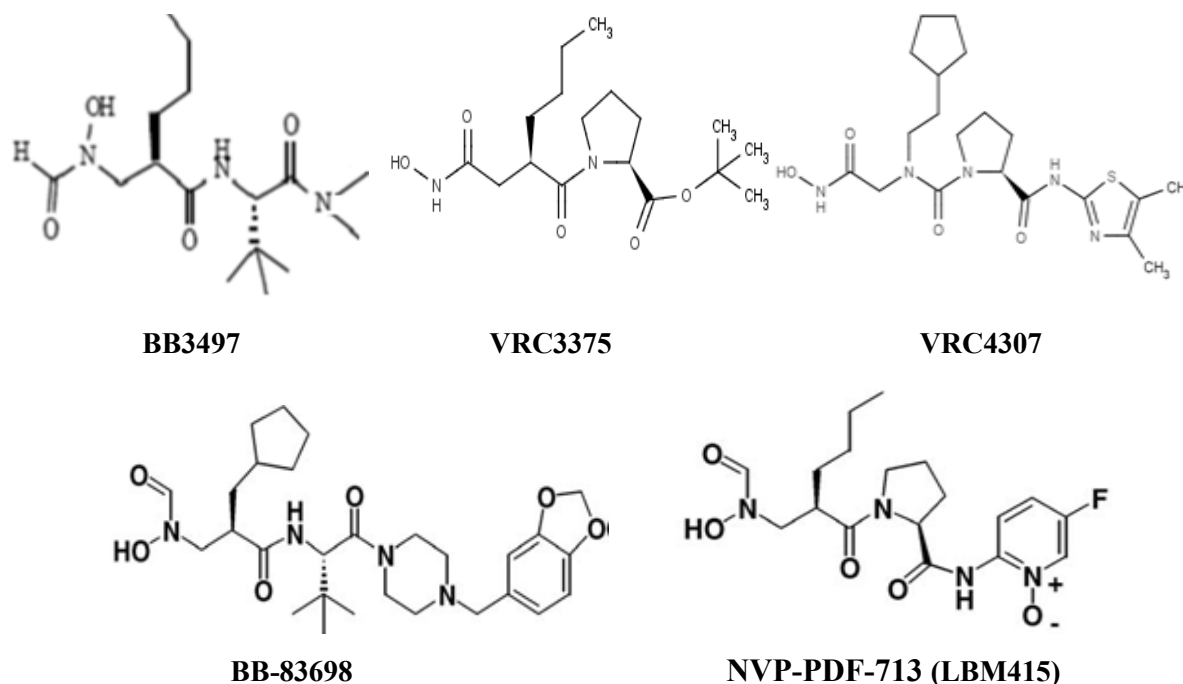


Figure II-7: Structures chimiques des inhibiteurs de la PDF actifs *in vivo*.

BB3497: 2-[(formyl-hydroxy-amino)-methyl]- acid hexanoic (1-dimethylcarbamoyl-2,2-dimethyl-propyl)-amide.

VRC3375: tert-butyl (2S)-1-[(2R)-2-[2-(hydroxyamino)-2-oxoethyl]hexanoyl]pyrrolidine-2-carboxylate.

VRC4307: (2S)-2-N-(4,5-dimethyl-1, 3-thiazol-2-yl)-1-N-[2-(hydroxyamino)-2-oxoethyl]-1-N-(3-methylbutyl) pyrrolidine-1,2-dicarboxamide.

BB-83698 : (2R)-N-[(2S)-1-[4-(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)piperazin-1-yl]-3,3-dimethyl-1-oxobutan-2-yl]-2-(cyclopentylmethyl)-3-[formyl(hydroxy)amino]propanamide.

NVP-PDF-713 (LBM415) : N-(5-fluoro-1-oxidopyridin-2-yl)-1-[(2R)-2-{{formyl(hydroxy)amino}methyl}hexanoyl]-L-prolinamide.

6.2.2. Des inhibiteurs utilisant des chélateurs autres que l'hydroxamate ou la N-formyl-N-hydroxylamine :

Plusieurs inhibiteurs avec d'autres chélateurs ont été étudiées : les thiols, les phosphonates, les carboxylates et les aldéhydes (Figure II-8) [67-69]. Généralement ces composés sont essentiellement dénués d'une activité antibactérienne significative.

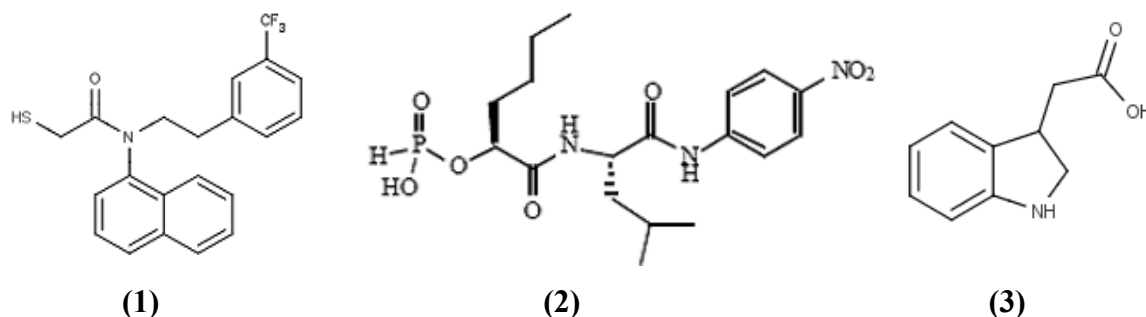


Figure II-8: Structure chimique des inhibiteurs de la PDF utilisant des chélateurs autres que l'hydroxamate ou la N-formylhydroxylamine.

(1) N-naphthalen-1-yl-2-sulfanyl-N-[2-[3-(trifluoromethyl)phenyl]ethyl]acetamide.

(2) [(1-{{(1S)-3-methyl-1-[(4-nitrophenyl)carbamoyl]butyl}carbamoyl}pentyl)oxyl]phosphinic acid.

(3) 2-(2,3-dihydro-1H-indol-3-yl)acetic acid

Tableau II-1: les principaux inhibiteurs de la pdf possédant une activité antibactérienne

Inhibiteurs	IC ₅₀ (nM)	CMI (µg/ml)	Réf
Actinonin	<i>E. coli</i> (6-10) <i>S. aureus</i> (17) <i>H. influenzae</i> (11)	<i>S. aureus</i> (32) <i>S. pneumoniae</i> (32) <i>H. influenzae</i> (2) <i>E. coli</i> (> 64)	[37,55,62]
BB-3497	<i>E. coli</i> (7)	<i>S. aureus</i> (4-16) <i>S. pneumoniae</i> (8) <i>H. influenzae</i> (0.25)	[62,63]
VRC 3324	<i>E. coli</i> (12)	<i>S. aureus</i> (1-2) <i>S. pneumoniae</i> (1) <i>H. influenzae</i> (1-4)	[61]
VRC 4307	<i>E. coli</i> (2) <i>S. pneumoniae</i> (8)	<i>S. aureus</i> (0.5-1) <i>S. pneumoniae</i> (1) <i>H. influenzae</i> (2-4)	[64]
VRC 3375	<i>E. coli</i> (4)	<i>S. aureus</i> (1-4) <i>S. pneumoniae</i> (8-32) <i>H. influenzae</i> (2-4)	[61]

IC₅₀ : La concentration inhibitrice à 50%

CMI: La concentration minimale inhibitrice

Les inhibiteurs de la PDF montrent une puissante activité contre de nombreux agents pathogènes, parmi les quels ceux impliqués dans les infections communautaires des voies respiratoires [70] : *Streptococcus pneumoniae* [28,71], *Moraxella catarrhalis* et *Haemophilus influenzae* [70,72,73], y compris les organismes atypiques, *Legionella pneumophila* [71,73], *chlamydia pneumoniae* [71], *Mycoplasma pneumoniae* [71,74].

6.3.Les candidats en clinique :

Deux inhibiteurs de la PDF, BB-83698 et LBM-415, ont été étudiés dans des essais cliniques :

6.3.1. Le BB-83698 :

Le BB-83698 représente le premier inhibiteur de la PDF entré dans les essais cliniques [28]. Cet inhibiteur montre une puissante activité contre *Streptococcus pneumoniae*, avec une

CMI90 = 0.5µg/ml, modérée contre *Staphylococcus aureus* (CMI90 = 8 µg/ ml) et peu d'activité contre *Haemophilus influenzae* (CMI90= 32-64 µg/ml) [65].

6.3.2. Le NVP-PDF-713 (LBM415)

LBM-415 possède un large spectre d'activité [75], il montre une puissante activité contre *Staphylococcus aureus* (CMI90 = 2 µg/ ml), *Streptococcus pneumoniae* (CMI90 = 1 µg/ ml) et une activité modérée contre *Haemophilus influenzae* (CMI90 = 8 µg/ ml) [66].

CHAPITRE III : LE DOCKING MOLÉCULAIRE

CHAPITRE III : LE DOCKING MOLÉCULAIRE

Le développement d'un nouveau médicament est un processus long et coûteux, allant de l'identification d'une cible biologique d'intérêt thérapeutique jusqu'au patient, dans lequel les essais cliniques succèdent au développement pré-clinique.

L'identification et la mise au point d'une molécule possédant l'activité biologique recherchée se fait lors du développement pré-clinique. Elles nécessitent, entre autres, l'investigation de ses propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques, et se basent de plus en plus sur des approches informatisées *in silico*, dont les résultats se retrouvent *in vitro* et *in vivo*, dans des cellules voire des organismes modèles.

L'un de ces outils informatiques est la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire. Celui-ci consiste à prédire et à reproduire les interactions protéine-ligand [6] (Figure III-1), ce qui est considérablement plus facile à mettre en oeuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales.

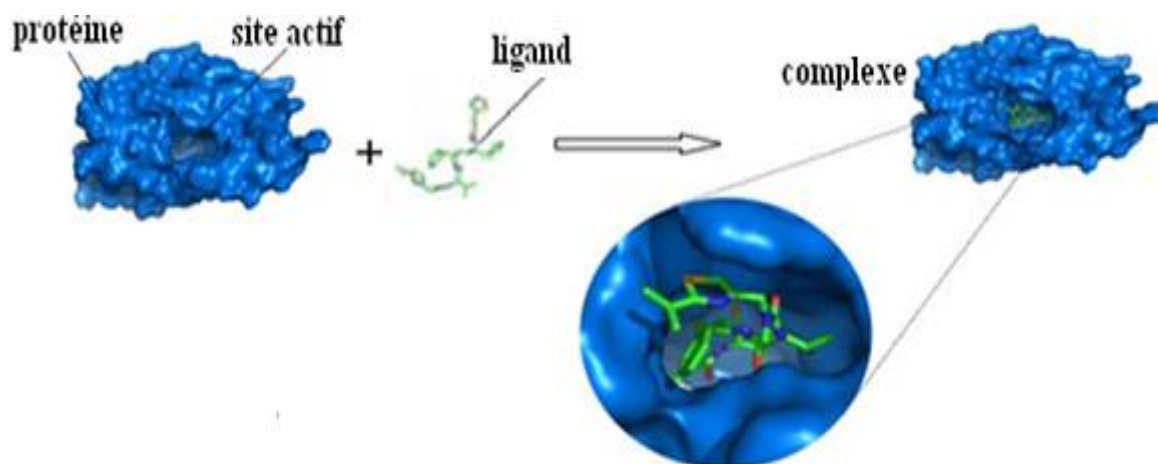


Figure III-1: Représentation schématique du docking de deux molécules.

1. Les interactions protéine-ligand :

Au niveau du site actif, le processus d'interaction se fait par liaison complémentaire du ligand avec l'architecture protéique. Cette association est assurée grâce à plusieurs types de liaisons faibles.

1.1. les différentes interactions :

- **Les interactions électrostatiques :** Elles agissent à plus grande distance entre dipôles chargés.

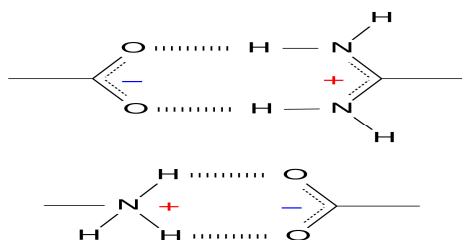


Figure III-2: Interactions électrostatiques.

- **La liaison hydrogène :** Cette liaison intervient lorsqu'un atome d'hydrogène lié à un atome électronégatif (le donneur) est attiré par un autre atome électronégatif (l'accepteur). Elle agit à très courte distance (0,8 à 2,8 Å). Les liaisons hydrogènes sont peu nombreuses et s'adaptent très bien à la flexibilité (l'angle peut varier de 120° à 180°).

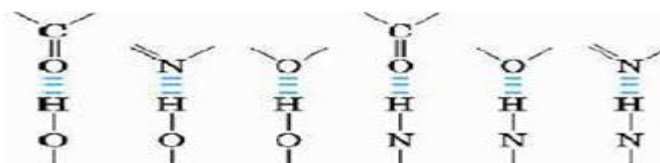


Figure III-3: liaison hydrogène.

L'orientation et la géométrie des liaisons hydrogènes contribuent à la force des liaisons hydrogènes.

- **Les interactions de Van Der Waals :** Elles résultent de l'interaction des nuages électroniques de deux atomes adjacents conduisant à la présence d'une force attractive pour des distances de 3-4 Å. Les interactions de van der Waals sont généralement faibles. Leur importance provient du nombre cumulé de liaisons créées.

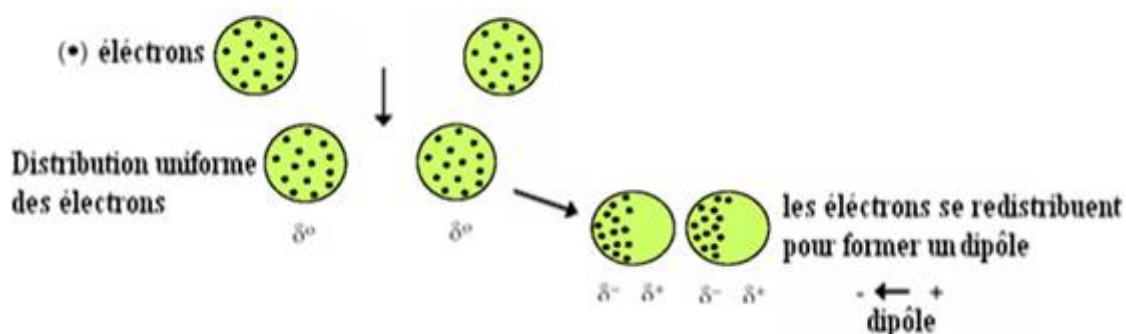


Figure III-4: Interactions de Van Der Waals.

- **Les interactions hydrophobes :** Les molécules dépourvues de groupes chargés ou d'atomes capables de former des liaisons hydrogène ne peuvent donc pas s'hydrater ; on les nomme pour cette raison substances hydrophobes. L'effet

hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence de façon à minimiser les contacts avec l'eau.

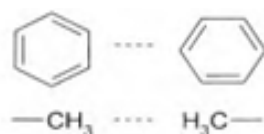


Figure III-5: Interactions hydrophobes

1.2. Implication des interactions dans la structure et la flexibilité :

Les conditions environnementales (température, pH, salinité...) affectent la stabilité et la flexibilité des biomolécules. Leur rigidité structurelle est suffisante pour préserver leur forme native spécifique ; leur flexibilité interne permet leur bon fonctionnement (activité enzymatique des enzymes...). La flexibilité est donc essentielle pour conserver leur activité biologique.

Les liaisons de faible énergie sont nécessaires à l'établissement et au maintien des conformations, de même que pour le fonctionnement des mécanismes des processus biologiques. Leur grand nombre, par effet cumulatif, leur confère un rôle capital au niveau du repliement tridimensionnel et de la stabilité des structures.

En revanche, la facilité qu'ont ces liaisons faibles à se rompre permet les interactions moléculaires caractéristiques des réactions biochimiques dont découlent les propriétés de la vie : en permanence, les molécules se reconnaissent, s'assemblent, réagissent et se dissocient. D'autre part, elles permettent une grande souplesse conformationnelle, clé de la flexibilité des molécules biologiques, et donc des capacités d'adaptation, de reconnaissance : de spécificité.

2. Le docking moléculaire :

2.1. Du docking rigide à l'introduction de la flexibilité :

L'étude du docking est une étape capitale dans la compréhension des réactions biologiques et dans la conception de médicaments. Les tentatives de docking ont longtemps été basées sur le concept *clé-serrure*, ne considérant que des corps rigides capables d'interagir lorsqu'ils présentent une compatibilité géométrique parfaite. Cette notion introduite par Emile Fisher en 1894 [76].

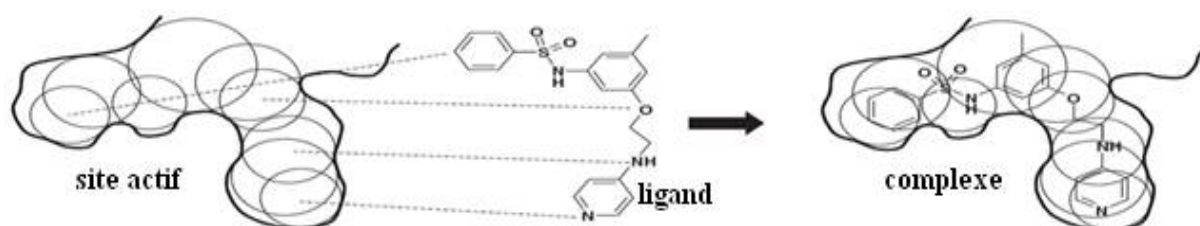


Figure III-6: Schéma du docking rigide.

Cependant, depuis ces premiers pas, une idée s'est peu à peu imposée : les molécules ne sont pas figées, mais peuvent subir des modifications conformationnelles lors d'une interaction. Les procédures ont donc évolué vers une introduction de la flexibilité, au moins partielle, des systèmes mis en jeu.

L'introduction de la flexibilité pour prendre en compte un possible réarrangement structural devient alors un des plus grands enjeux du docking. La flexibilité a tout d'abord été introduite en autorisant quelques degrés de liberté au ligand, puis étendue à certaines parties des protéines.

Enfin, de nouveaux programmes de docking qui traitent la flexibilité du site actif en employant la même stratégie que celle des ligands sont actuellement en développement [77,78].

2.2. Programmes de docking les plus cités :

Plus de 30 logiciels de docking sont actuellement disponibles. Les trois les plus fréquemment cités pèsent 53 % du total de citations trouvées dans la littérature sont : AutoDock (27 %), GOLD (15 %), FlexX (11 %) [79].

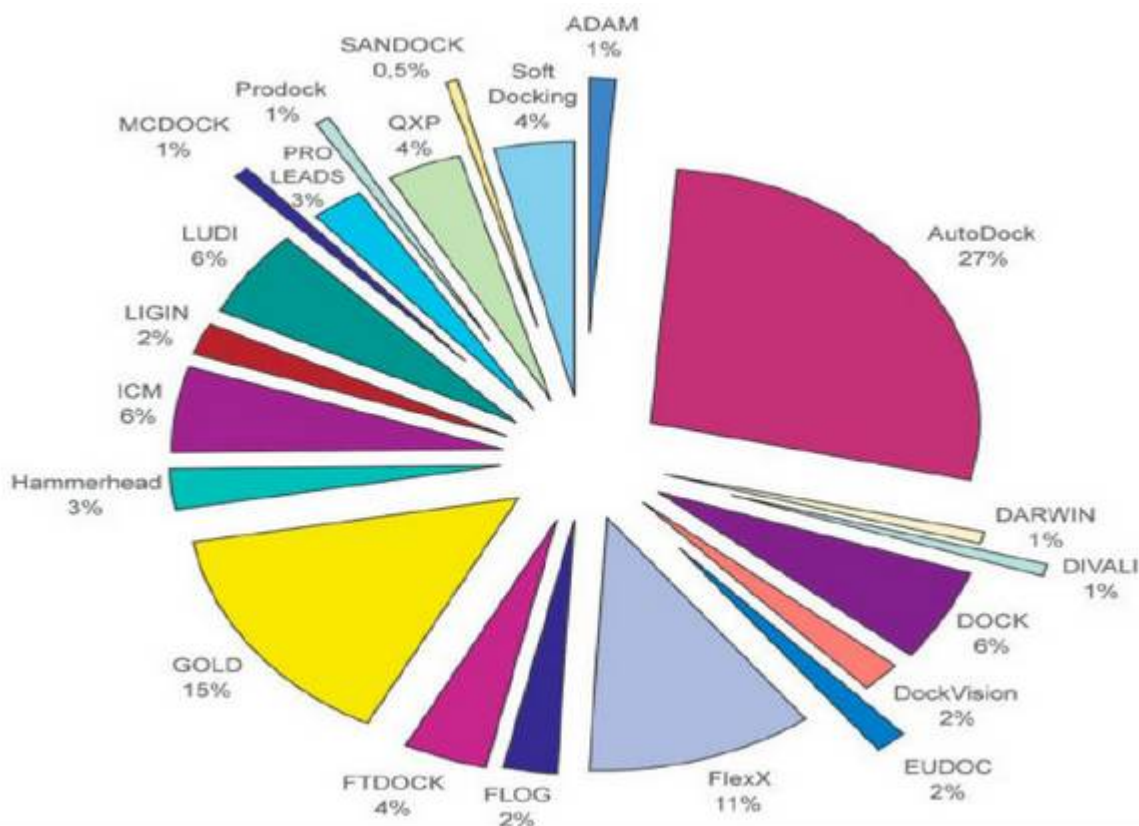


Figure III-7: Les programmes de docking les plus cités d'après Sousa S. F *et al.* (2006) [79].

Tableau III-1 : Principaux programmes de docking moléculaire [80]

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

2.3.Applications de docking:

Il y a au moins deux applications principales au programme de Docking. La plus ancienne est la prédiction du mode d'interaction, qui consiste à déterminer le positionnement correct du ligand par rapport à son récepteur. L'autre utilisation consiste à optimiser des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur.

L'optimisation de la structure de ligands déjà connus peut avoir plusieurs raisons : l'amélioration de son affinité, de sa spécificité, de sa synthèse ou encore de ses propriétés ADME-T (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité).

2.4.Les étapes de docking moléculaire :

Le docking moléculaire s'accomplit en deux étapes complémentaires (Figure III-8). La première consiste à rechercher les conformations du ligand aptes à établir des interactions idéales avec le récepteur par un algorithme de recherche. La deuxième est l'évaluation de ces conformations par des fonctions mathématiques appelées fonctions de score, elle est basée sur un calcul rapide de leur énergie d'interaction avec ce récepteur. La partie de recherche doit parcourir au mieux l'espace conformationnel pour trouver l'énergie minimale globale. Le docking peut être interprété de manière qualitative par observation du ligand dans la cavité de la protéine mais également de manière quantitative par traitement des données provenant des fonctions de score.

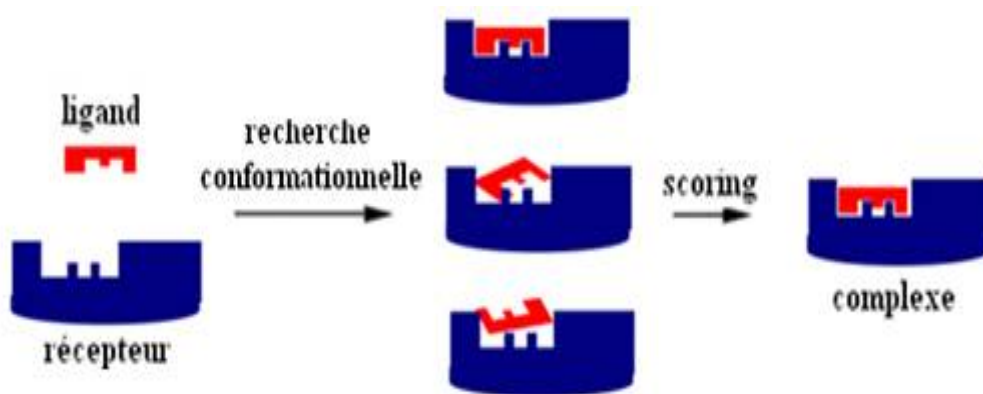


Figure III-8: Représentation schématique des étapes du docking.

2.4.1. La recherche conformationnelle

Les algorithmes de recherche de la flexibilité du ligand peuvent se classer en trois principes, nommés combinatoire, stochastique et déterministe [81].

2.4.1.1.L'approche combinatoire (incrémentale):

Ces méthodes exploitent tous les degrés de liberté du ligand. Dans un premier temps le ligand est découpé en parties rigides et flexibles. Entre les points où des rotations sont possibles, une ou plusieurs «ancres» rigides sont définies, ensuite une première partie rigide est mise en interaction avec le récepteur puis les parties flexibles sont ajoutées de manière successive avec une exploration des angles de torsion [81] (Figure III-9). Le plus important est le choix des fragments de base à placer en premier dans le site. Cette méthode a été incorporée dans plusieurs programmes dont Dock [82] et FlexX [83].

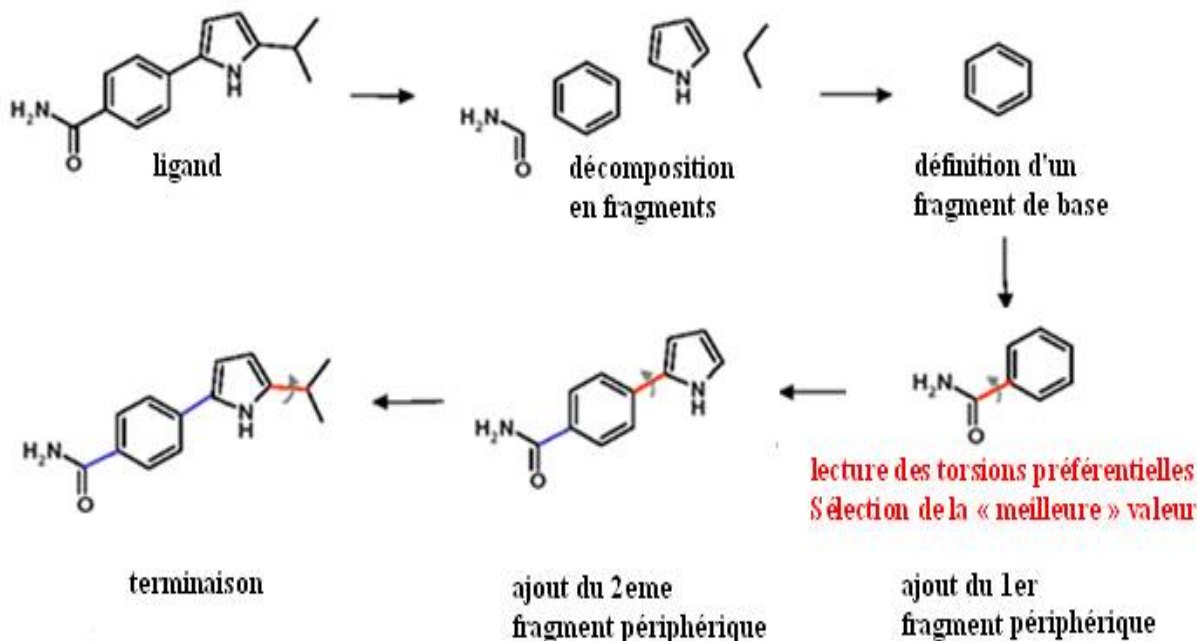


Figure III-9: Construction incrémentale d'un ligand au sein du site actif.

2.4.1.2.L'approche stochastique :

L'approche stochastique consiste à effectuer des changements aléatoires dans la structure tridimensionnelle du ligand [84]. Cette méthode a été incorporée dans plusieurs programmes dont GOLD [85,86] et AutoDock [87].

2.4.1.3.L'approche déterministe :

Dans l'approche déterministe, l'état initial détermine les mouvements à effectuer pour générer l'état suivant. Cet état devant être d'énergie égale ou inférieure à celle de l'état initial [84].

2.4.2. Le processus de score :

2.4.2.1.Principe :

Les résultats du docking consistent le plus souvent en différentes poses du ligand dans le site d'interaction, correspondant à plusieurs conformations favorables que le ligand peut adopter. Les méthodes de score permettent d'évaluer l'énergie de liaison du complexe formé et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking [88].

L'utilisation des fonctions de score est double. Tout d'abord, elles permettent de déterminer la conformation qui représentera au mieux le ligand concerné. Cette conformation est appelée première pose. L'autre utilisation des scores est de pouvoir classer les premières poses de chaque ligand afin d'établir un classement final des molécules les plus prometteuses.

2.4.2.2.Familles de fonctions de score :

Dans les programmes de docking, on trouve différents types de fonction de score : celles utilisant un champ de force de mécanique moléculaire, celles reposant sur les connaissances statistiques et les méthodes empiriques [84].

- Les fonctions basées sur un champ de force :

Le score est calculé en faisant la somme de l'énergie d'interaction protéine-ligand et de l'énergie interne du ligand [84].

- Les fonctions basées sur des connaissances statistiques:

Ces fonctions sont construites à partir de règles fondées sur l'analyse des structures tridimensionnelles de complexes ligand-protéine déterminés de manière expérimentale [84].

- Les fonctions empiriques :

Ces fonctions de score se basent sur un décompte du nombre d'interactions dans le système protéine-ligand comme par exemple le nombre de liaisons hydrogène, les contacts hydrophobes, les contacts hydrophiles, les contraintes de torsion dues à la formation du complexe protéine-ligand, *etc* [89]. La plupart des programmes de docking implémentent ce type de fonction de score témoignant de leur efficacité en terme de rapport précision/rapidité [84].

3. Le programme utilisé (FlexX) :

Lors du docking moléculaire, le programme FlexX tient compte de trois paramètres importants [83,90]. La flexibilité conformationnelle du ligand, le niveau ou le type d'interaction entre la protéine et son ligand et enfin la fonction de score utilisée pour classer les solutions ou les résultats de docking par évaluation de leur énergie d'interaction.

3.1.1a flexibilité conformationnelle du ligand:

Le programme FlexX est basé sur la stratégie de la construction incrémentale. Son principe de fonctionnement consiste en trois phases essentielles :

- Choix du fragment de base :

La première étape, après découpe du ligand, est le choix d'un fragment rigide capable de répondre simultanément à un nombre d'interactions suffisant avec le récepteur.

- Placement du fragment de base dans le site actif :

Le positionnement du fragment s'effectue en trois étapes. Tout d'abord, plusieurs points, susceptibles de former des interactions avec le fragment, sont générés. Ensuite, des jeux de trois points significatifs du site actif sont extraits, formant un triangle. Finalement, le fragment est superposé à chaque triangle (dans le cas fragments trop petits, FlexX utilise des lignes à la place de triangles) (Figure III-10). S'il y a concordance, l'étape de reconstruction peut avoir lieu.

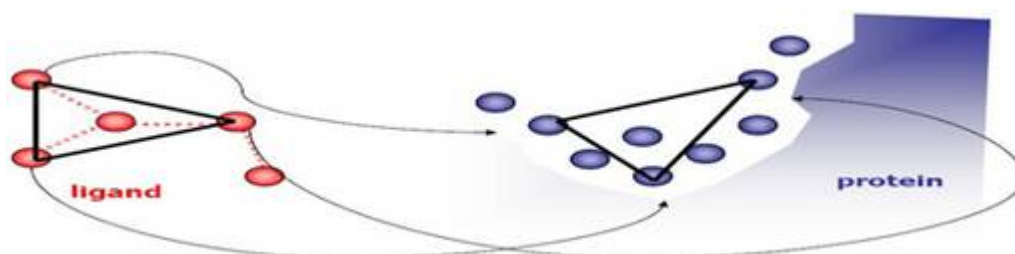


Figure III-10: Superposition des différents points du site actif avec le ligand.

- Reconstruction sur le fragment de base :

Cette étape consiste à rajouter au fragment de base, tous les fragments préalablement découpés. La construction incrémentale peut s'apparenter à un arbre de décision dans lequel le premier niveau correspond au nombre de solutions trouvées lors de la recherche d'un premier fragment.

3.2. Les niveaux d'interaction :

Les interactions sont classées en trois niveaux:

- les interactions du 1^{er} niveau :

Ces interactions représentent les contacts hydrophobiques non spécifiques entre les atomes de carbone aliphatique ou aromatique.

- **les interactions du 2^{ème} niveau :**

Il s'agit des interactions hydrophobiques entre le centre d'un cycle aromatique et les atomes d'un autre cycle, d'un amide ou des groupements méthyle.

- **les interactions du 3^{ème} niveau :**

Elles concernent les ponts hydrogène et salins. Elles sont les plus restrictives géométriquement à cause de leur courte distance.

Lors du docking moléculaire, les interactions du 3^{ème} niveau sont utilisées en premier puisqu'elles sont les plus restrictives géométriquement. Ensuite celles du 2^{ème} niveau, et enfin celles du 1^{er} niveau.

3.3.La fonction de score:

La fonction de score utilisée dans FlexX est la suivante:

$$\Delta G = \Delta G_0 + \Delta G_{rot} \times N_{rot}$$

$$+ \Delta G_{hb} \sum_{\text{H-bonds}} f(\Delta R, \Delta \alpha) \quad \text{liaisons hydrogènes}$$

$$+ \Delta G_{io} \sum_{\text{ionic int.}} f(\Delta R, \Delta \alpha) \quad \text{interactions ioniques}$$

$$+ \Delta G_{aro} \sum_{\text{aro. int.}} f(\Delta R, \Delta \alpha) \quad \text{interactions des cycles aromatiques}$$

$$+ \Delta G_{lipo} \sum_{\text{lipo.cont.}} f^*(\Delta R) \quad \text{contact lipophile}$$

Le score est une estimation directe du ΔG : l'énergie libre du complexe protéine-ligand.

Le terme $f(\Delta R, \Delta \alpha)$ est une fonction de pénalité qui sert à calculer la déviation de la géométrie par rapport à la géométrie idéale. ΔR est la variation de la distance de la liaison, $\Delta \alpha$ est la déviation de l'angle.

ΔG_0 représente l'entropie conformationnelle du ligand, il prend en compte les pertes d'entropie liées aux translations et rotation.

ΔG_{rot} est la perte d'entropie du ligand lors de la formation du complexe, il est basé sur le nombre des liaisons acycliques libres du ligand.

CHAPITRE IV : MATÉRIEL ET MÉTHODES

CHAPITRE IV : MATERIEL ET METHODES

1. Test d'évaluation du programme utilisé :

Avant de débiter notre étude, nous avons tenté d'évaluer la fiabilité du logiciel utilisé. Nous avons travaillé avec le programme FlexX dans la version la plus récente 1.3.0, 2010 [91], il a été installé dans le microordinateur lenovo, sous le système d'exploitation Windows XP 2007. Plusieurs techniques sont utilisées pour évaluer les performances des différents algorithmes de Docking. La prédiction du mode d'interaction consiste à déterminer le positionnement correct du ligand par rapport à son récepteur. La capacité d'un programme à réussir ce travail est habituellement jugée au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (root-mean-square derivation) du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure du cristal. Le ratio admis est une différence maximum de 2 angströms au-delà de laquelle la prédiction est considérée comme non adéquate [92,93]. La norme actuelle pour évaluer les performances d'un programme de docking est de faire un test à partir d'environ cent complexes ligands-protéines cristallisés [86,90].

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

2. Le programme FlexX :

FlexX utilise la protéine sous le format .pdb, elle est téléchargée à partir de la "Protein Data Bank" (PDB) [94] en introduisant son code.

Par contre, pour le ligand il exige le format .mol2 ou le format .sdf. Donc on peut soit télécharger directement le ligand à partir de la PDB ou la PubChem [95] sous format .sdf, soit télécharger le complexe correspondant dans le format .pdb et séparer les deux molécules du complexe à l'aide du logiciel ViewerLite (version 4. 2, 2001) [96] qui est un logiciel de visualisation, ensuite le ligand est converti au format .mol2 à l'aide du convertisseur Open Babel (version 2.0.2, 1991) [97] qu'est un système expert principalement utilisé dans des applications de chimio-informatique pour la conversion de fichiers de structures chimiques aux nombreux formats.

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

➤ **Préparation du récepteur:**

- Sélectionner la ou les chaînes respectives de récepteur.
- Sélectionner les cofacteurs les coenzymes.
- Déterminer le site actif à partir de ligand de référence.
- Sélectionner les molécules d'eau : FlexX laisse l'opportunité de simuler l'existence de molécules d'eau dans l'environnement du site actif. La présence d'eau est parfois primordiale pour assurer un relai entre le ligand et le site actif.
- Enregistrer le récepteur préparé.

➤ **Arrimage d'un ligand dans le site actif :**

- Le choix de l'option «docking » dans le menu permet de sélectionner le ligand et lancer le docking.

➤ **Traitement des résultats :**

Après quelques secondes à quelques minutes, selon la taille du ligand, nous pouvons observer sur l'écran le ligand qui vient se placer dans le site actif de l'enzyme, ainsi qu'un tableau de solutions contenant tous les résultats obtenus, et une figure de l'interaction pour chaque solution possible.

FlexX donne l'énergie d'interaction en Kj/mol.

3. L'inhibition de la PDF de *Streptococcus pneumoniae* par divers inhibiteurs :

Dans un deuxième temps, nous nous sommes attachés à évaluer l'énergie d'interaction entre les divers inhibiteurs de la PDF et la cible considérée dans cette étude : PDF de *Streptococcus pneumoniae* [48], dans le but de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu dans les interactions de ces composés et aussi de visualiser les liaisons qu'ils impliquent avec le site actif de cette enzyme.

3.1.Choix de la cible :

Il existe plusieurs structures tridimensionnelles de peptides déformylases bactériennes dans la PDB dont environ la moitié sous forme de complexes PDF-ligands. Ces derniers se différencient par :

- la source bactérienne de la PDF : *E. coli*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*....
- le métal présent au niveau du site actif : fer, cobalt, nickel,....
- la nature du ligand intervenant dans le complexe
- le degré de résolution de complexe

La PDF de *Streptococcus pneumoniae* portant le code 2AIE a été choisie parmi une grande variété de peptides déformylases, *Streptococcus pneumoniae* est l'agent infectieux le plus couramment incriminé dans les cas graves de pneumonie [2, 11].

Les caractéristiques de cette enzyme sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

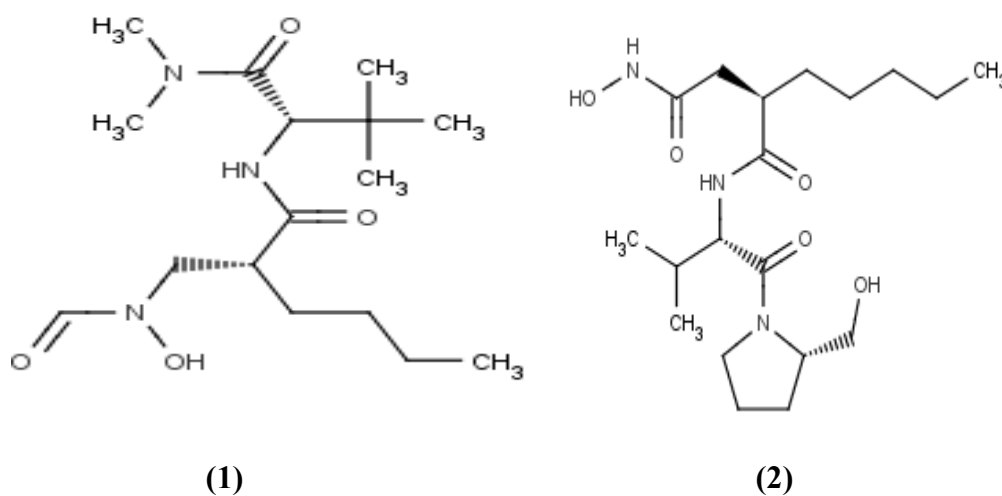
Tableau IV-1 : les caractéristiques de la 2AIE

Enzyme	Code PDB	Résolution (Å)	Classification	Nombre de chaînes	Nombre d'AA
PDF	2AIE	1.7	EC : 3.5.1.88	1	203

3.2. Les ligands mis en jeu :

Les molécules considérées pour le criblage dans cette étude sont : BB1 (BB3497) [62,63], BB2 (Actinonin) [37,55], SB7 [48], NVC [98], VRC 3375 (CID : 488029) [61] et VRC 4307 (CID : 9824395) [64]. Elles sont des inhibiteurs potentiels de la PDF. La structure particulière de leur squelette de base leur confère la caractéristique le plus souvent mise en avant dans l'activité d'un inhibiteur de la PDF : l'hydroxamate ou la N-formyl-N-hydroxylamine comme un groupement chélateur. Les structures de ces inhibiteurs sont représentées dans la figure IV-1.

Ces molécules sont disponibles dans la PDB (pour les composés BB1, BB2, SB7 et NVC) et dans la PubChem (pour les composés VRC 3375 et VRC 4307).



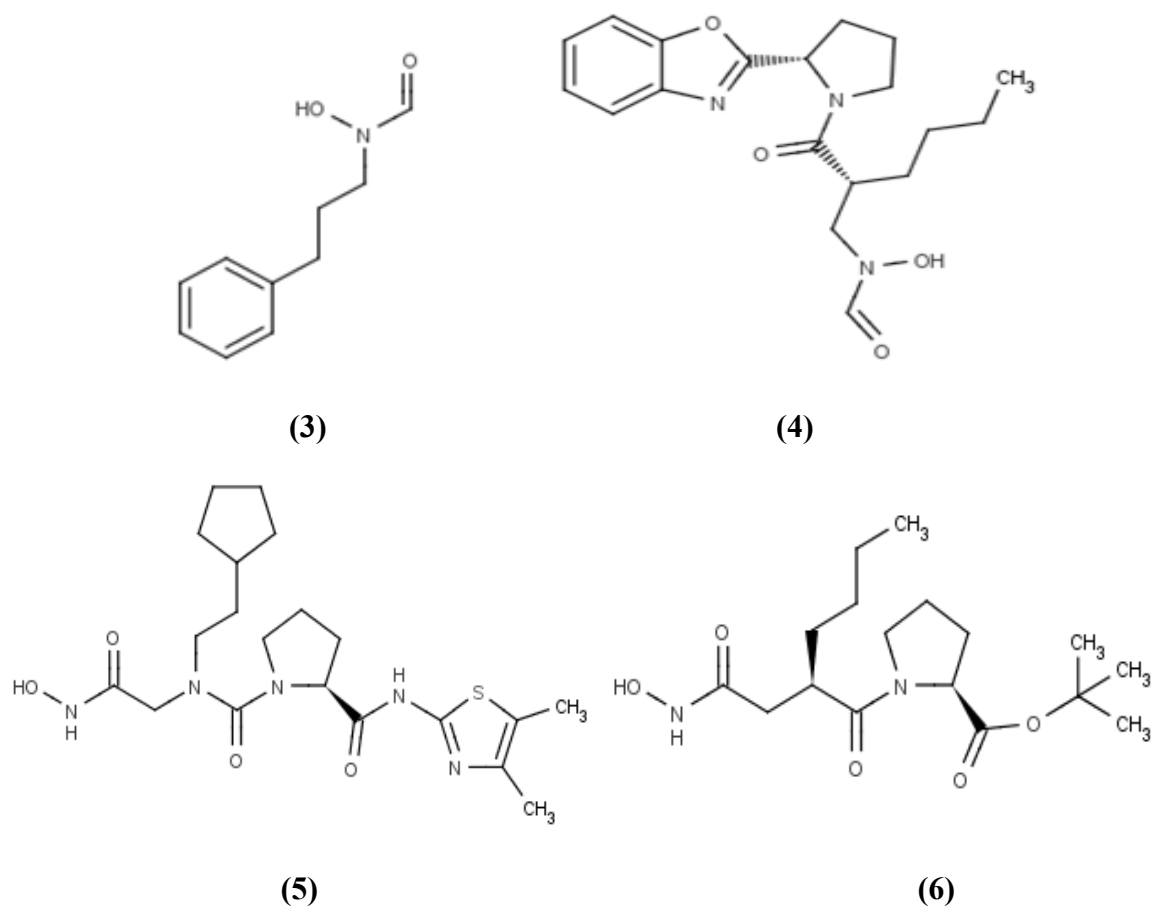


Figure IV-1: Structures chimique des ligands étudiés.

- (1) **BB1 (BB-3497)**: 2-[(formyl-hydroxy-amino)-methyl]- acid hexanoic (1-dimethyl carbamoyl-2,2-dimethyl-propyl)-amide
- (2) **BB2 (Actinonin)**: (2R)-N'-hydroxy-N-[(2S)-1-[(2S)-2-(hydroxymethyl) pyrrolidin-1-yl]-3-methyl-1-oxobutan-2-yl]-2-pentylbutanediamide
- (3) **SB7**: [hydroxy(3-phenylpropyl)amino]methanol
- (4) **NVC**: N-[(2R)-2-[(2S)-2-(1,3-benzoxazol-2-yl)pyrrolidine-1-carbonyl]hexyl]-N-hydroxyformamide
- (5) **VRC 4307**: (2S)-1-N-(2-cyclopentylethyl)-2-N-(4,5-dimethyl-1,3-thiazol-2-yl)-1-N-[2-(hydroxyamino)-2-oxoethyl]pyrrolidine-1,2-dicarboxamide
- (6) **VRC 3375**: tert-butyl (2S)-1-[(2R)-2-[2-(hydroxyamino)-2-oxoethyl]hexanoyl]pyrrolidine-2-carboxylate

Ces ligands sont téléchargés directement sous le format .sdf

4. Les mono et bi substitutions de la VRC 4307 :

Nous avons tenté de proposer, à la lumière des résultats obtenus, des structures nouvelles avec une meilleure affinité vis-à-vis de la PDF de *Streptococcus pneumoniae*. Nous avons pris comme structure de base le meilleur inhibiteur de l'étude précédente, le VRC 4307 (Figure

IV-2), sur lequel nous avons effectué 2 types de substitution : 6 mono substitutions rassemblées dans le tableau IV-2 et 2 bi substitutions dans le tableau IV-3.

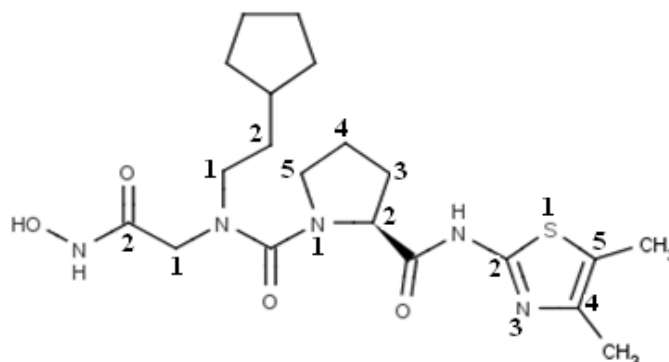


Figure IV-2: Structure chimique du composé VRC4307.

La substitution peut se faire avec des programmes de construction moléculaire comme Arguslab (version 4.0.1, 2003) [99]. Ils possèdent une banque d'atomes sous différents états d'hybridation permettant de construire tous les groupements chimiques éventuels. Ce type de construction ne peut se faire sans une étape de minimisation importante de l'énergie potentielle.

Les molécules construites sont enregistrées dans le format .mol, puis elles sont converties au format .mol2 à l'aide du convertisseur Open Babel.

4.1. Les mono substitutions du VRC 4307 :

Les mono substitutions ont été obtenues de la manière suivante : Sur le composé VRC 4307 nous avons remplacé les radicaux méthyles en position 4 (pour les composés 1, 2 et 3) et en position 5 (pour les composés 4, 5 et 6) du noyau thiazole par les groupements suivants:

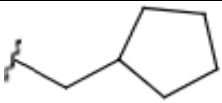

Tableau IV-2 : les mono substitutions effectuées sur le composé VRC 4307

Composé	les substitutions	
	4	5
1	CO	
2	CH ₂ OH	
3	NH ₂	
4		CO
5		OH
6		NH ₂

4.2. Les bi substitutions du VRC 4307 :

Nous avons réalisé les bi substitutions comme suit ; nous avons remplacé la partie hydrophobe du meilleur composé de l'étude précédente, composé 1, par les groupements suivants:

Tableau IV-3 : les bi substitutions effectuées sur le composé VRC 4307

Composé	P1'
7	
8	

5. Inhibition de la PDF de *Streptococcus pneumoniae* par les dérivés du noyau indole (composés agissant spécifiquement sur les PDF bactériennes) :

Dans cette partie, nous nous sommes limités à une seule classe des inhibiteurs de la PDF qui est le noyau indole et ses dérivés.

Les homologues humains sont des PDF1A (HsPDF), spécifiquement exportés vers les mitochondries. Elles possèdent une activité déformylase *in vivo*, cette activité est faible par rapport aux PDFs bactériennes [50,51].

Une étude expérimentale réalisée par une équipe de chercheurs, Adrien. B *et al.* 2007 [100], a permis d'identifier de nouveaux composés capables d'inhiber les 2 types de PDF bactériennes mais sans effet significatif sur la HsPDF. Ces composés sont le noyau indole et ses dérivés (Annexe 2).

Nous avons choisi, parmi ces composés ceux qui présentent une activité inhibitrice non négligeable sur les deux PDFs bactériennes, PDF1B et PDF2:

- **Le 6b (CID : 11572551):** 2-(5-bromo-1H-indol-3-yl)-N-hydroxyacetamide
- **Le 6d (CID : 11538647):** benzyl 5-bromo-3-[2-(hydroxyamino)-2-oxoethyl]indole-1-carboxylate
- **Le 6f (CID : 16099883):** 2-(5-fluoro-1H-indol-3-yl)-N-hydroxyacetamide
- **Le 6g (CID : 11615517):** 2-(5-chloro-1H-indol-3-yl)-N-hydroxyacetamide
- **Le 6i (CID : 16099885):** 2-(6-bromo-1H-indol-3-yl)-N-hydroxyacetamide

Ils sont téléchargés sous le format sdf à partir de PubChem, ces structures sont représentées dans la figure IV-3.

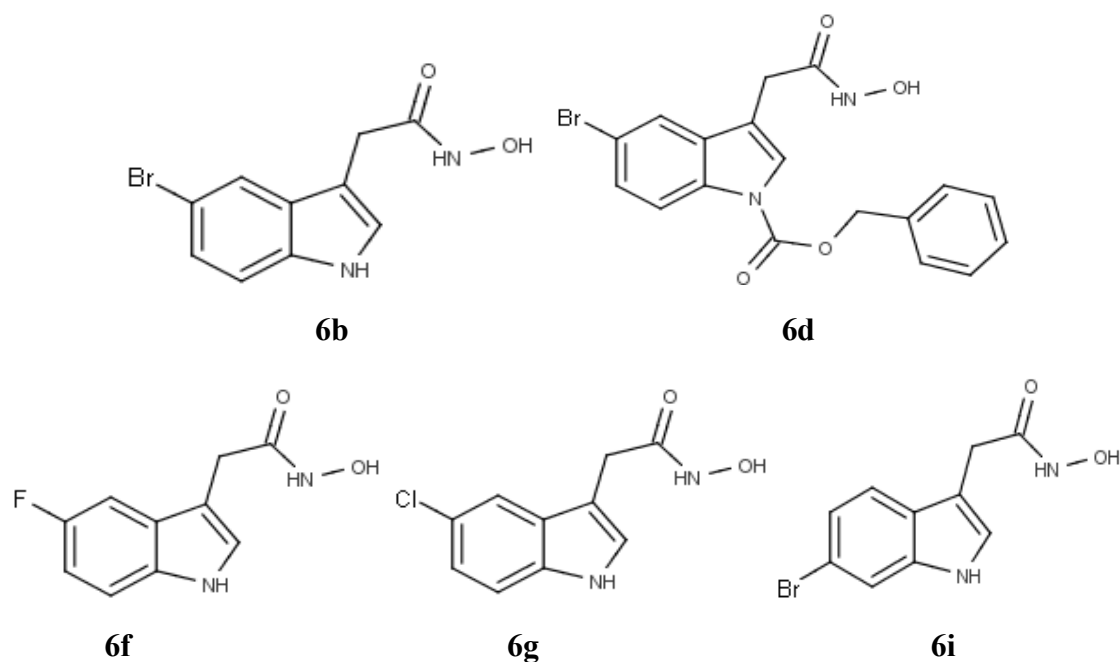


Figure IV-3: Structures chimique des dérivés de noyau indoles étudiés.

6. Les mono et bi substitutions du composé 6g :

6.1. Les mono substitutions du composé 6g :

Les mono substitutions ont été obtenues de la manière suivante : Sur le composé 6g (figure IV-4) nous avons introduit les groupements suivants (tableau IV-4):

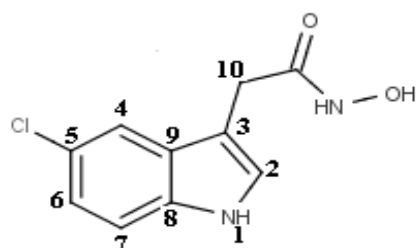


Figure IV-4: la structure chimique du composé 6g.

Tableau IV-4 : les mono substitutions effectuées sur le composé 6g.

Composé	les substitutions	
	1	10
1	CO	
2	COO⁻	
3	CONH₂	
4		CO
5		OH

6.2. Les bi substitutions du composé 6g :

Nous avons réalisé les bi substitutions comme suit :

Tableau IV-5 : les bi substitutions réalisées

Composé	les substitutions	
	1	10
6	COO ⁻	CO
7	COO ⁻	OH
8	CONH ₂	CO

7. Le filtrage ADME/Tox :

Les principales raisons de l'échec des molécules en cours de développement d'un médicament sont le manque d'efficacité chez l'homme et les problèmes de pharmacocinétique.

Chaque médicament éventuel doit de se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible coût de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité.

Lipinski en 1997 a défini un ensemble de règles permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle. Ces règles concernant les propriétés physico-chimiques ont été définies après l'analyse de 2245 médicaments commercialisés ou en phase finale de développement [101] :

- le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons,
- le logarithme décimal du coefficient de partage octanol/eau, noté logP, doit être \leq à 5,
- le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être \leq à 5,
- le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être \leq à 10,

LogP est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanol et dans l'eau. $\text{LogP} = \text{Log} (\text{Coct}/\text{Ceau})$. Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule.

En effet, si LogP est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement.

En effet, en complément de ces règles, d'autres critères sont pris en compte dans la sélection de molécules potentiellement candidates :

- nombre de fonctions rotatives ≤ 15
- nombre d'halogènes ≤ 7
- nombre de cycles ≤ 6
- pas de grands cycles de plus de 7 membres
- au moins un atome d'azote ou d'oxygène dans la molécule.

C'est la raison pour laquelle nous avons évalué ces paramètres pour les différents inhibiteurs étudiés et les différents composés proposés. Nous avons utilisé pour cela le logiciel Molinspiration [102] qui est maintenu par l'université de Bratislava (République Slovaque) en 1986.

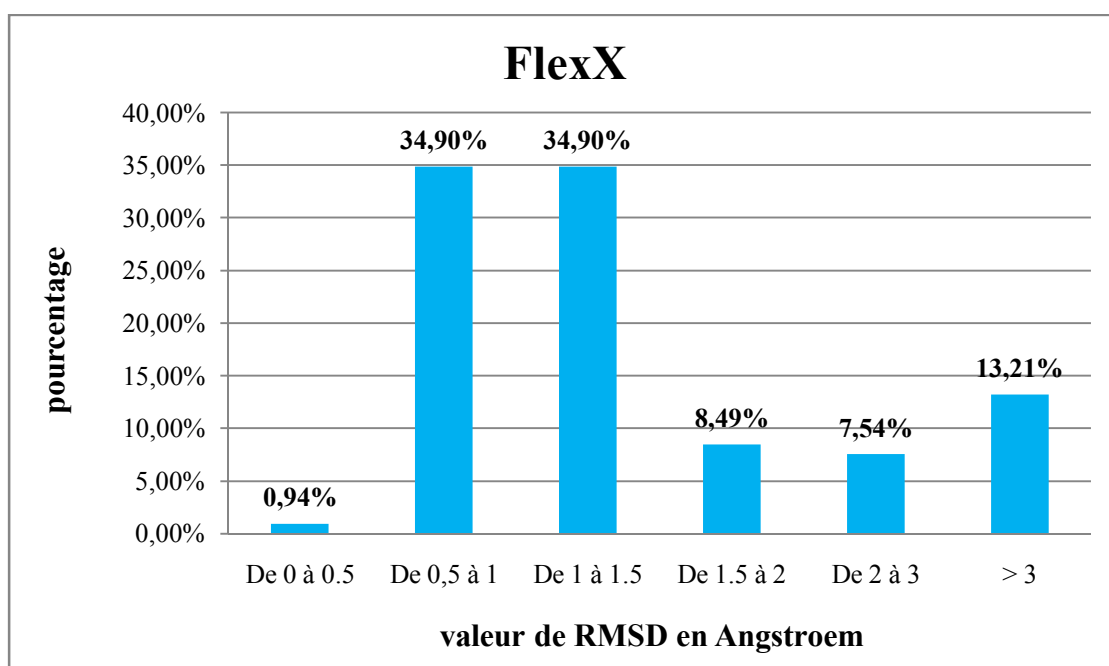
CHAPITRE V : RÉSULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE V : RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Fiabilité de programme utilisé :

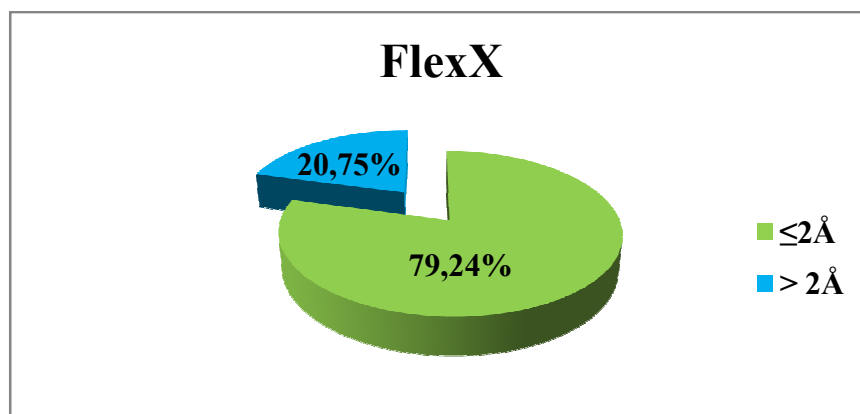
Le test sur la fiabilité de logiciel utilisé a été réalisé sur 106 complexes. Toutes les valeurs de $\text{RMSD} \leq 2 \text{ \AA}$ sont considérées comme positives. Dans les deux graphes suivants, les résultats sont donnés en pourcent (%), à divers intervalles de RMSD, pour le programme FlexX.

Graphe 1: Résultats en % obtenus par FlexX à divers intervalles de RMSD (Å).



Ce graphe montre que la majorité des résultats positifs se situe dans les intervalles 0,5 – 1,0 Å et 1,0 – 1,5 Å

Graphe 2 : Résultat global du RMSD en %.



Nous remarquons d'après ces résultats que le programme FlexX reproduit bien les données expérimentales, en effet, 79.24 % des valeurs de RMSD sont inférieures ou égale 2Å.

Les résultats de docking des trois complexes, le 1DI8 (le meilleur), le 1Q1Y (l'intermédiaire) et le 2X52 (le plus mauvais), sont montrés dans les figures suivantes. La meilleure conformation du ligand générée par le docking (colorée en vert) est superposée à la pose expérimentale du ligand de référence (colorée par type d'atome).



Figure V-1: Superposition du ligand DTQ du complexe 1DI8 donné par rayons-X (coloré par type d'atome) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec FlexX.

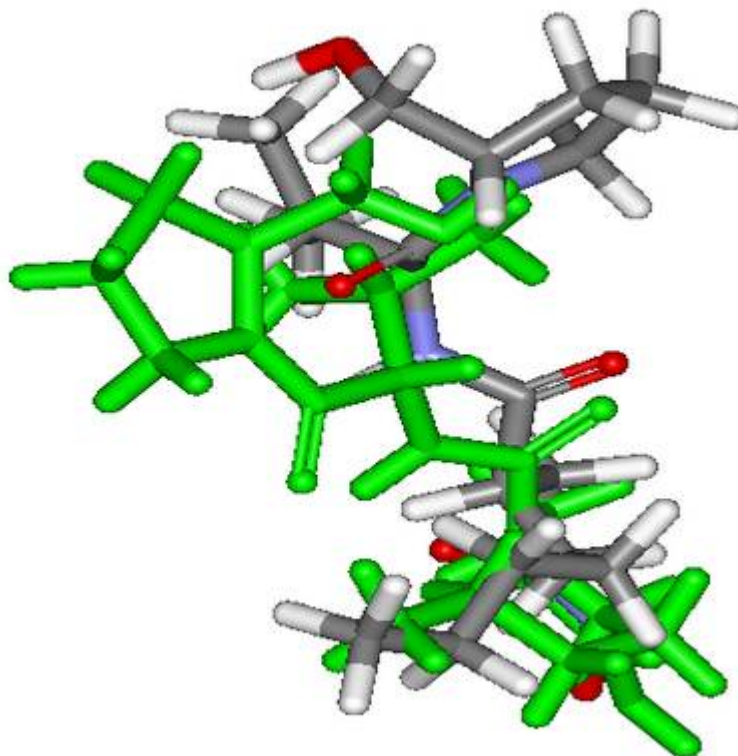


Figure V-2: Comparaison des géométries de l'inhibiteur BB2 du complexe 1Q1Y données par rayons-X (coloré par type d'atome) et par docking (coloré en vert) avec FlexX.

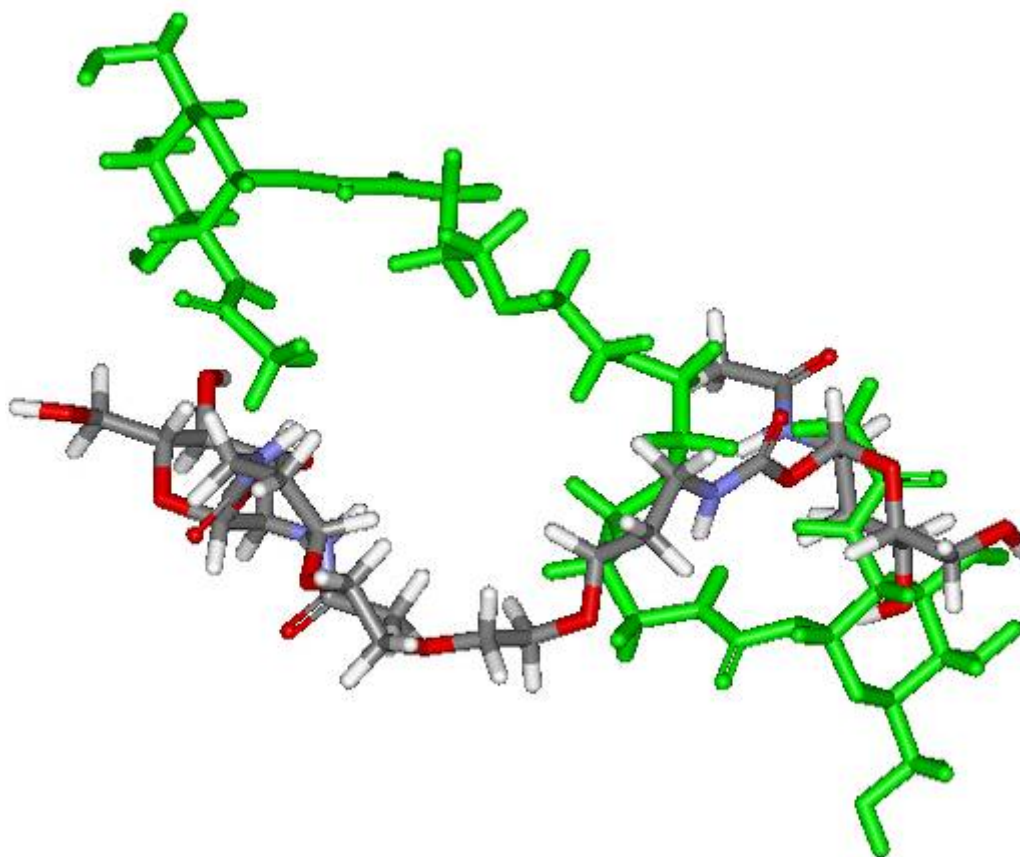


Figure V-3: Comparaison de la géométrie de GYT du complexe 2X52 donnée par rayon-X (coloré par type d'atome) avec celle obtenue par docking moléculaire (coloré en vert).

Dans le premier cas, avec un RMSD de 0.4156 Å, la superposition de la conformation optimale du ligand obtenue par docking moléculaire avec la géométrie du même ligand donnée par diffraction des rayons-X est maximale; dans le deuxième cas, avec un RMSD de 2.8136 Å, elle l'est moins; alors que dans le troisième cas, avec un RMSD de 6.7839 Å elle ne l'est pas du tout.

28 liaisons rotatives présentes dans le composé GYT (ligand du complexe 2X52) est probablement la raison pour laquelle il donne un mauvais RMSD. En effet, un nombre élevé de ce type de liaison est défavorable à l'interaction avec l'enzyme car il génère un très grand nombre de conformations.

Notre résultat confirme des résultats obtenus par Chikhi A., en 2007 [103] où le programme FlexX a été testé avec deux autres programmes (Arguslab et Surfex), FlexX a montré une performance pour reproduire les tests expérimentaux avec 80,6 % des valeurs de RMSD sont inférieures ou égales à 2Å.

Le test par le RMSD nous permet de conclure que FlexX est un logiciel qui fonctionne correctement. Il peut donc être utilisé, sans trop de risque d'erreurs, dans l'étude de l'interaction de la 2AIE et les divers inhibiteurs de la PDF qui nous intéressent.

2. L'inhibition de la PDF de *Streptococcus pneumoniae* par les divers inhibiteurs de la PDF:

2.1. La structure de 2AIE :

➤ Structure secondaire de la 2AIE :

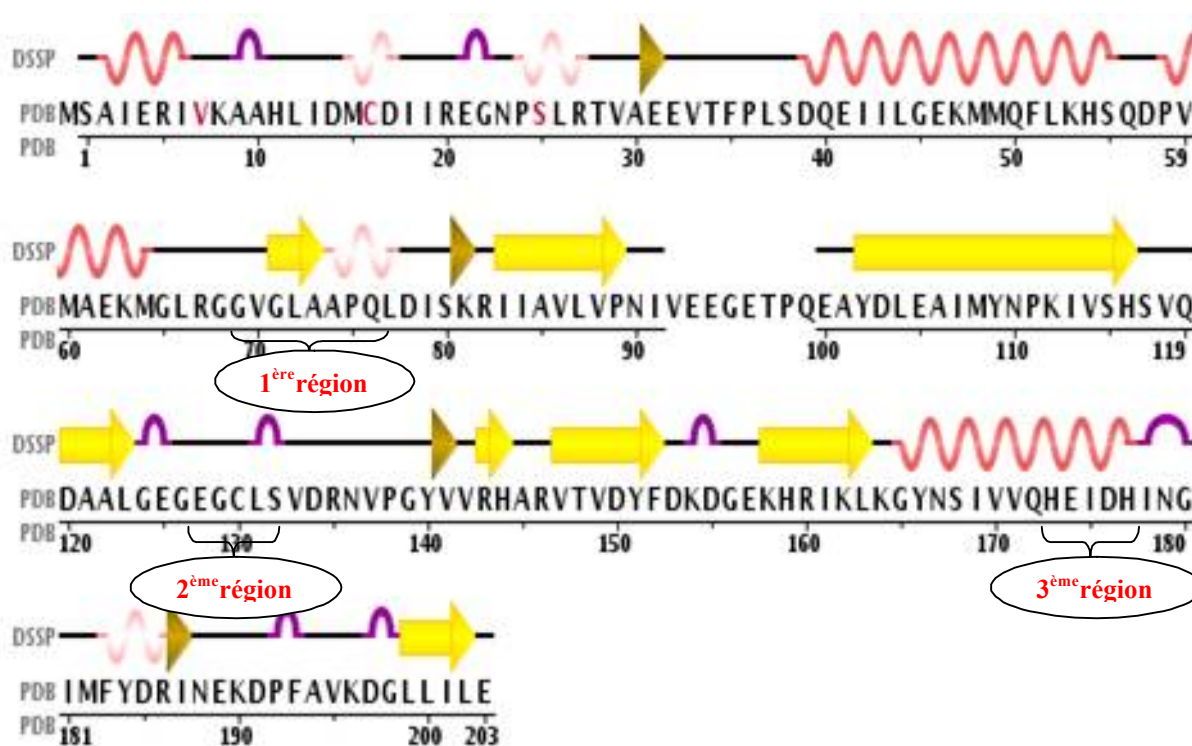


Figure V-4: les trois régions conservées de la PDF : GVGLAAPQ, EGCLS et HEIDH.

Cette figure montre la position des trois régions conservées sur la PDF de *Streptococcus pneumoniae*, le GLN 76 de la région GVGLAAPQ et le GLU 174 de la région HEIDH jouent un rôle important dans la fonction catalytique de cette enzyme [44-47].

➤ Le site actif de la 2AIE :

Les acides aminés du site actif du 2AIE sont :

ARG 67 ; GLY 68 ; GLY 69 ; VAL 70 ; GLY 71 ; LEU 72 ; ALA 73 ; GLN 76 ; LEU 123 ;
GLU 125 ; GLY 126 ; GLU 128 ; GLY 129 ; CYS 130 ; LEU 131 ; SER 132 ; VAL 133 ;

ARG 143 ; TYR 166 ; ILE 169 ; VAL 170 ; VAL 171 ; HIS 173 ; GLU 174 ; HIS 177.

Les acides aminés colorés en rouge sont les acides aminés des 3 régions conservées

2.2.L'étude de l'interaction de la la PDF de *Streptococcus pneumoniae* et les divers inhibiteurs de la PDF:

➤ Règle de Lipinski :

Avant d'entamer le calcul des interactions entre PDF de *Streptococcus pneumoniae* et les inhibiteurs étudiés, il est nécessaire d'évaluer les paramètres permettant leur validation comme antibiotiques.

Les principales raisons de l'échec des molécules en cours de développement d'un médicament sont le manque d'efficacité chez l'homme et les problèmes de pharmacocinétique, les propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité d'une molécule peuvent être estimées à partir de sa structure chimique, ce qui contribue à réduire les échecs dus à ces mauvaises propriétés d'ADME-T. Ces propriétés ont été calculées par le logiciel Molinspiration et leurs valeurs sont présentées dans le tableau qui suit (Tableau V-1) :

Tableau V-1 : Critères de la règle de Lipinski pour les inhibiteurs étudiés.

Ligand	Poids moléculaire (g/mol)	Log P	Donneur d'H	Accepteur d'H	Nb de liaisons rotatives
BB2 (Actinonin)	385.505	1.5	4	8	11
NVC	359.426	3.089	1	7	7
SB7	179.219	1.731	1	3	4
BB1 (BB3497)	329.441	1.427	2	7	9
VRC 3375	342.436	2.474	2	7	9
VRC 4307	437.566	1.771	3	9	7

Nous remarquons que tous les inhibiteurs utilisés dans cette étude répondent à la règle de Lipinski,

➤ **Résultats de docking :**

Tableau V-2 : Les résultats de docking

Ligand	Score	match	lipo	ambig	clash	rot	#match
BB2	-22.5587	-29.0506	-12.6913	-13.0696	8.6527	18.2000	11
NVC	-16.0232	-18.7554	-9.5975	-10.0168	5.7465	11.2000	9
SB7	-14.4386	-21.3224	-6.8014	-5.5138	6.7991	7.0000	14
BB1	-17.4974	-28.1170	-8.5143	-9.0935	8.8274	14.0000	8
VRC 3375	-23.0769	-27.8422	-10.6705	-9.6793	5.7151	14.0000	9
VRC 4307	-24.9923	-32.4405	-11.7187	-10.5861	14.5529	9.8000	10

- Total- score = Match-score + Lipo-score + Ambig-score + Clash-score + Rot-Score + ΔG_0
- Match-score = énergie des interactions de niveau 3 et de niveau 2 entre le ligand et les acides aminés du site actif.
- Lipo-score = énergie des contacts lipophiliques.
- Ambig-score = énergie des contacts lipo-hydrophiliques.
- Clash-score = énergie d'encombrement stérique.
- Rot-score = énergie d'immobilisation des liaisons rotatives du ligand.
- #Match = nombre d'interactions de niveau 3 et de niveau 2 entre le ligand et les acides aminés du site actif.
- ΔG_0 = l'entropie conformationnelle du ligand (5.4kJ/mol).

➤ **BB2 (Actinonin) :**

Dans le cas de l'inhibiteur naturel, l'actinonin, le complexe enzyme-inhibiteur donne une énergie de liaison de -22.5587 kJ/mol. Il forme sept liaisons hydrogène avec les résidus de l'enzyme, deux avec les molécules d'eau présentes dans le site actif et une avec l'ion métallique (Figure V-5).

L'énergie de certaines de ces liaisons est faible, c'est le cas par exemple du pont hydrogène formé entre l'hydroxyle du groupement chélateur et le carbonyle du résidu Gln76 qui est de l'ordre de -0.20kJ/mol ($d=2.26\text{\AA}$, l'angle= 102.5°), cela est probablement la raison pour laquelle avec un total de 10 liaisons hydrogènes il donne seulement -22.5587kJ/mol comme énergie d'interaction.

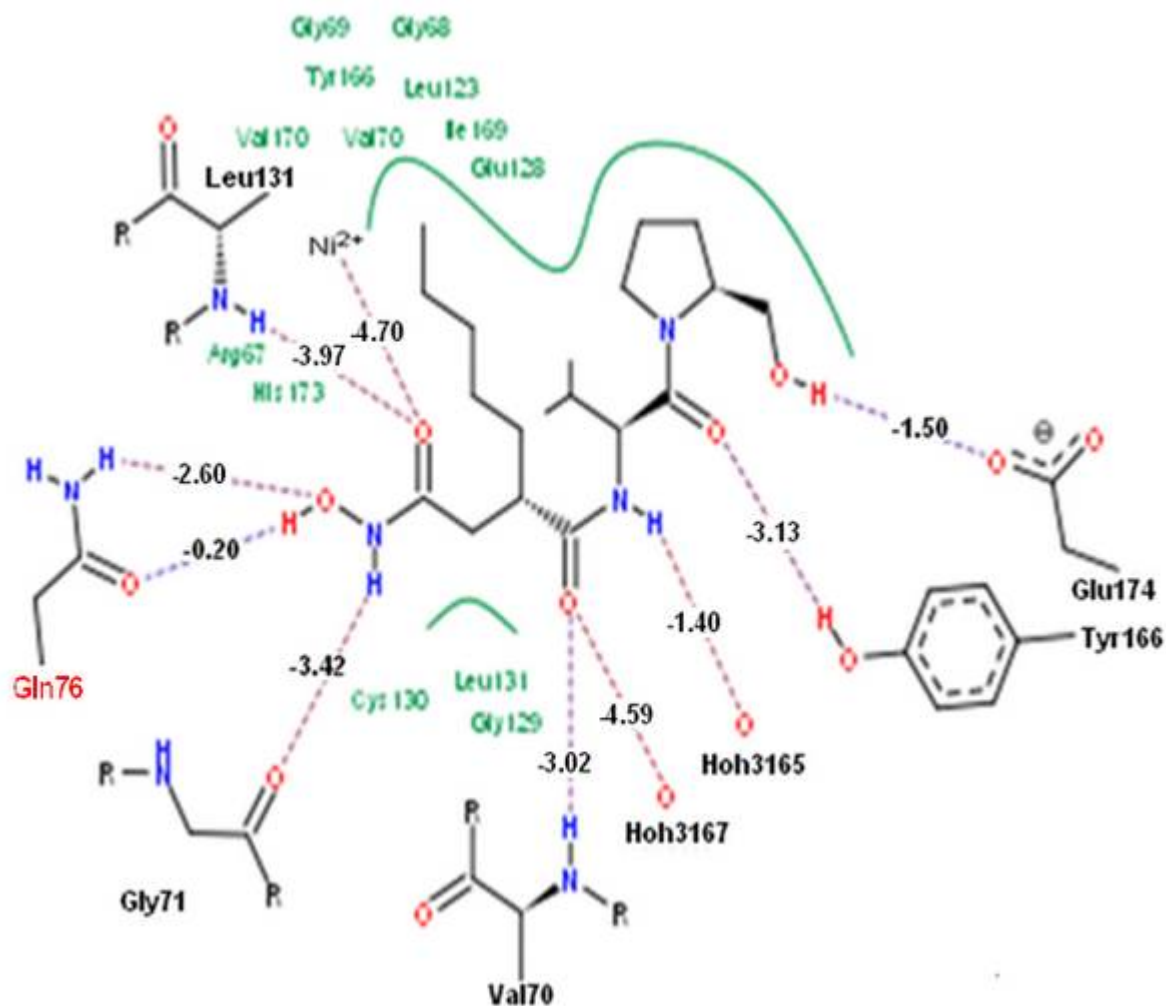


Figure V-5: Mode de liaison de l'actinonin avec le site actif de 2AIE. Les lignes vertes représentent les interactions hydrophobiques. Les tirets discontinus représentent les liaisons hydrogènes

On y observe des interactions hydrophobiques stabilisant l'actinonin avec les résidus Gly68, 69 et 129, Val70 et 170, Tyr166, Leu 123, His173, Arg67, Glu128 et Cys130 (Figure V-5).

➤ NVC :

Le composé NVC possède une énergie d'interaction élevée, cela est probablement dû au faible nombre de liaisons hydrogène et au fait que le groupement chélateur qui est le composant crucial à pourvoir l'énergie de liaison forme seulement deux liaisons hydrogène avec les résidus du site actif (Figure V-6). Aussi ce groupement ne forme aucune liaison avec l'ion métallique du site actif.

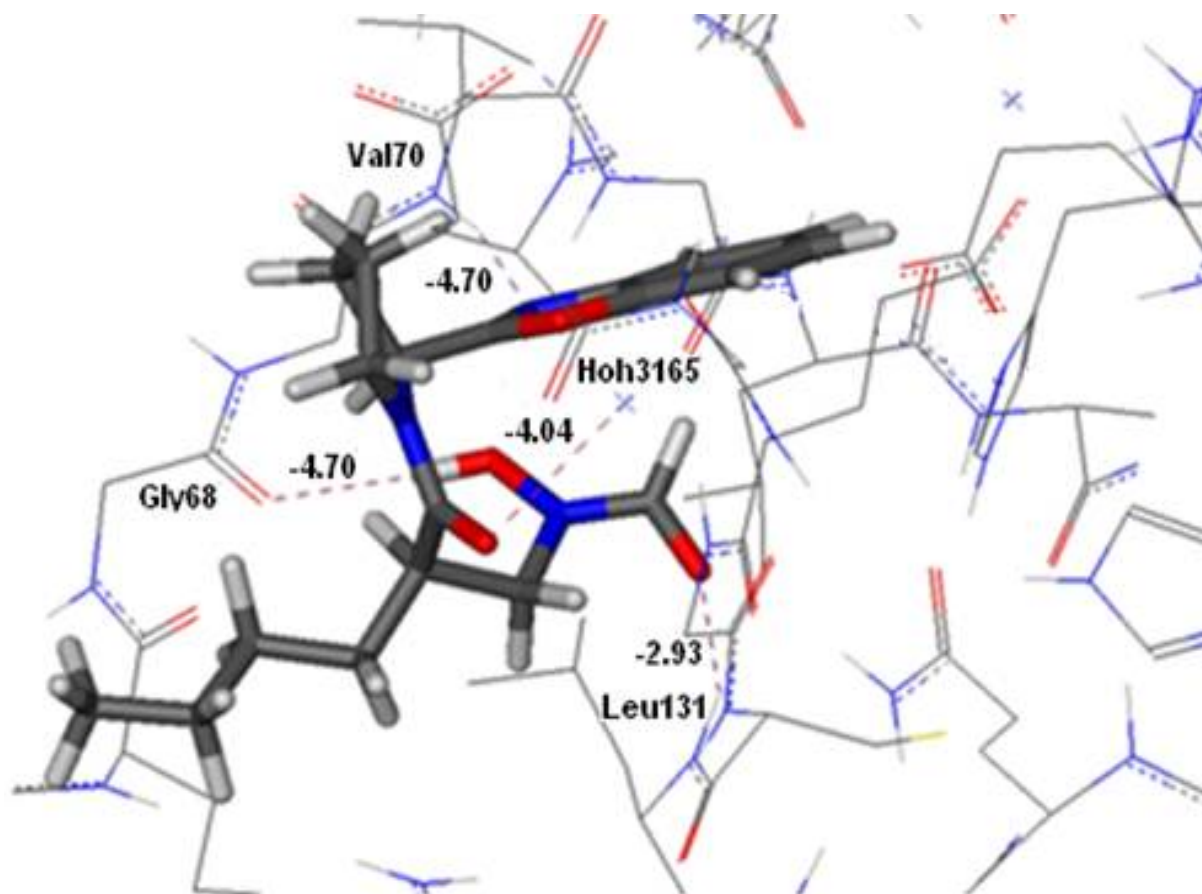


Figure V-6: Docking du composé NVC dans le site de liaison de 2AIE.

Le NVC est stabilisé par plusieurs interactions hydrophobiques réalisées avec les résidus His173, Val170, Val70, Gly68, 69, 71, 129 et Arg67. Parmi ces interactions celles qui sont présentées dans la figure suivante (Figure V-7):

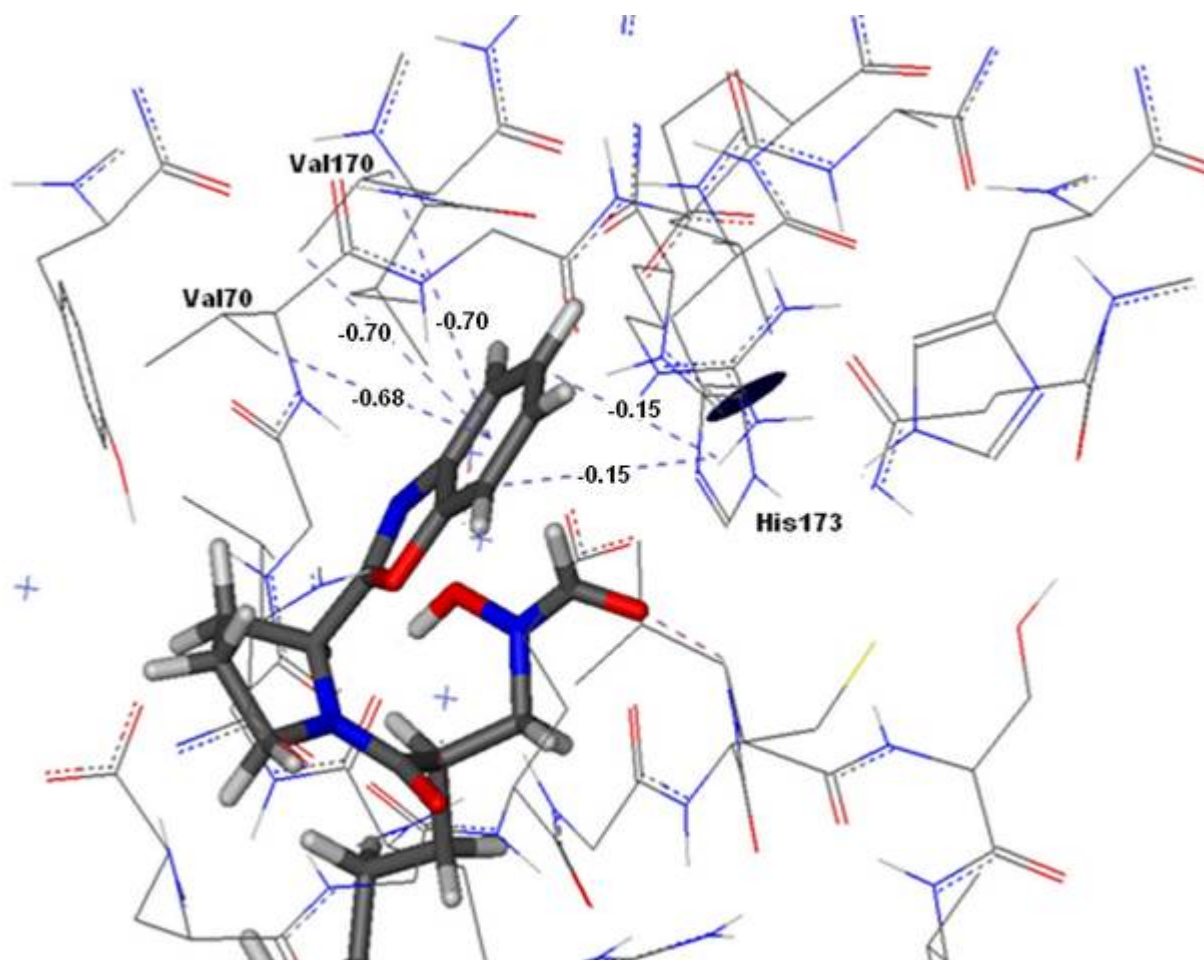


Figure V-7: Interactions hydrophobiques entre le composé NVC et le site actif de 2AIE.

➤ **SB7 :**

Malgré le nombre élevé d'interactions entre l'inhibiteur SB7 et le site actif de l'enzyme, quatorze, dont cinq sont des liaisons hydrogène (Figure V-8), le SB7 est le ligand qui présente l'énergie de liaison la plus élevée (-14.4386Kj/mol). Cela est certainement dû à certaines de ces liaisons qui ont une énergie très faible, c'est le cas par exemple de la liaison formée entre l'hydroxyle du ligand et l'un des deux atomes d'oxygène du carboxyle de Glu174 qui est de -0.79 kj/mol seulement ($d = 2.39 \text{ \AA}$, $\text{angle} = 126.8^\circ$).

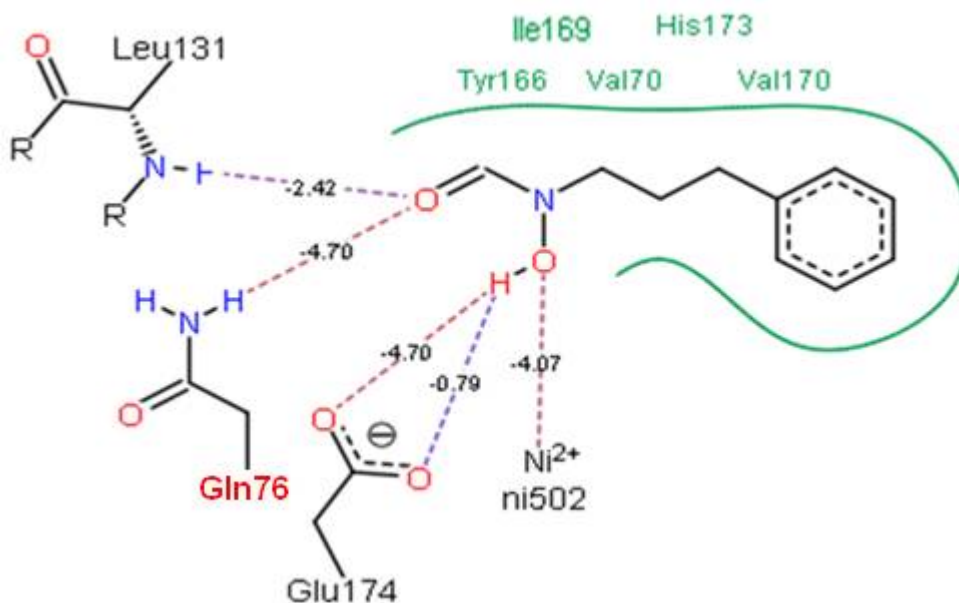


Figure V-8: Modes de liaison du ligand SB7 avec le site actif de 2AIE.

Le noyau phényle de ce composé occupe la poche hydrophobique de l'enzyme (figure V-9).

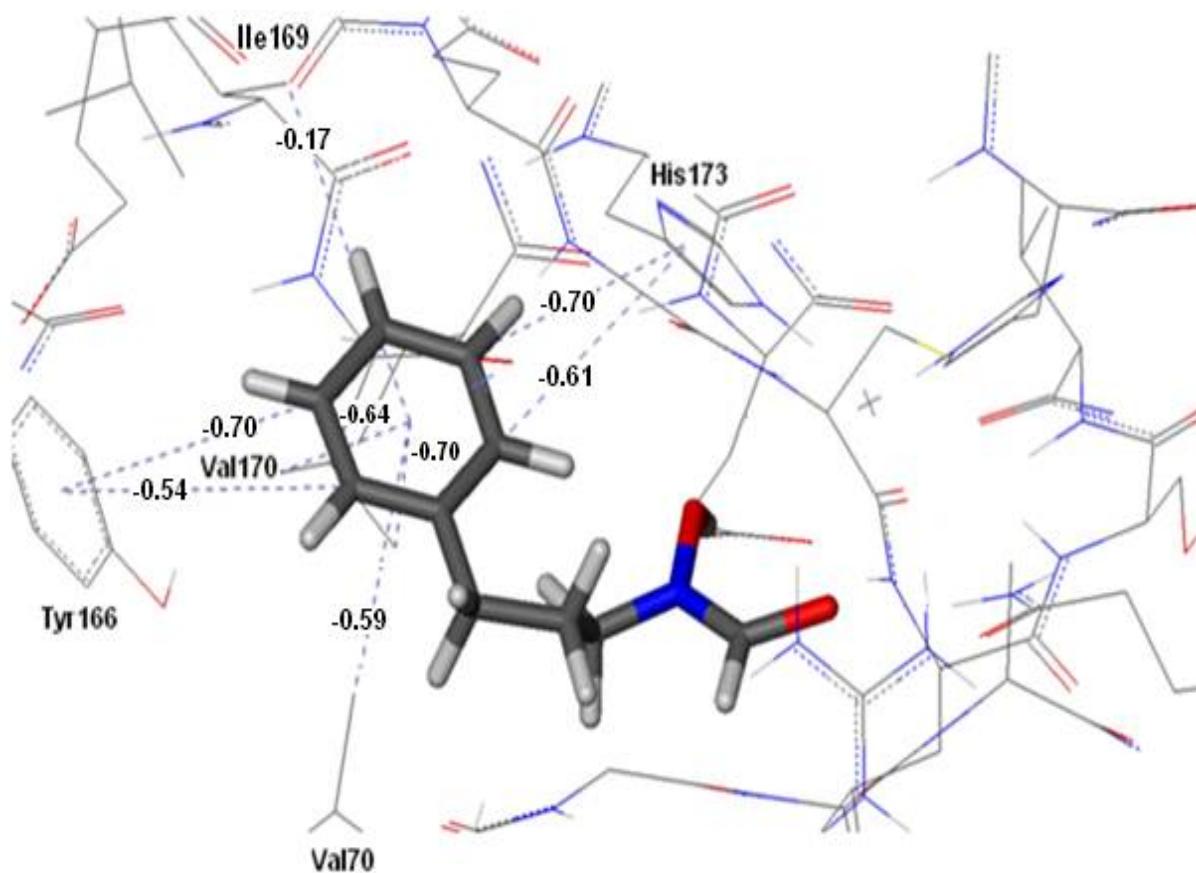


Figure V-9: Interactions hydrophobiques entre le composé SB7 et le site actif de 2AIE.

➤ **BB1 :**

Dans le cas de l'inhibiteur BB1, le complexe enzyme-inhibiteur donne une énergie d'interaction de -17.4974 kJ/mol. Il forme quatre liaisons hydrogène avec les résidus de l'enzyme dont trois par l'intermédiaire de son groupement N-formyl-N-hydroxylamine (Figure V-10).

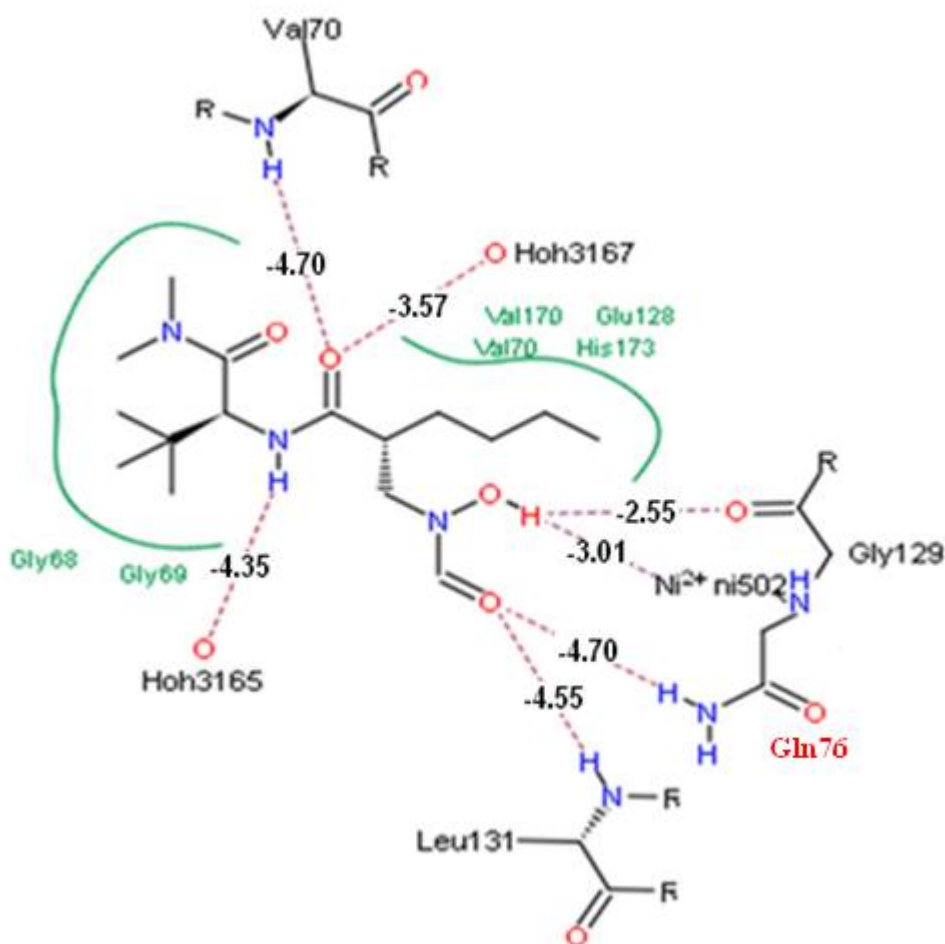


Figure V-10: Mode d'interaction du ligand BB1 avec le site actif de 2AIE.

L'inhibiteur BB1 est stabilisé aussi par des interactions hydrophobiques avec les résidus Val70, Val171, Glu128, His173, Gly68 et Gly69.

➤ **VRC 3375 :**

Avec une énergie d'interaction avec la 2AIE de -23.0769 kJ/mol, le VRC 3375 et l'Actinonin possèdent les meilleures énergies après le VRC4307.

Le VRC3375 établit 4 liaisons hydrogène avec les résidus du site actif, une avec la molécule d'eau 3167 et deux par l'intermédiaire de son groupement chélateur avec l'ion métallique Ni²⁺

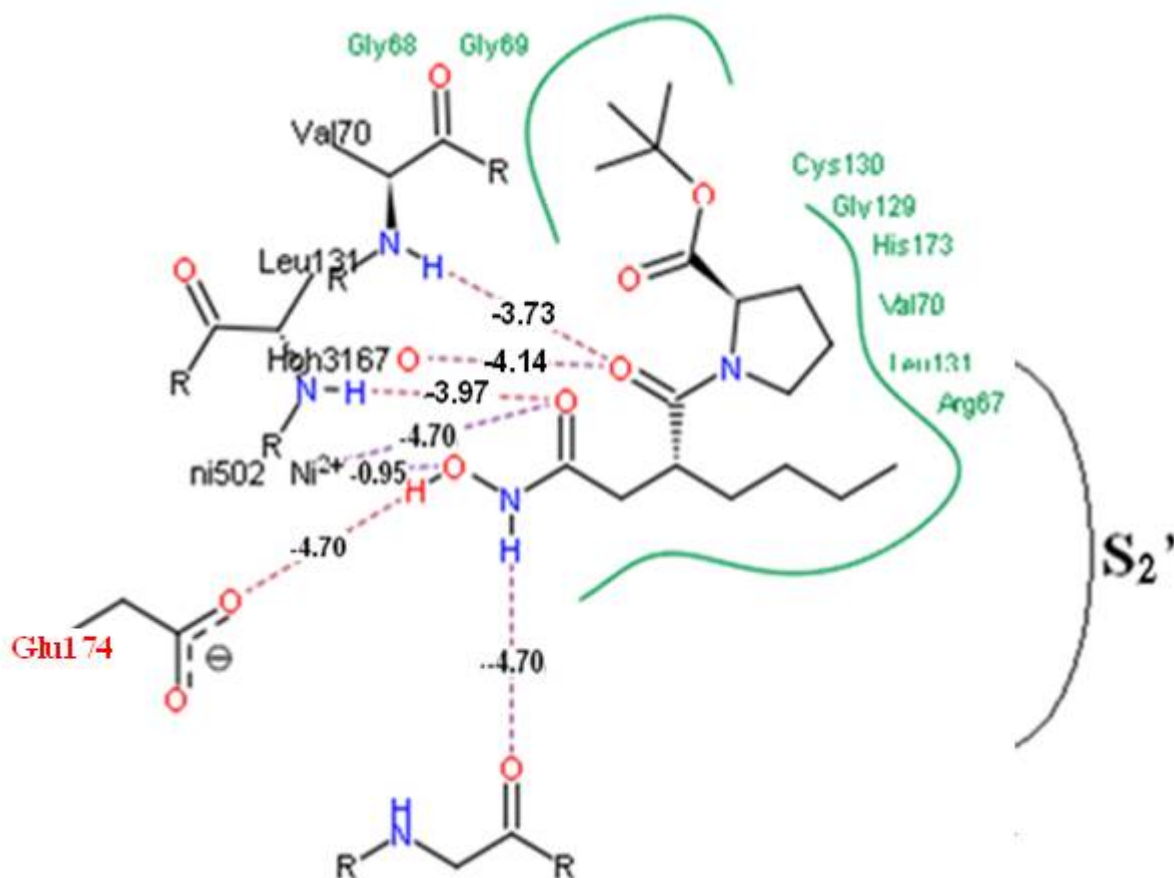


Figure V-11: Mode d'interaction du VRC 3375 avec le site actif de 2AIE.

Cet inhibiteur est stabilisé par des interactions hydrophobiques avec les résidus Cys130, Gly129, His173, Val70, Leu131, Arg67, Gly68 et Gly69 (Figure V-11).

➤ **VRC4307 :**

Parmi les inhibiteurs étudiés le composé VRC4307 présente la meilleure énergie d'interaction avec la 2AIE ($\Delta G = -24.9923$ kJ/mol). Il présente donc le meilleur effet inhibiteur.

Le groupement carbonyle du VRC4307 en position 1 du noyau pyrrolidine est orienté vers la région S₂'. On y observe deux ponts hydrogène dont l'un avec le NH de Val70 ($d = 1.95 \text{ \AA}$, angle = 140.2°) et l'autre avec la molécule d'eau 3167 ($d = 2.81 \text{ \AA}$) (Figure V-12).

L'inhibiteur VRC4307 établit par l'intermédiaire de son groupement chélateur cinq liaisons hydrogène, il est engagé par son hydroxyle dans 2 liaisons, l'une avec l'amine latérale de Gln76 ($d = 1.92 \text{ \AA}$, angle = 143.7°) et l'autre avec le carbonyle de Gly71 ($d = 2.26 \text{ \AA}$,

angle= 131.9°) et par sa fonction NH avec le carboxyle de Gly71 (d= 1.96 Å, angle= 132.2°). Les deux dernières liaisons sont réalisées entre son carbonyle et le NH de Leu131 (d= 1.87 Å, angle= 150.1°) d'une part, et le Ni²⁺ (d= 2.02 Å) d'autre part.

Le carbonyle en position 2 du noyau pyrrolidine est engagé dans une liaison hydrogène avec la molécule d'eau 3165 (d= 2.90 Å).

La stabilité du complexe formé à partir de ce composé est gouvernée par des interactions hydrophobiques avec les acides aminés Tyr166, His173, Gly129, Leu131, Cys130, Val170, Ile169, Glu128 et Gly69 comme représentées dans la figure V-13.

On y remarque que la région S₃' n'a pas été sollicitée par le VRC4307.

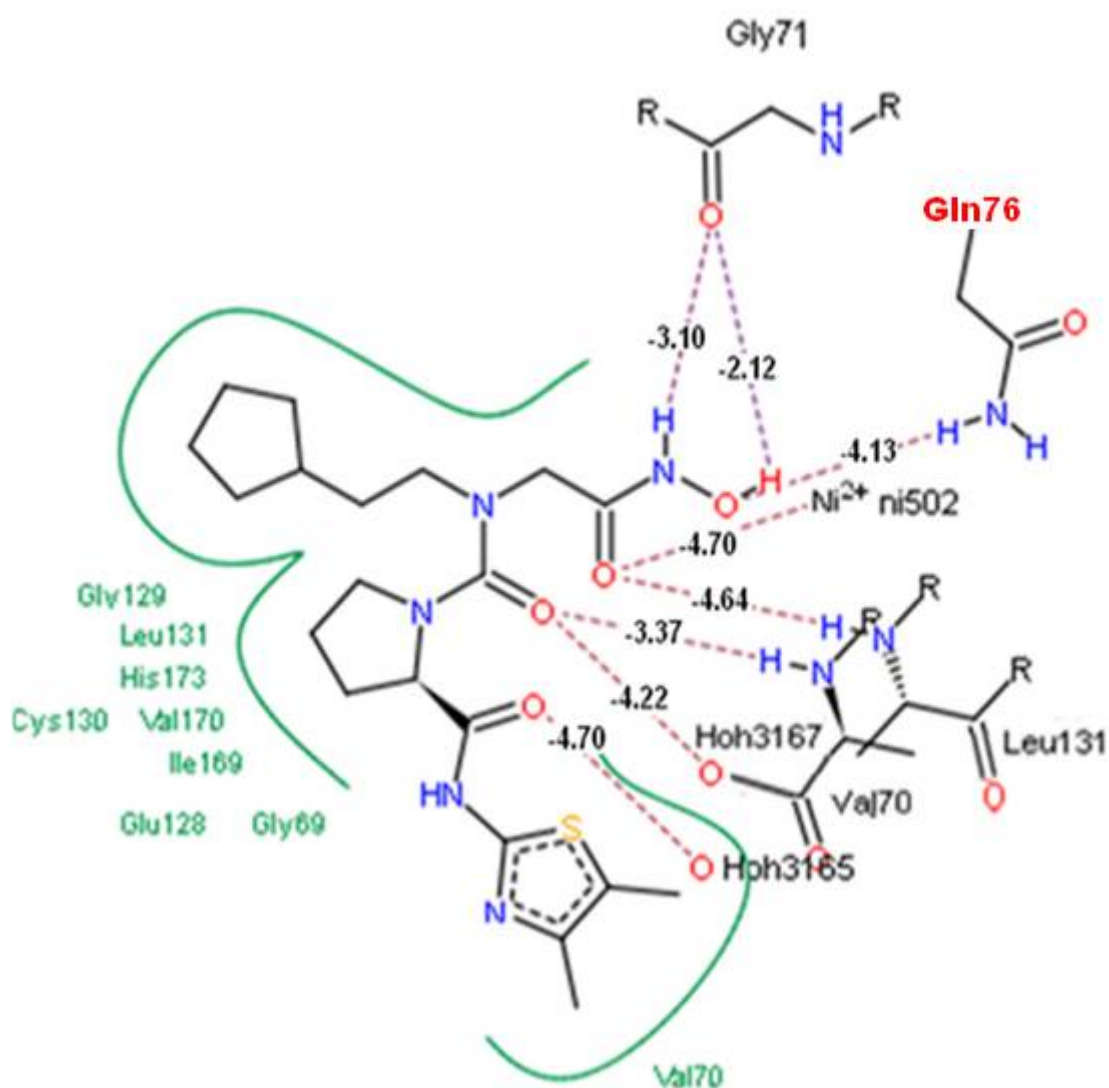


Figure V-12: Docking du composé VRC 4307 dans le site de liaison de 2AIE.

3. Substitutions effectuées sur VRC4307 :

Nous suggérons l'introduction des modifications structurales sur le composé VRC4307 dans le but de réaliser des nouvelles interactions avec les résidus des poches S_2' et S_3' pour améliorer son activité antibactérienne, car ces poches sont les parties critiques dans la détermination de la sélectivité des futurs inhibiteurs.

Le VRC4307 a déjà 9 accepteurs d'hydrogène et selon la règle de Lipinski ce nombre ne doit pas dépasser 10, pour cela, on réalise les substitutions comme suit :

Pour les mono substitutions, nous avons remplacé les radicaux méthyles en position 4 et 5 du noyau thiazole situé au niveau de la région P_3' , par d'autres groupements capables de créer des liaisons hydrogène avec les résidus de la région S_3' de l'enzyme.

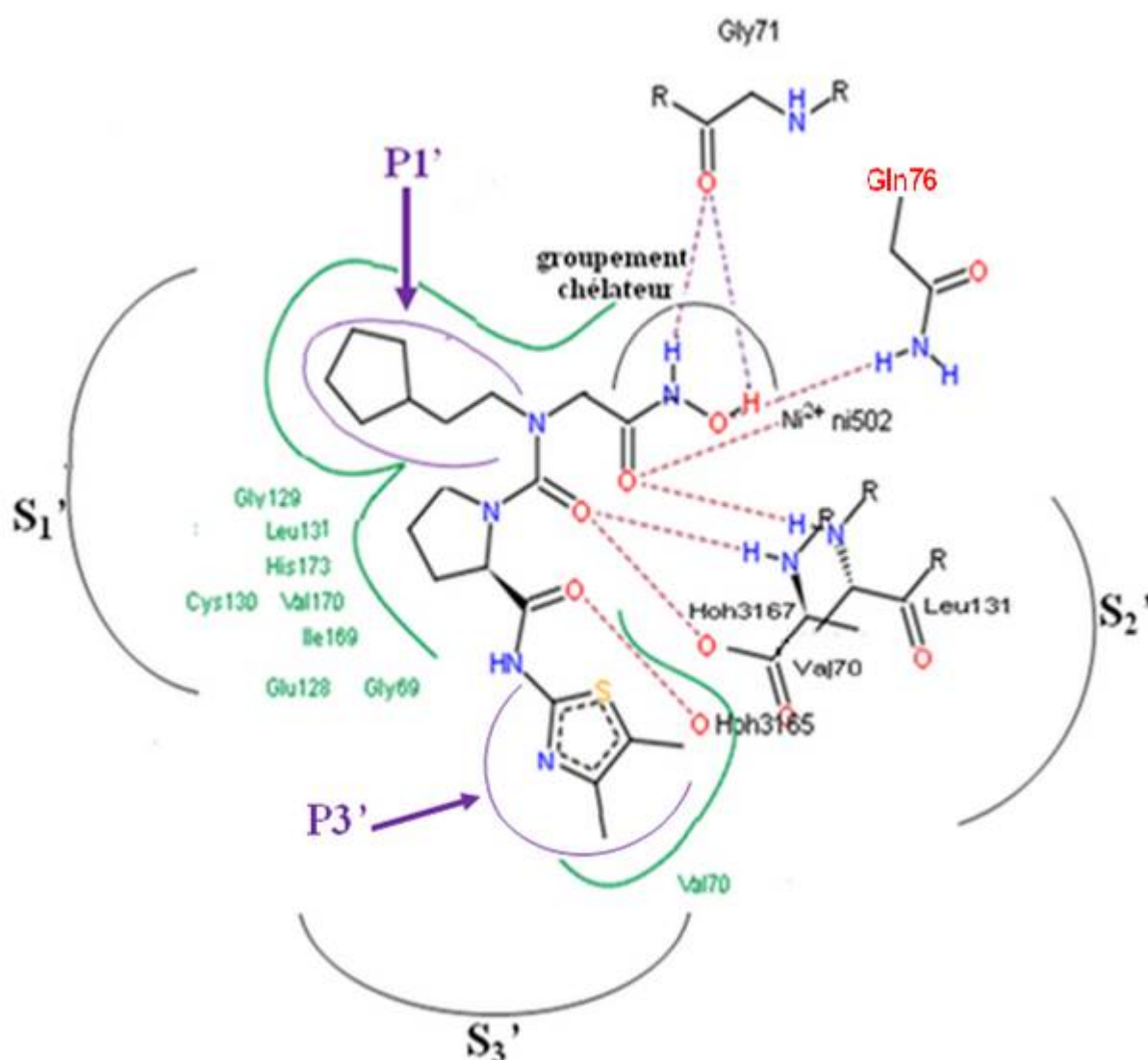


Figure V-13: Mode de liaison du composé VRC4307 avec le site actif de 2AIE.

Les bi substitutions seront réalisées à partir du meilleur ligand mono substitué, sur lequel on remplace la partie hydrophobe P₁' responsable des interactions hydrophobiques avec la poche S₁' du site actif de l'enzyme par d'autres groupements de la même nature chimique.

Le but de ces changements est soit de créer des nouvelles interactions avec les résidus de site actif soit d'améliorer les interactions déjà existantes de façon à diminuer leur énergie d'interaction avec la 2AIE et améliorer ainsi leur effet inhibiteur.

3.1. Les Mono substitutions du VRC 4307:

Les énergies de liaisons calculées entre la PDF de *Streptococcus pneumoniae* et les composés mono substitués, sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau V-3 : Energies d'interactions (KJ/mol) calculées entre la 2AIE et les 6 composés mono substitués

Composé	score	match	lipo	ambig	clash	rot	#match
1	-35.0726	-38.7101	-10.9917	-11.6691	11.0982	9.8000	12
2	-27.5894	-30.7414	-12.6106	-10.8133	9.9759	11.2000	9
3	-33.165	-34.8828	-10.1385	-13.1500	9.8057	9.8000	12
4	-26.0816	-29.7015	-8.4645	-9.6882	6.5725	9.8000	8
5	-27.1801	-31.9743	-10.6891	-11.3927	-11.0698	9.8000	12
6	-28.7167	-30.7312	-12.4805	-10.6618	9.9568	9.8000	8

Les calculs de docking révèlent une diminution de l'énergie d'interaction de tous les nouveaux ligands (Tableau V-3). Le meilleur résultat est donné par le composé 1 avec une $\Delta G = -35.0726$ KJ/mol.

- **Complexe I : 2AIE-composé 1 :**

Le remplacement du groupement méthyle en position 4 du noyau thiazole par un carbonyle dans le composé 1 donne la meilleure énergie de liaison, le nouveau groupement est orienté vers la région S₃', il développe 2 ponts hydrogène, le premier avec la fonction NH de Cys130 (d=1.84Å, angle=148.8°) et le deuxième avec l'amine latérale de l'Arg67 (d=2.02Å, angle=161.1°).

On observe aussi la création d'un pont supplémentaire entre l'un des groupements carbonyle du cycle pyrrolidine et la fonction amine du Gly71 ($d= 2.46 \text{ \AA}$, $\text{angle}= 138.8^\circ$).

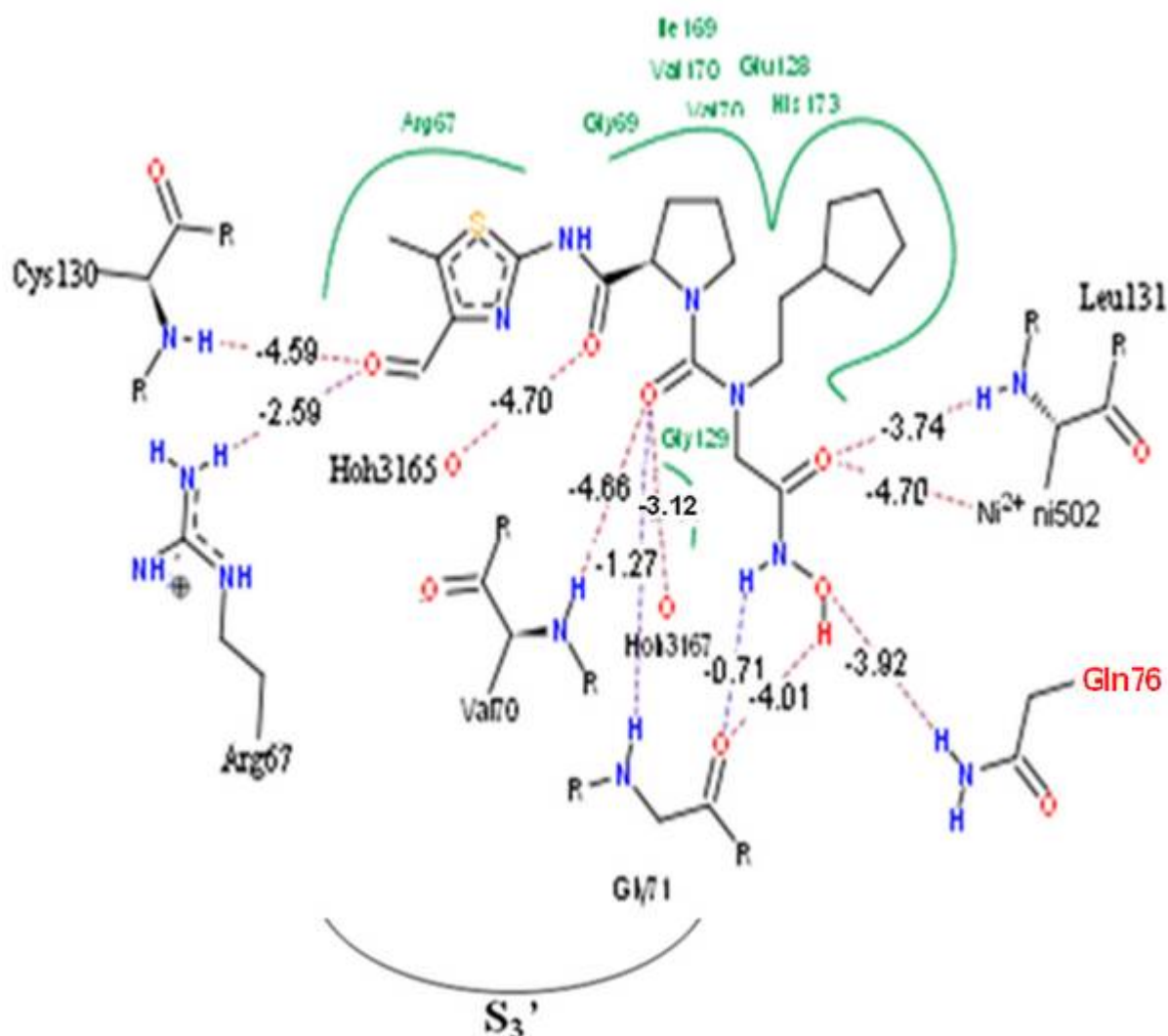


Figure V-14: Interactions moléculaires entre le composé 1 et la 2AIE.

3.2. Les bi substitutions du VRC 4307:

Tableau V-4 : Energies d'interaction (KJ/mol) entre la 2AIE et les composés bi substitués

Composé	score	match	lipo	ambig	clash	rot	#match
7	-39.8811	-40.9926	-9.9583	-11.7921	9.0620	8.4000	14
8	-38.5690	-42.0869	-9.2059	-10.4189	7.9427	9.8000	16

Les bi substitutions donnent de meilleurs résultats. Le composé 7 (-39.8811 KJ/mol) et le composé 8 (-38.5690 KJ/mol) possèdent des très bonnes énergies d'interaction.

• **Complexe II : 2AIE-composé 7 :**

Dans le cas du composé 7, l'amélioration de son énergie de liaison peut être attribuée à la formation des nouvelles liaisons hydrogène, entre le carbonyle en position 4 du noyau thiazole et la deuxième fonction amine de l'Arg67 ($d= 2.50 \text{ \AA}$, $\text{angle}= 133.6^\circ$) et entre la fonction NH autre que celle de groupement chélateur et le carbonyle du Gly68 ($d= 2.17 \text{ \AA}$, $\text{angle}= 148.5^\circ$). (Figure V-15).

Le groupement chélateur est engagé dans deux liaisons hydrogène avec le résidu Glu174, l'un des deux acides aminés qui jouent un rôle important dans la fonction catalytique de cette enzyme, au lieu de Leu131 dans le cas du composé 1, il forme par l'intermédiaire de son hydroxyle une liaison hydrogène supplémentaire avec l'ion métallique ($d= 2.65 \text{ \AA}$).

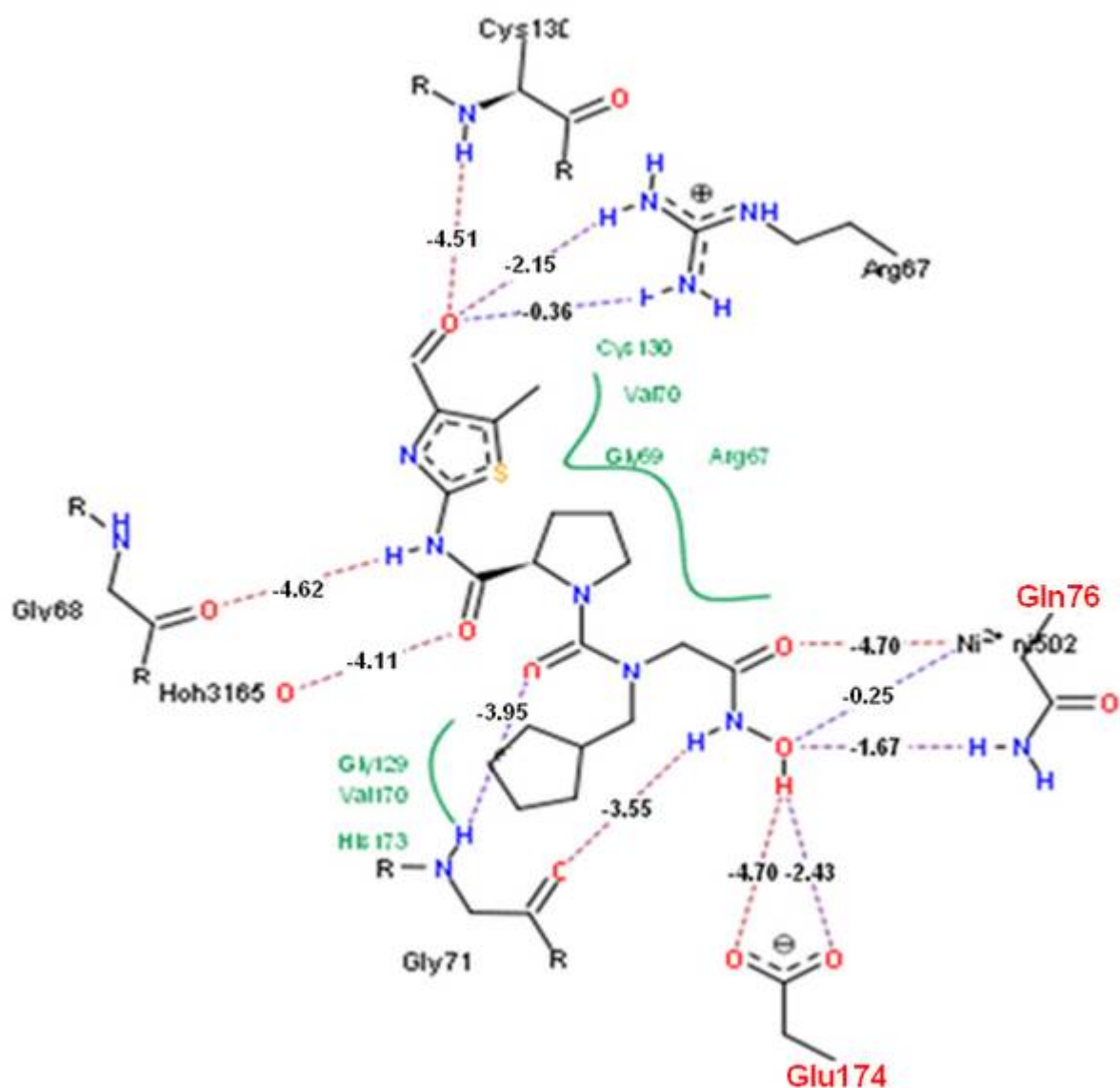


Figure V-15: Mode d'interaction du composé 7 avec le site actif de 2AIE.

- **Complexe III : 2AIE-composé 8 :**

Cette substitution a permis d'augmenter le nombre de liaisons H qui est quatorze, entraînant ainsi une diminution de l'énergie d'interaction. Mais avec six liaisons hydrogène en plus et une diminution d'énergie d'interaction par rapport au ligand de référence de -14 kJ/mol seulement, l'énergie de nombreuses de ces liaisons est très faible, c'est le cas par exemple de la liaison hydrogène formée entre le groupement chélateur par l'intermédiaire de son hydroxyle et l'un des deux atomes d'oxygène du groupement carboxyle de Glu174 qui est de -0.07 kJ/mol ($d = 2.543 \text{ \AA}$, $\text{angle} = 131.7^\circ$).

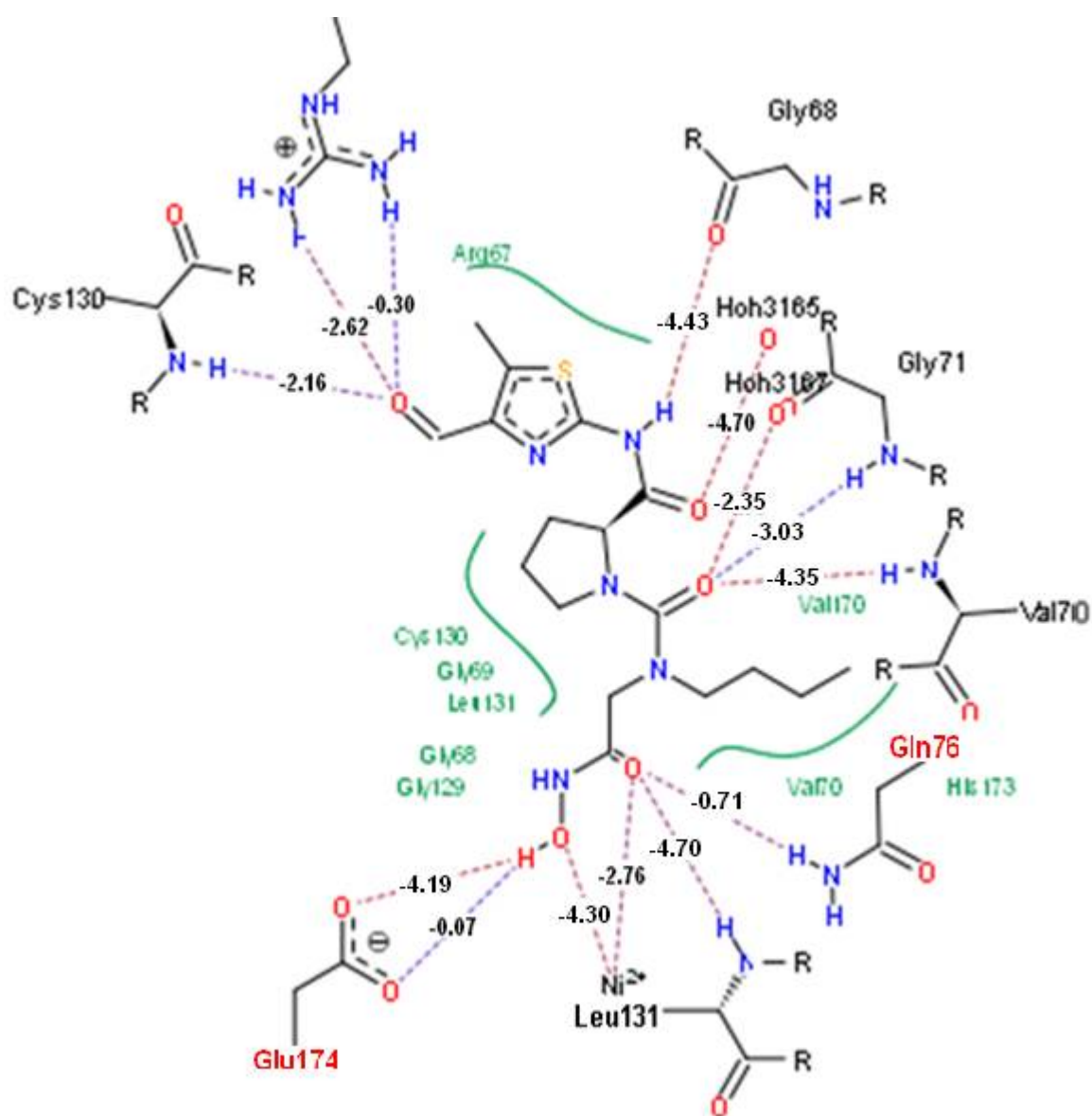


Figure V-16: Modes de liaison du composé 8 avec le site actif de l'enzyme 2AIE.

3.3. Le filtrage ADME/Tox de molécules proposées :

L'activité biologique des composés 1, 7 et 8 étant hypothétique, il est important de compléter leur étude par l'application de la méthode de filtre ADME/Tox. (Tableau V-5).

Tableau V-5 : Propriétés moléculaires des composés substitués

Composé	Poids moléculaire (g/mol)	Log P	Donneur d'H	Accepteur d'H	Nb de fonctions rotatives
1	451.549	1.578	3	10	8
7	437.522	1.308	3	10	7
8	411.484	0.963	3	10	8

Les résultats du tableau montrent que les trois molécules étudiées s'inscrivent parfaitement dans les marges des critères imposés par la règle de Lipinski.

4. Inhibition de la PDF de *Streptococcus pneumoniae* par les dérivés du noyau indole :

Nous avons focalisé notre étude sur les composés qui ont une activité inhibitrice non négligeable sur les deux PDFs bactériennes.

Tableau V-6 : Critères de la règle de Lipinski pour les inhibiteurs étudiés

Ligand	Code PubChem	Poids moléculaire (g/mol)	Log P	Donneur d'H	Accepteur d'H	Nb de fonctions rotatives
6b	CID11572551	269.098	1.841	3	4	2
6d	CID11538647	403.232	3.353	2	6	5
6f	CID16099883	208.192	0.223	3	4	2
6g	CID11615517	224.647	1.710	3	4	2
6i	CID16099885	269.098	1.841	3	4	2

On remarque que tous ces dérivés répondent à la règle de Lipinski.

Les valeurs des énergies d'interactions calculées entre la 2AIE et les diverses molécules testées sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau V-7 : Les énergies d'interaction des complexes 2AIE- dérivés du noyau indole

Ligand	score	match	lipo	ambig	clash	rot	#match
6b	-22.9446	-26.793	-4.1846	-6.3356	4.75500	4.2000	13
6d	-17.1220	-21.3366	-6.9775	-9.0850	6.4771	8.4000	8
6f	-23.0866	-24.3195	-4.1846	-6.3356	4.7550	4.2000	13
6g	-23.7513	-25.5174	-4.1710	-6.7098	3.0469	4.2000	14
6i	-22.9611	-27.0556	-3.7766	-6.5163	4.7874	4.2000	14

Parmi les inhibiteurs étudiés le composé 6g présente la meilleure énergie d'interaction avec la 2AIE ($\Delta G = -23.7513$ kJ/mol). Il présente donc le meilleur effet inhibiteur. Le mode d'interaction de ce composé avec le site de liaison de l'enzyme a été étudié par docking moléculaire avec FlexX (Figure V-17).

- **Interaction 2AIE-6g :**

L'analyse visuelle montre que l'inhibiteur 6g établit cinq liaisons hydrogènes avec les résidus de site actif par l'intermédiaire de son groupement chélateur, Ce dernier est engagé par son carbonyle dans deux liaisons, l'une avec le NH de Leu131 ($d = 1.91$ Å, $\text{angle} = 146.1^\circ$) et l'autre avec l'ion métallique ($d = 2.47$ Å), et par sa fonction NH avec le Gly71 ($d = 1.91$ Å, $\text{angle} = 133^\circ$), les deux dernières liaisons sont formées entre son hydroxyle et l'amine latérale de Gln76 ($d = 1.99$ Å, $\text{angle} = 147.5^\circ$) d'une part et le carbonyle de Gly71 ($d = 2.23$ Å, $\text{angle} = 130.6^\circ$) d'autre part.

Une liaison supplémentaire est observée entre le NH du noyau indole et le carbonyle de Gly68 ($d = 1.98$ Å, $\text{angle} = 144.5^\circ$) un des résidus de la poche S_2' .

Le noyau de la molécule est stabilisé par des interactions hydrophobiques avec les résidus Val70, Cys130 et Leu131 (Figure V-18).

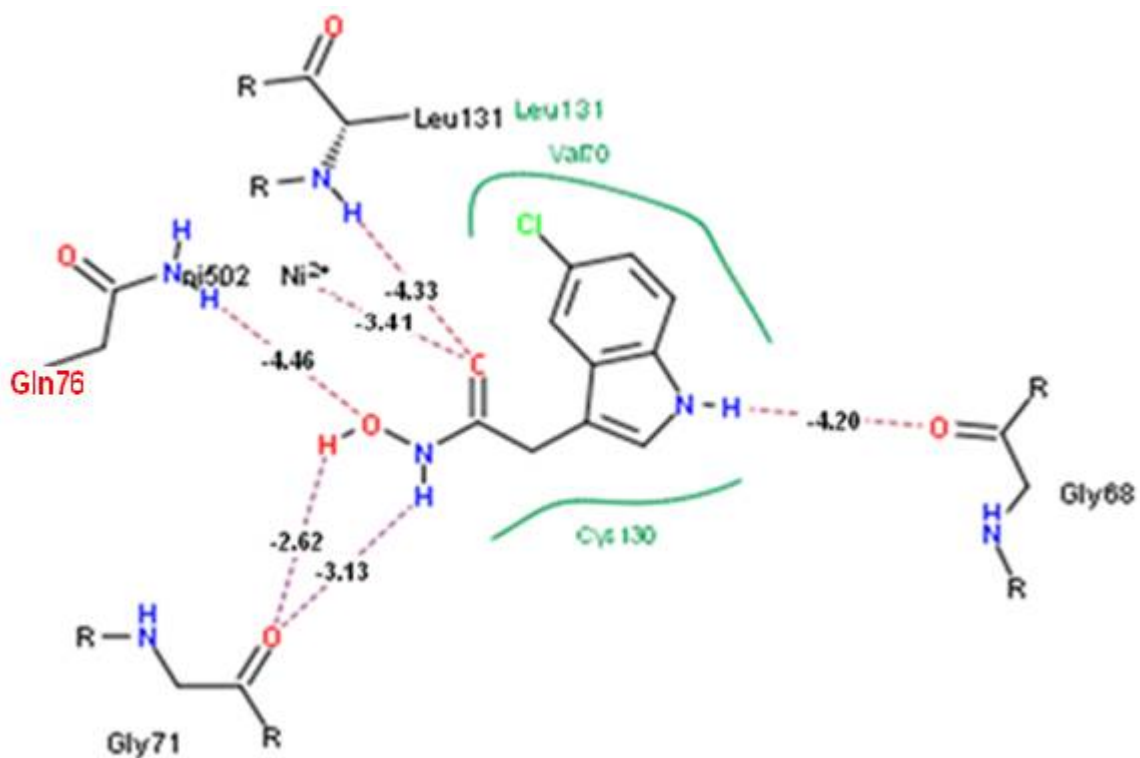


Figure V-17: Docking du composé 6g dans le site de liaison de 2AIE.

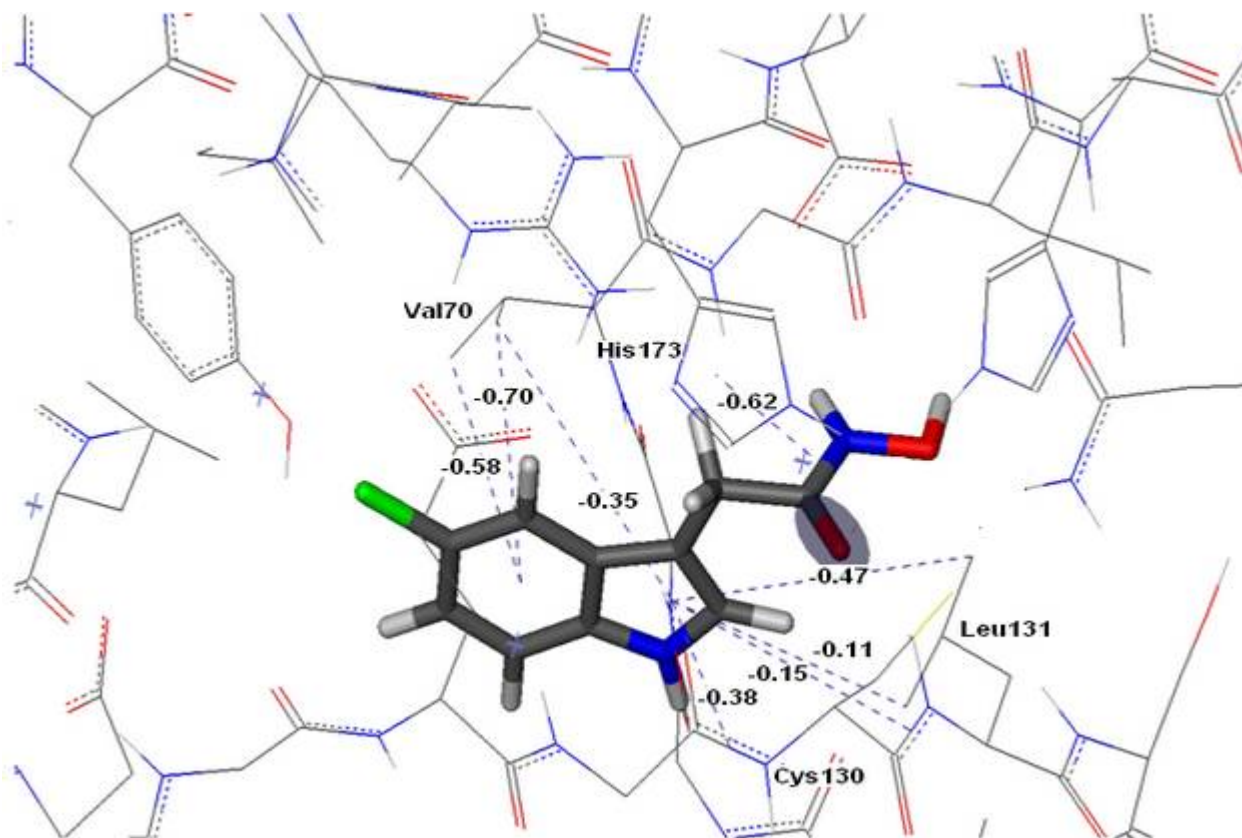


Figure V-18: Interactions hydrophobiques entre le composé 6g et le site actif de 2AIE.

5. Les mono et les bi substitutions du composé 6g:

Nous suggérons l'introduction des modifications structurales sur le composé 6g pour améliorer son activité antibactérienne.

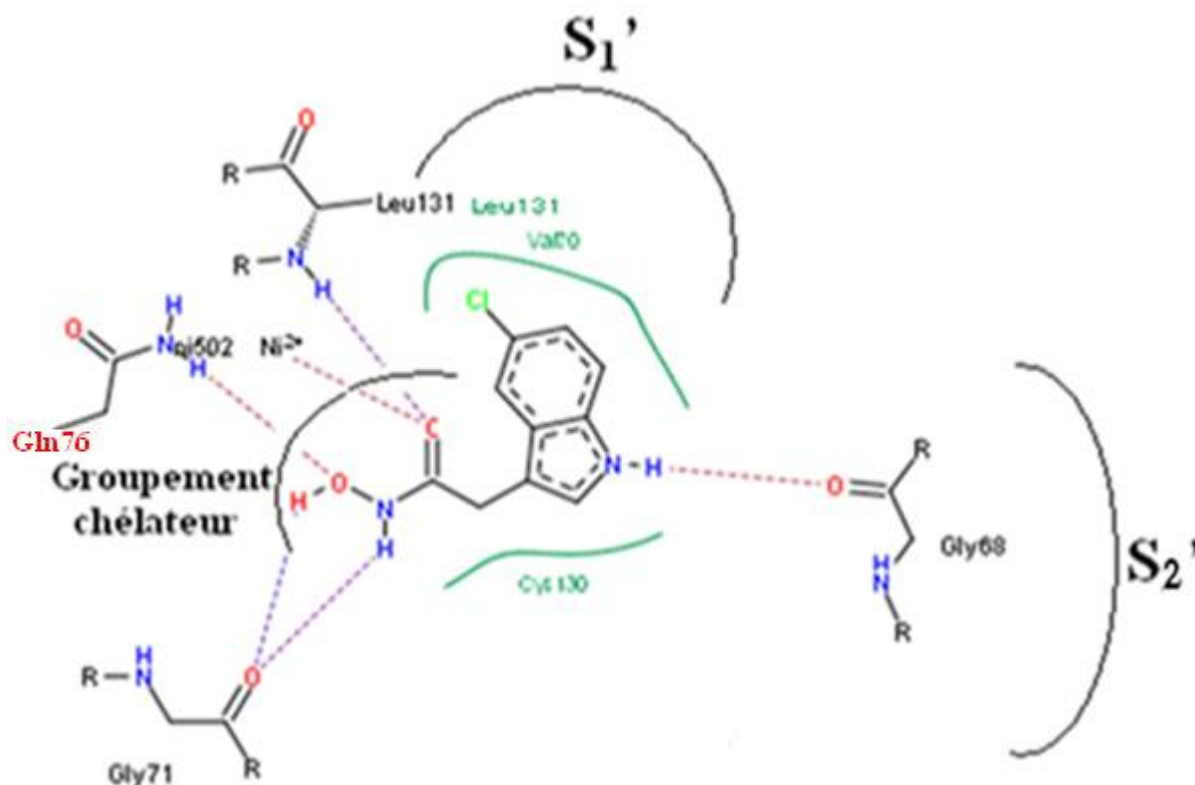


Figure V-19: Mode de liaison du composé 6g avec le site actif de 2AIE.

5.1. Les Mono substitutions :

Tableau V-8 : L'énergie d'interaction des complexes 2AIE- composés mono substitués

Composé	score	match	lipo	ambig	clash	rot	#match
1	-19.7000	-21.0144	-6.5978	-8.2400	6.5521	4.2000	9
2	-28.3765	-27.6198	-6.3388	-9.3822	5.3643	4.2000	16
3	-25.1412	-27.8371	-6.7403	-7.9718	7.8079	4.2000	16
4	-28.6006	-29.1584	-5.4977	-8.3894	3.4450	5.6000	15
5	-24.0092	-26.4773	-3.9875	-7.0303	2.4859	5.6000	16

D'après des résultats, les composés 2 et 4 sont les meilleurs avec une énergie d'interaction de -28.3765 KJ/mol et -28.6006 KJ/mol respectivement.

5.2. Les Bi substitutions :

Tableau V-9 : L'énergie d'interaction des complexes 2AIE- composés bi substitués

Composé	score	match	lipo	ambig	clash	rot	#match
6	-25.1111	-25.7762	-6.45390	-10.1909	6.3099	5.6000	16
7	-29.7628	-35.2260	-5.2650	-6.4327	6.1609	5.6000	14
8	-34.8470	-35.2421	-6.3041	-11.0243	6.7234	5.6000	14

Trois composés bi substitués ont été testés et seulement un parmi eux montre une diminution significative de l'énergie d'interaction. Il s'agit du composé 8 ($\Delta G = -34.8470$ KJ/mol). Le mode d'interaction de ce composé avec le site de liaison de l'enzyme a été étudié par docking moléculaire avec FlexX (Figure V-21).

- **Complexe 2AIE-composé 8 :**

Le composé 8 est le composé 3 ($\Delta G = -25.1412$ kJ/mol) (Figure V-20) avec un groupement carbonyle supplémentaire en position 10.

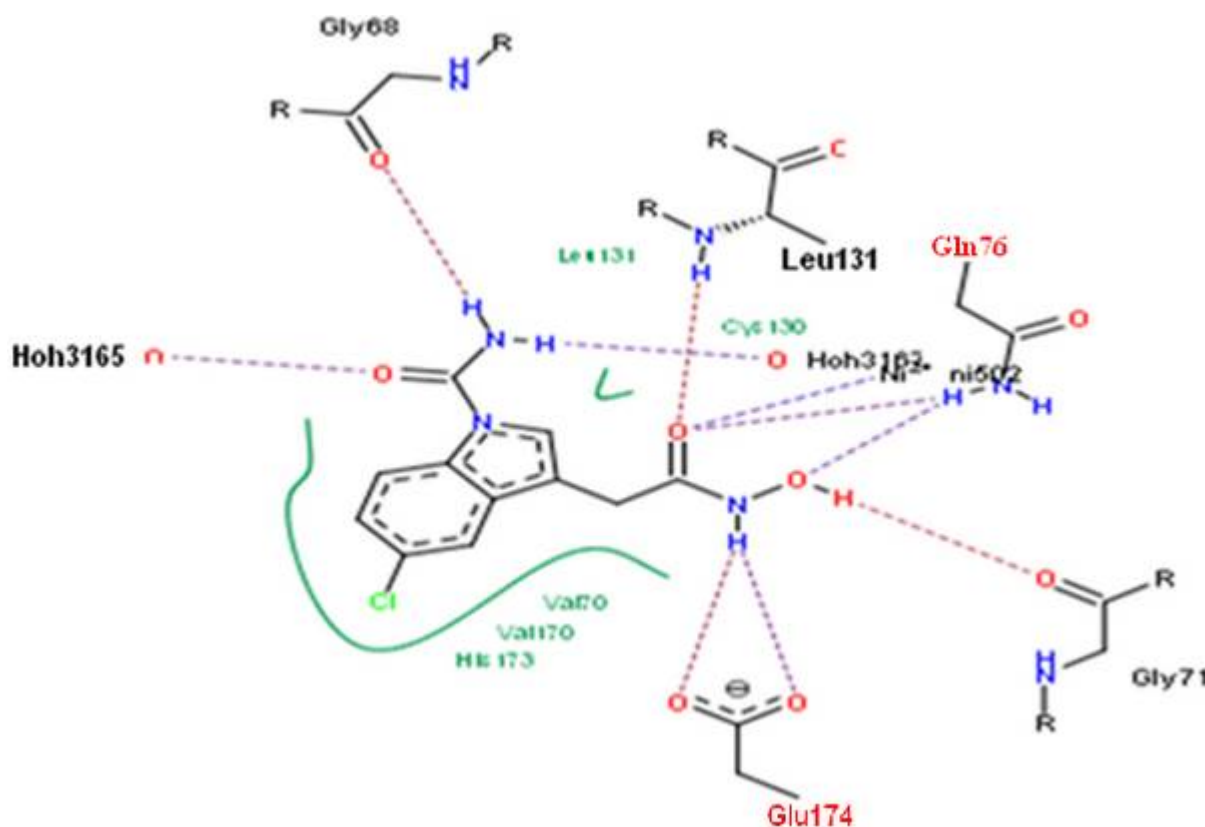


Figure V-20: Interactions moléculaires entre le composé 3 et la 2AIE.

Ce nouveau groupement n'interagit pas avec les résidus de site actif (Figure V-21), mais il change la conformation de ce composé. L'analyse visuelle montre que l'addition d'un groupement amide en position 1 favorise la formation de deux liaisons hydrogène, l'une avec le carbonyle du Val170 ($d= 1.89 \text{ \AA}$, $\text{angle}= 135^\circ$) et l'autre avec le carboxyle de l'acide aminé qui joue un rôle important dans la fonction catalytique de cette enzyme qui est le Glu174 ($d= 2.13 \text{ \AA}$, $\text{angle}= 128.9^\circ$) par l'intermédiaire d'un de ces deux atomes d'oxygène. L'hydroxyle du groupement chélateur est engagé dans deux liaisons hydrogène avec le carboxyle du Glu174 au lieu d'une seule avec le Gly71 dans le cas du composé 6g.

Des interactions hydrophobiques sont aussi observées avec les résidus Tyr166 et Val170. (Figure V-21)

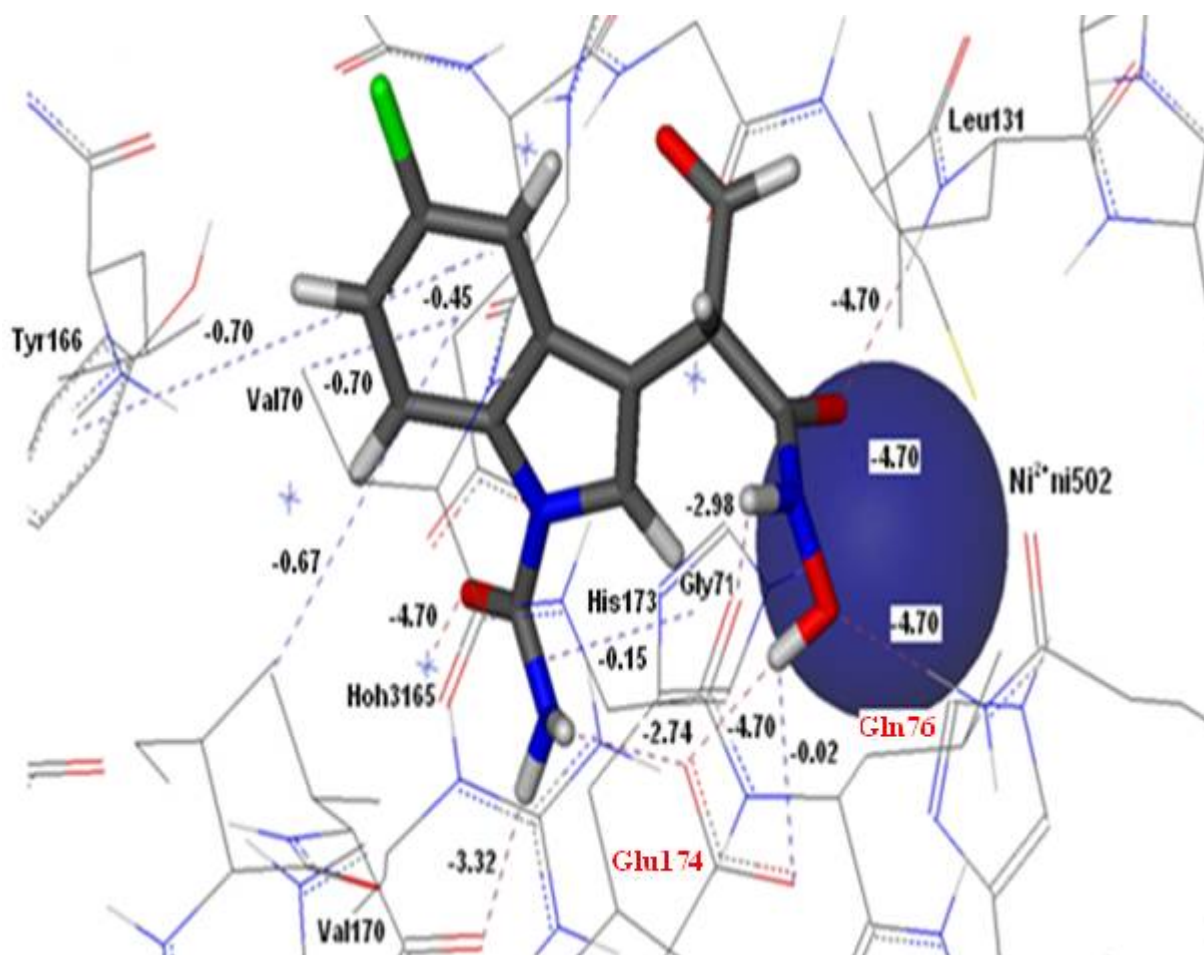


Figure V-21: Mode d'interaction du composé 8 avec le site actif de 2AIE.

5.3. Prédiction des propriétés pharmacocinétiques :

Même si l'optimisation de l'activité biologique d'un ligand avec une cible protéique est importante pour l'élaboration de nouveaux traitements, il est important de compléter leur étude par la règle de Lipinski (Tableau V-10).

Tableau V-10 : Critères de la règle de Lipinski pour le composé obtenu.

Composé	Poids moléculaire (g/mol)	Log P	Donneur d'H	Accepteur d'H	Nb de fonctions rotatives
8	295.482	0.664	4	7	3

L'inhibiteur proposé dans cette partie d'étude est conforme aux critères de la règle de Lipinski.

CONCLUSION

L'objectif primordial de notre travail a été l'évaluation du programme FlexX. Ce programme est parmi les plus utilisés en modélisation moléculaire, il permet de simuler les interactions entre protéines et ligands et d'aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique, d'où notre second objectif.

FlexX peut être considéré suffisamment performant puisqu'il reproduit assez bien les résultats expérimentaux avec 79.24 % des valeurs de RMSD inférieures ou égale à 2Å. Il a été utilisé pour étudier l'inhibition d'une cible bactérienne parmi les plus attrayantes ces dernières années, la peptide déformylase, enzyme présente chez un grand nombre de microorganismes pathogènes responsables de diverses infections qui affectent des centaines de millions de personnes à travers le monde et entraînent des millions de décès chaque année.

Nous avons ciblé notre travail sur la peptide déformylase de *Streptococcus pneumoniae* qui est l'agent infectieux le plus couramment incriminé dans les cas graves de pneumonie.

L'étude de l'inhibition de la 2AIE par les divers inhibiteurs connus montre que le VRC 4307 est le meilleur avec une $\Delta G = -24.9923$ kJ/mol.

L'étude de la modélisation réalisée sur le VRC 4307 montre que l'énergie de liaison peut être diminuée de manière significative par un choix judicieux des fragments à substituer. Le remplacement du radical méthyle en position 4 du noyau thiazole, situé au niveau de la région P3', par un groupement carbonyle et la partie hydrophobe P1' par d'autres groupes de même nature diminue l'énergie d'interaction de 15 unités (-24.9923 à -39.8811 kJ/mol).

La présence de séquences des homologues de PDF dans les chromosomes nucléaires de parasites, des plantes, des mammifères ainsi que des êtres humains spécifiquement adressées vers les organites, a poussé les scientifiques à rechercher des inhibiteurs de PDF bactériennes qui n'auraient pas d'effet significatif sur la PDF humaine. Le noyau indole et ses dérivés se sont révélés pouvoir réaliser cela. Les résultats de nos tests lors de l'inhibition de la 2AIE par ces composés montrent que le composé 6g, avec une $\Delta G = -23.7513$ kJ/mol, présente le meilleur effet inhibiteur.

L'introduction d'un amide en position 1 et d'un carbonyle en position 10 au niveau du composé 6g diminue l'énergie d'interaction jusqu'à -34.8470 KJ/mol.

Les potentialités biologiques de ces molécules proposées sont enfin vérifiées par leurs propriétés pharmacocinétiques. Celles-ci sont conformes aux critères imposés par la règle de Lipinski. En se référant à leurs faibles poids moléculaires et à leurs coefficients de partage octanol/eau positifs, ces structures se présentent comme des inhibiteurs potentiels de l'enzyme considérée.

Il conviendrait dans le prolongement de cette étude, d'utiliser d'autres programmes de docking moléculaire et d'autres fonctions de score pour confirmer les résultats obtenus et de tester l'activité biologique des structures nouvellement proposées par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- [1] Manuel C., Lucas C., Charlton L. responsabilités dans le traitement des maladies infectieuses. In : [http://etab.acmontpellier.fr/0341386x/collegelotrentanel/file/enseignement/20072008/svt/ MaldinfectieusesCCC.pdf](http://etab.acmontpellier.fr/0341386x/collegelotrentanel/file/enseignement/20072008/svt/MaldinfectieusesCCC.pdf). (Consulté le 14 Février 2011).
- [2] Léophonte P. pneumonies. Paris : John Libbery Eurotext, 2001, P 18-46, 145, 150, 172
- [3] L'Organisation Mondiale de la Santé. Site officiel de l'Organisation Mondiale de la Santé. Pneumonie. Mise à jour Novembre 2010. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs331/fr/>. (Consulté le 27 Février 2011).
- [4] Bouakba A. Site de All Africa. Mise à jour le 20 Février 2011. <http://fr.allafrica.com/stories/201102200020.html>. (Consulté le 22 février 2011).
- [5] Bolsover S. R., Hyams J. S., Shephard E. A., White H. A. Biologie cellulaire et moléculaire. 2eme édition. Paris : Dunod, 2006, P193-196.
- [6] Wodak S. J., Janin J. 1978. Computer analysis of protein-protein interactions. *J. Mol. Biol.* **124**, 323-342.
- [7] Couret N. C. Impact d'un protocole d'observation de pneumonies aiguës communautaires hospitalisées. Thèse de Doctorat en médecine. France : Université Paul Sabatier – Toulouse, 2007, 74 p.
- [8] Perry J. J., Staley J. T., Lory S. Microbiologie. Paris : Dunod, 2004, P114-118.
- [9] Jeanbourquin D., Minvielle F., Le Bivic T., Hauret L., El Fikri A., Dion A. M., Baccialone J. 2004. Imagerie moderne des pneumonies infectieuses aiguës. *EMC-Radiologie.* **1**, 98–129.
- [10] Brisou P., Chamouilli J. M., Gaillard T., Muzellec Y. 2004. Infections à pneumocoque. *EMC-Pédiatrie.* **1**, 410–431.
- [11] l'Organisation Mondiale de la Santé. Site officiel de l'Organisation Mondiale de la Santé. Traitement et prévention de la pneumonie. 2010. 5p. http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA63/A63_26-fr.pdf. (Consulté le 12 Mars 2011).
- [12] Rieux V. 2002. Les facteurs de virulence de *Streptococcus pneumoniae*. *Méd Mal Infect.* **32**, 1-12.
- [13] L'Organisation Mondiale de la Santé. Site officiel de l'Organisation Mondiale de La Santé. Haemophilus influenzae de type b (Hib). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs294/fr/index.html>. (Consulté le 12 Mars 2011).

- [14] Guery B., Escrivan T., Georges H., Legout L., Leroy O., Viget N., Faure K. 2004. Pneumonie virale sévère de l'immunocompétent. *Réanimation*. **13**, 226–237.
- [15] Chidiac C. 2011. Antibiothérapie par voie générale dans les infections respiratoires basses de l'adulte. Pneumonie aiguë communautaire. *Médecine et maladies infectieuses*. **41**, (5), 221-228.
- [16] Bédos J. P., Bruneel F. 2006. Antibiothérapie des pneumonies aiguës communautaires à *Streptococcus pneumoniae*. *Médecine et maladies infectieuses*. **36**, 667–679.
- [17] Sollet J. P., Legall C. 2005. Pneumonies communautaires graves de l'adulte. *EMC - Anesthésie-Réanimation*. 141-166.
- [18] Folia Pharmacotherapeutica / Centre belge d'information pharmaco-thérapeutique. Usage rationnel des antibiotiques dans les infections aiguës des voies respiratoires en première ligne. 2006. **33**, 82-83. In: <http://www.cbip.be>. (Consulté le 22 Mars 2011).
- [19] Waschbisch T., Schlessler M., Nati R. 2002. Traitement de la pneumonie acquise en situation communautaire. *Bull. Soc. Sci. Méd.* **2**, 121-134.
- [20] Hansman D., Bullen M. M. 1967. A resistant pneumococcus. *Lancet*. **2**, 264-5.
- [21] Hansman D., Glasgow H., Sturt J., Devitt L., Douglas R. 1971. Increased resistance to penicillin of pneumococci isolated from man. *N Engl J Med*. **284** (4), 175–177.
- [22] Hansman D., Devitt L., Miles H., Riley I. 1974. Pneumococci relatively insensitive to penicillin in Australia and New Guinea. *Med J*. **2** (10), 353–356.
- [23] Smaoui H., Amri J., Hajji N., Kechrid A. 2009. Sensibilité aux antibiotiques et distribution des sérotypes des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées chez l'enfant à Tunis. *Archives de Pédiatrie*. **16**, 220-22
- [24] Vergnaud M., Bourdon S., Brun M., Cattier B., Chanal C., Chardon H. 2003. Observatoires régionaux du pneumocoque : analyse de la résistance aux antibiotiques et des sérotypes de *Streptococcus pneumoniae* en 2001. *Bull Epidemiol Hebd*. **37**, 173–176.
- [25] Direction générale de la santé, Comité technique des vaccinations. Guide des vaccinations. France : Inpes. 2008, 448 p.
- [26] Cattoir V., Daurel C. 2010. Quelles nouveautés en antibiothérapie. *Médecine et maladies infectieuses*. **40**, 135–154.
- [27] Gross M., Clements J., Beckett RP., Thomas W., Taylor S., Lofland D., Ramanathan-Girish S., Garcia M., Difuntorum S., Hoch U., Chen H., Johnson KW. 2004. Oral anti pneumococcal activity and pharmacokinetic profiling of a novel peptide deformylase inhibitor. *J Antimicrob Chemother*. **53** (3), 487-93.

- [28] Azoulay-Dupuis E., Mohler J., Bédos J. P. 2004. Efficacy of BB-83698, a Novel Peptide Deformylase Inhibitor, in a Mouse Model of Pneumococcal Pneumonia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **48** (1). 80–85.
- [29] Serero. A. Caractérisation des enzymes impliquées dans la voie d'excision de la première méthionine des protéines synthétisées dans les mitochondries et les plastes. Thèse de Doctorat en Biochimie – Biologie Moléculaire. France : université de Paris XI-Orsay, 2004. 164 p.
- [30] Adams J. M. 1968. Isoxazoles as peptide deformylase inhibitors *J. Mol. Biol.* **33**, 571-589.
- [31] Meinnel T., Blanquet S. 1993. Evidence that peptide deformylase and methionyltRNA (fMet) formyltransferase are encoded within the same operon in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **175**, 7737-7740.
- [32] Rajagopalan P. T. R., Yu X. C., Pei D. 1997. Peptide deformylase : new type of mononuclear iron protein. *J Am Chem Soc.* **119**, 12418-12419.
- [33] Rajagopalan P. T. R., Pei D. 1998. Oxygen-mediated inactivation of peptide deformylase. *J Biol Chem.* **273**, 22305-22310.
- [34] Ragusa S., Blanquet S., Meinnel T. 1998. Control of peptide déformylase activity by metal cations. *J. Mol. Biol.* **280**, 515-523.
- [35] Giglione C., Pierre M., Meinnel T. 2000. Peptide deformylase as a target for new generation, broad spectrum antimicrobial agents. *Mol. Microbiol.* **36**, 1197–1205.
- [36] Giglione C., Boularot A., Meinnel T. 2004. Protein N-terminal methionine excision. *Cell Mol Life Sci.* **61**, 1455–1474.
- [37] Guilloteau J.P., Mathieu M., Giglione C., Blanc V., Dupuy A., Chevrier M., Gil P., Famechon A., Meinnel T., Mikol V. 2002. The crystal structures of four peptide deformylases bound to the antibiotic actinonin reveal two distinct types: A platform for the structure-based design of antibacterial agents. *J. Mol. Biol.* **320**, 951–962.
- [38] Escobar A. S., Goldgur Y., Yang G., Ouerfelli O., Li Y., Scheinberg D. A. 2009. Structure and Activity of Human Mitochondrial Peptide Deformylase, a Novel Cancer Target. *J. Mol. Biol.* **387**, 1211–1228.
- [39] Giglione C., Meinnel T. 2001. Peptide deformylase as an emerging target for antiparasitic agents. *Emerg Therap Targets*, **5**, 41–57.
- [40] Baldwin E. T., Harris M. S., Yem A. W., Wolfe C. L., Vosters A. F., Curry K. A., Murray R. W., Bock J. H., Marshall V. P., Cialdella J. I., Merchant M. H., Choi G., Deibel M. R. Crystal Structure of Type II Peptide Deformylase from *Staphylococcus aureus*. 2002. *J Biol Chem.* **277** (34), 31163–31171.

- [41] Meinnel T., Lazennec C., Blanquet S. 1995. Mapping of the active site zinc ligands of peptide deformylase. *J Mol Biol.* **254**, 175-183.
- [42] Meinnel T., Lazennec C., Villoing S., Blanquet, S. 1997. Structure-function relationships within the peptide deformylase family. Evidence for a conserved architecture of the active site involving three conserved motifs and a metal ion. *J Mol Biol.* **267**, 749–761.
- [43] Chan M. K., Gong W., Rajagopalan P. T. R., Hao B., Tsai C. M., Pei, D. 1997. Crystal structure of the *Escherichia coli* peptide déformylase. *Biochemistry*, **36**, 13904-13909.
- [44] Becker A., Schlichting I., Kabsch W., Groche D., Schultz S., Wagner A.F. 1998. Iron center, substrate recognition and mechanism of peptide deformylase. *Nat Struct Biol.* **5**, 1053-1058.
- [45] Becker A., Schlichting I., Kabsch W., Schultz S., Wagner A.F. 1998. Structure of peptide deformylase and identification of the substrate binding site. *J Biol Chem.* **273**, 11413-11416.
- [46] Hao B., Gong W., Rajagopalan P.T., Zhou Y., Pei D., Chan M. K. 1999. Structural basis for the design of antibiotics targeting peptide deformylase. *Biochemistry*. **38**, 4712-4719.
- [47] Ragusa S., Mouchet P., Lazennec C., Dive V., Meinnel T. 1999. Substrate recognition and selectivity of peptide deformylase. Similarities and differences with metzincins and thermolysin. *J Mol Biol.* **289**, 1445-1457.
- [48] Smith K. J., Petit C. M., Aubart K., Smyth M., Mcmanus E., Jones J., Fosberry A., Lewis C., Lonetto M., Christensen S.B. 2003. Structural variation and inhibitor binding in polypeptide deformylase from four different bacterial species. *Protein Sci.* **12**, 349–360.
- [49] Meinnel T., Blanquet S., Dardel, F.1996. A new subclass of the zinc metalloproteases superfamily revealed by the solution structure of peptide deformylase. *J Mol Biol.* **262**, 375-386.
- [50] Nguyen K.T., Hu X., Colton C., Chakrabarti R., Zhu M.X., Pei D. 2003. Characterization of a human peptide deformylase: Implications for antibacterial drug design. *Biochemistry*. **42**, 9952–9958.
- [51] Serero A., Giglione C., Sardini A., Martinez-Sanz J., Meinnel T. 2003. An unusual peptide deformylase features in the human mitochondrial N-terminal methionine excision pathway. *J. Biol. Chem.* **278**, 52953–52963.
- [52] Lee M.D., Antczak C., Li Y., Sirotnak F.M., Bornmann W.G., Scheinberg D.A. 2003. A new human peptide deformylase inhibitable by actinonin. *Biochem Biophys Res Commun.* **312** (2), 309–315.

- [53] Lee M. D., She Y., Soskis M. Y., Borella C. P., Gardner J. R., Hayes P. A., Dy B. M., Heaney M. L., Philips M.R., Bornmann W. G., Sirotnak F. M., Scheinberg D. A. 2004. Human mitochondrial peptide deformylase, a new anticancer target of actinonin-based antibiotics. *The Journal of Clinical Investigation*. **114** (8), 1107-1116.
- [54] Gordon J. J., Kelly B. K., Miller G. A. 1962. Actinonin: an antibiotic substance produced by an actinomycete. *Nature*. **195**, 701–702.
- [55] Chen D. Z., Patel D. V., Hackbarth C. J., Wang W., Dreyer G., Young D. C. 2000. Actinonin, a naturally occurring antibacterial agent, is a potent deformylase inhibitor. *Biochemistry*. **39**, 1256-1262.
- [56] Chikhi A., Bensegueni A., Boulahrouf A., Bencharif M. 2006. Theoretical study of *Escherichia coli* peptide deformylase inhibition by several drugs. *In Silico Biology*. **6**, 459-466.
- [57] Yoo J. S., Zheng C. J., Lee. S., Kwak J. H., Kim W. G. Macrolactin N, 2006. a new peptide deformylase inhibitor produced by *Bacillus subtilis*. *Bioorganic Medicinal Chemistry*. **16**, 4889–4892.
- [58] Yuan Z., Trias J., and White R. J. 2001. Deformylase as a novel antibacterial target. *Drug Discov Today*. **6**, 954-961.
- [59] Apfel C., Banner DW., Bur D., Dietz M., Hirata T., Hubschwerlen C., Locher H., Page M. G., Pirson W., Rossé G., Specklin JL. 2000. Hydroxamic acid derivatives as potent peptide deformylase inhibitors and antibacterial agents. *J Med Chem*. **43** (12), 2324-31.
- [60] Hu X., Nguyen K. T., Jiang V. C., Lofland D., Moser H. E., Pei D. 2004. Macrocyclic inhibitors for peptide deformylase: a structure-activity relationship study of the ring size. *Curr Opin Investig Drugs*. **5** (8), 809-22.
- [61] Chen D., Hackbarth C., Ni Z. J., Wu C., Wang W., Jain R., He Y., Bracken K., Weidmann B., Patel D. V., Trias J., White R. J., Yuan Z. 2004. Peptide Deformylase Inhibitors as Antibacterial Agents: Identification of VRC3375, a Proline-3-Alkylsuccinyl Hydroxamate Derivative, by Using an Integrated Combinatorial and Medicinal Chemistry Approach. *Antimicrob Agents Chemother*. **48**, 250-261.
- [62] Clements J. M., Beckett R. P., Brown A., Catlin G., Lobell M., Palan S., Thomas W., Whittaker M., Wood S., Salama S., Baker P. J., Rodgers H. F., Barynin V., Rice D. W., Hunter M. G. 2001. Antibiotic activity and characterization of BB-3497, a novel peptide deformylase inhibitor. *Antimicrob Agents Chemother*. **45**, 563–570.

- [63] Wise R., Andrews J. M., Ashby J. 2002. In Vitro Activities of Peptide Deformylase Inhibitors against Gram-Positive Pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46** (4), 1117-1118,
- [64] Hackbarth C. J., Chen D. Z., Lewis J. G., Clark K., Mangold J. B., Cramer J. A., Margolis P. S., Wang W., Koehn J., Wu C., Lopez S., Withers G., Gu H., Dunn E., Kulathila R., Pan S. H., Porter W. L., Jacobs J., Trias J., Patel D. V., Weidmann B., White R. J., Yuan Z. 2002. N-Alkyl Urea Hydroxamic Acids as a New Class of Peptide Deformylase Inhibitors with Antibacterial Activity. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**, 2752-2764.
- [65] Lofland D., Difuntorum S., Waller A., Clements J. M., Weaver M. K., Karlowsky J. A., Johnson K. 2004. In vitro antibacterial activity of the peptide deformylase inhibitor BB-83698. *J Antimicrob Chemother.* **53**, 664-668.
- [66] Fritsche, T.R., Rhomberg, P.R. and Jones, R.N. (2004) 44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington, DC, USA, Poster D-1919.
- [67] Huntington K. M., Yi T., Wei, Y., Pei, D. 2000. Synthesis and Antibacterial Activity of Peptide Deformylase Inhibitors. *Biochemistry.*, **39**, 4543-4551.
- [68] Hu Y. J., Rajagopalan P. T., Pei D. 1998. H-phosphonate derivatives as novel peptide deformylase inhibitors. *Bioorg Med Chem Let.* **8**, 2479-2482.
- [69] Durand D. J., Green B. G., B. G., O'Connell J. F., Grant S. K. 1999. Peptide aldehyde inhibitors of bacterial peptide deformylases. *Arch Biochem Biophys.* **367**, 297–302.
- [70] Bowker K. E., Noel A. R., Macgowan A. P. 2003. In vitro activities of nine peptide deformylase inhibitors and five comparator agents against respiratory and skin pathogens. *International Journal of Antimicrobial Agents.* **22**, 557-561.
- [71] Roig J., Casal J., Gispert P., Gea E. 2006. Antibiotic therapy of community-acquired pneumonia caused by atypical agents. *Médecine et maladies infectieuses.* **36**, 680–689.
- [72] Johnson K.W., Lofland D., Moser H. E. 2005. PDF Inhibitors: An Emerging Class of Antibacterial Drugs. *Current Drug Targets – Infectious Disorders.* **5** (1), 39-52.
- [73] Yuan Z., White R. 2006. The evolution of peptide deformylase as a target: Contribution of biochemistry, genetics and genomics. *Biochemical pharmacology.* **71**, 1042 – 1047.
- [74] Jeanette W. P., Pamela T., David B., Amelia S. L., Mahesh N., Xinyi N., Jeyaraj D., Sarah L., Veronique D., Mark S., Samiul H., Michael C., Neil S. R., Xia Y., Beat W., Kathryn B., Thomas D., Kakoli M. 2006. Peptide Deformylase Inhibitors as Potent Antimycobacterial Agents. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* **50** (50), 3665–3673.
- [75] Robert C. M. 2011. Discovering new antimicrobial agents. *International Journal of Antimicrobial Agents.* **37**, 2–9.

- [76] Fischer E. 1894. Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. *Ber.* **27**, 2985–2993.
- [77] Korb O., Stützle T., Exner T. 2006. Plants: Application of Ant Colony Optimization to Structure-Based Drug Design. *Computer Science.* **4150**, 247-258.
- [78] Chen H. M., Liu B. F., Huang H. L., Hwang S. F., Ho S. Y. 2007. SODOCK: swarm optimization for highly flexible protein-ligand docking. *J. Comput. Chem.* **28** (2), 612-623.
- [79] Sousa S. F., Fernandes P. A., Ramos M. J. 2006. Protein ligand docking: current status and future challenges. *Proteins.* **65**, 15–26.
- [80] Taylor R. D., Jewsbury P. J., Essex J. W. 2003. FDS: flexible ligand and receptor docking with a continuum model and soft-core energy function. *J. Comput. Chem.* **24** (13), 1637–1656.
- [81] Huang S. Y., Zou. X. 2010. Advances and Challenges in Protein-Ligand Docking. *Int. J. Mol. Sci.* **11**, 3016-3030.
- [82] Kuntz I. D. 1992. Structure-based strategies for drug design and discovery. *Science.* **257**, 1078-1082.
- [83] Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. 1996. A Fast Flexible Docking Method Using an Incremental Construction Algorithm. *J. Mol. Biol.* **261**, 470-489.
- [84] Beautrait A. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel. Thèse de Doctorat en Chimie Informatique et Théorique. France : Université Henri Poincaré – Nancy I. 2008. 122 p.
- [85] Jones G., Willett P., Glen R. C. 1995. Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation. *J. Mol. Biol.* **245**, 43-53.
- [86] Jones G., Willett P., Glen R. C., Leach A. R., Taylor R. 1997. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J. Mol. Biol.* **267**, 727-748.
- [87] Morris G. M., Goodsell D. S., Halliday R. S., Huey R., Hart W. E., Belew R. K., Olson A. J. 1998. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J. Comput. Chem.* **19**, 1639-1662.
- [88] Gohlke H., Klebe G. 2002. Approaches to the description and prediction of the binding affinity of small-molecule ligands to macromolecular receptors. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **41** (15), 2644-2676.
- [89] Thiriote E. Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques : développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Méthionine Sulfoxyde Réductases de classe A. Thèse de Doctorat en Chimie Informatique et Théorique. France : Université Henri Poincaré – Nancy I. 2009. 287 p.

- [90] Kramer B., Rarey M., Lengauer T. 1999. Evaluation of the FlexX Incremental Construction Algorithm for Protein–Ligand Docking. *Proteins*. **37**, 228–241.
- [91] BioSolveit GmbH, An der Ziegelei 75, D-53757 Sankt Augustin, Germany. <http://www.biosolveit.de/FlexX/>
- [92] Vieth M., Hirst JD., Kolinski A., Brooks CL. 1998. Assessing energy functions for flexible docking. *J. Comput. Chem.* **19**, 1612-1622.
- [93] Gabb J., Jackson RM., Sternberg MJE. 1997. Modeling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *J. Mol. Biol.* **272**, 106-120.
- [94] Laboratoire national de Brookhaven. 1971. Protein Data Bank. <http://www.rcsb.org./pdb>.
- [95] le Centre National des Informations Biotechnologiques (NCBI). PubChem. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- [96] Accelrys Inc. ViewerLite. <http://www.accelrys.com>.
- [97] Logiciel Openbabel. <http://openbabel.sourceforge.net>.
- [98] Pichota A., Duraiswamy J., Yin Z., Keller T. H., Alam J., Liung S., Lee G., Ding M., Wang G., Chan W. L., Schreiber M., Ma I., Beer D., Ngew X., Mukherjee K., Nanjundappa M., Teo J. W., Thayalan P., Yap A., Dick T., Meng W., Xu M., Koehn J., Pan S. H., Clark K., Xie X., Shoen C., Cynamon M. 2008. Peptide deformylase inhibitors of Mycobacterium tuberculosis: synthesis, structural investigations, and biological results. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **18** (24), 6568-6572.
- [99] ArgusLab 4.0.1, Mark A. Thompson. Planaria software LLC. Seattle
- [100] Adrien B., Carmela G., Sylvain P., Yann D., Rodolphe A., Valéry L., Thierry C., Frédéric D., Isabelle A., Thierry M. 2007. Discovery and Refinement of a New Structural Class of Potent Peptide Deformylase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*. **50** (1), 10-20.
- [101] Lipinski C. A., Lombardo F, Dominy B. W., Feeney P. J. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **46**, 3-26.
- [102] Université de Bratislava. 1986. Molinspiration. <http://www.molinspiration.com/>.
- [103] Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase – substances antibactériennes a l’aide de techniques de “docking” (arrimage) moléculaire. Thèse de Doctorat en microbiologie. Algérie : Université Mentouri Constantine, 2007, 126p.

ANNEXE 1

Liste des 106 complexes utilisés pour tester la fiabilité de programme FlexX

Code de complexe	score	match	lipo	ambig	clash	rot	rmsd	simi	#match
3O1L	-6.3603	-14.4910	-1.9564	-3.0089	0.6954	7.0000	1.3710	1.3112	4
2AI7	-1.1822	-5.9000	-5.4606	-5.3635	2.9419	7.0000	1.1248	0.9169	7
1G2A	-14.2493	-21.7223	-12.4886	-11.5584	6.6163	15.4000	1.1163	0.9598	9
1G27	-15.6989	-22.7725	-11.6677	-9.9109	9.2522	14.0000	1.3088	1.3088	8
3G5K	-29.612	-38.9696	-10.5363	-10.4763	8.0693	16.8000	1.1501	0.8865	13
1SV2	-4.3031	-11.4432	-5.9221	-3.0048	3.6670	7.0000	1.4553	1.4211	3
1MRG	-23.5891	-18.4034	-6.5277	-6.5486	2.4906	0.0000	0.7369	0.7369	10
1LNA	-2.6968	-2.1000	-2.5649	-1.1754	1.7371	1.4000	0.8651	0.8651	3
1SZZ	-23.0807	-25.0329	-16.3694	-10.8967	5.4184	15.40000	1.5150	1.3830	10
1LM4	-10.9518	-12.642	-2.0263	-2.8335	1.1501	0.0000	4.1625	3.4671	4
1LRU	-29.8116	-32.7123	-10.5811	-9.9282	2.6100	15.4000	1.0982	1.0862	7
1RLU	-41.3426	-42.2759	-7.1610	-14.0667	2.7610	14.000	1.2259	1.0043	3
1DI8	-26.2602	-22.6339	-11.9723	-4.9333	3.6793	4.2000	0.4156	0.4156	21
1DWD	-40.1001	-39.7818	-16.3563	-9.5504	8.9884	11.2000	0.8407	0.7257	20
1O86	-38.6181	-45.4536	-10.9678	-8.4216	4.0248	16.8000	0.8548	0.8356	18
1STP	-34.5204	-31.8024	-9.8689	-6.5615	1.3123	7.0000	0.5830	0.5727	8
3PTB	-23.0737	-16.2682	-6.6411	-6.2595	0.6951	0.0000	0.5794	0.5644	8
1IX1	-18.0826	-25.2439	-11.9669	-8.8913	7.2195	15.4000	1.9871	1.5285	9
2AI8	-2.4217	-6.5973	-6.6482	-4.3806	2.8044	7.0000	0.9449	0.9387	8
2AIE	-7.7219	-12.0524	-6.8472	-6.0277	4.8054	7.0000	2.2614	1.8969	8
1LRY	-21.4836	-30.7535	-8.9454	-8.9783	4.9936	16.8000	1.3759	1.2641	9
1Q1Y	-32.6367	-39.8033	-9.5650	-12.2480	5.3796	18.2000	2.8136	2.1429	12
1RL4	-18.7061	-25.1293	-5.9239	-6.0284	3.1755	9.8000	1.4256	1.3408	9
1VEV	-16.4525	-15.2603	-7.1652	-8.1550	4.5280	4.2000	1.0385	1.0385	6
1VEY	-11.5278	-16.7940	-8.3897	-7.1888	7.0447	8.4000	1.0994	1.0537	5
1VEZ	-14.0408	-18.6929	-2.9324	-4.8576	2.9421	4.2000	1.3672	1.3672	5
1WS1	-25.7067	32.9257	-11.5039	-11.4303	7.9533	16.8000	0.8768	0.8742	12
1Y6H	-7.3952	-124121	-1.3673	-2.0083	1.5925	1.4000	1.4244	1.0361	2
2EW6	-28.7682	-27.1654	-12.0174	-9.0563	5.6709	8.4000	0.9977	0.9051	18

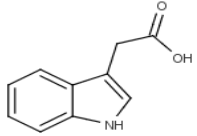
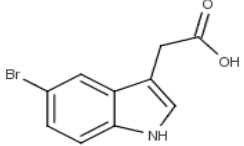
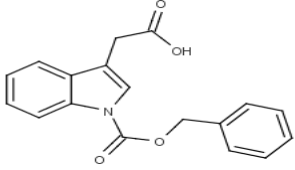
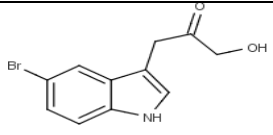
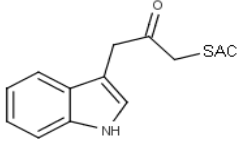
2OKL	-19.9464	-29.2533	-8.3595	-10.9401	7.8066	15.4000	0.9339	0.7812	8
2OS3	-19.8832	-25.0803	-10.8112	-10.7220	5.9303	15.4000	1.4213	1.1519	8
3CMD	-25.5181	-29.4185	-2.0554	-5.4478	3.2035	2.8000	1.2182	1.2182	8
3E3U	-25.4815	-24.9384	-12.4362	-8.0420	3.3351	11.2000	1.1858	1.1014	11
3K6L	-23.0039	-29.9258	-8.1265	-8.6683	5.9167	12.6000	1.0645	0.9875	10
3N3P	2.0933	-6.1000	-2.6221	-1.7755	1.5909	5.6000	1.3742	1.2874	3
1GLQ	-50.3763	-49.7187	-10.6466	-13.9679	1.7568	16.8000	0.5686	0.5686	21
3OIY	-16.9770	-22.2291	-1.1422	-5.2484	3.4427	2.8000	0.8887	0.8887	8
2RGU	-3.3113	-8.1042	-2.448	-4.1768	4.0372	8.4000	3.6885	3.2301	3
2OLE	-1.6582	-7.2364	-10.1349	-8.4217	8.9258	9.8000	1.5886	1.4534	7
2FJP	-15.0992	-27.2211	-6.4941	-7.1469	14.7000	5.6000	3.2868	2.6140	10
2GBI	-25.6671	-28.8934	-9.8634	-8.2822	11.7712	4.2000	0.9637	0.8486	14
2GU5	-9.9026	-14.4797	-4.9640	-3.5902	2.1314	5.6000	1.4980	1.1672	8
2GU6	-23.2913	-25.3848	-6.2958	-4.8909	2.2802	5.6000	0.8615	0.8615	11
2HPT	-23.1697	-32.9769	-9.4921	-10.6311	11.9305	12.6000	1.3733	1.3077	12
2HHA	-28.6605	-30.8405	-9.7122	-6.6266	7.5238	5.6000	1.5251	1.3094	12
2I3Z	-16.4983	-16.7375	-9.1191	-7.0482	6.8065	4.2000	0.6593	0.6593	12
2IIV	-19.2701	-18.0406	-7.7375	-11.0344	6.5425	5.6000	1.0118	0.9993	9
2GID	-25.4498	-24.5507	-9.7488	-8.3772	6.2270	5.6000	0.9378	0.9222	13
2QT9	-21.4632	-21.1625	-13.1583	-10.9608	11.4184	7.0000	1.1837	1.1679	5
2QTB	-39.8812	-37.6184	-11.9530	-10.4698	7.7599	7.0000	0.6962	0.6948	10
2W3U	-13.9377	-17.3833	-1.6093	-2.5316	2.1865	0.0000	0.5482	0.5482	6
2WAJ	-20.4278	-13.1459	-14.9868	-3.6158	4.5207	1.4000	0.5446	0.5334	16
2X52	-14.2938	-19.2619	-8.0490	-7.8090	4.8137	39.2000	6.7839	5.1770	10
3B7R	-20.8014	-25.8266	-9.6341	-9.5608	7.6200	11.2000	4.8860	2.8536	13
3B7U	-35.5833	-40.5676	-9.9966	-7.9415	11.7223	9.8000	1.6504	1.5312	12
3C43	-33.6668	-33.3246	-10.8783	-8.9730	5.7091	8.4000	0.8167	0.7870	8
3CHR	-28.8301	-27.5780	-16.3871	-8.1321	9.4670	8.4000	4.5801	3.5609	20
3D44	-1.3872	-7.8381	-1.3485	-1.9324	0.1062	7.0000	1.7710	1.6590	2
3D27	-12.4253	-14.6055	-7.6055	-4.3447	4.9205	4.2000	0.8150	0.7546	15
3F8S	-15.8154	-18.6683	-9.4033	-5.2556	7.9118	4.2000	1.2056	1.0843	4
3EIO	-36.3957	-31.5021	-12.5526	-7.9775	4.6366	5.6000	1.0411	0.8582	15
3FGD	-16.4201	-22.3271	-4.2824	-4.8819	5.4713	4.2000	1.4104	1.2062	10

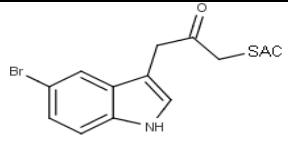
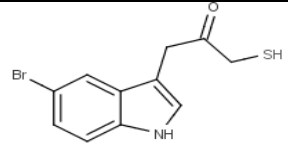
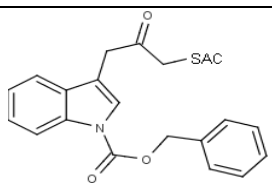
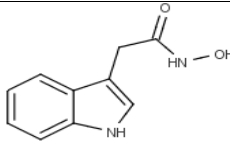
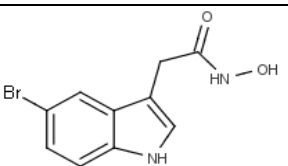
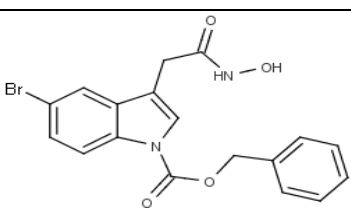
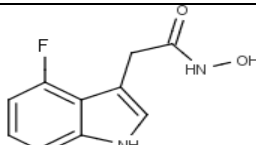
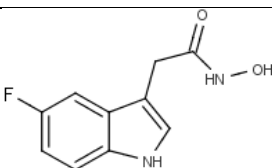
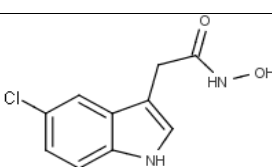
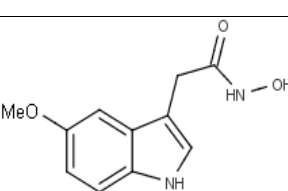
3FMM	-26.9615	-19.0363	-14.7616	-11.0597	5.4961	7.0000	0.5649	0.5649	23
3FHR	-24.6847	-15.6673	-13.9599	-7.6210	7.1635	0.0000	0.5453	0.5453	12
1WM1	-15.5014	-15.0188	-5.5300	-6.9197	3.7671	2.8000	0.6440	0.6440	7
1NLM	-24.9537	-24.2243	-6.8718	-5.8996	3.8421	2.8000	0.8025	0.8025	8
1X2E	-9.4469	-13.2887	-2.9855	-4.3942	3.0215	2.8000	1.4246	1.1258	4
1TXR	-15.1699	-23.6850	-9.0225	-6.2241	5.7617	12.6000	1.9461	1.6227	20
1X70	-25.5591	-19.9064	-9.7329	-13.1280	4.8085	7.0000	1.0262	0.9391	8
2AJL	-11.8215	-12.3518	-12.7821	-3.6502	5.9626	5.6000	4.8096	4.3941	7
2BUB	-21.4401	-23.4104	-10.7560	-8.0987	7.0249	8.4000	2.0731	1.6797	15
2GBF	-6.7660	-10.4059	-5.1571	-3.1184	2.3154	4.2000	6.5485	5.9592	4
3OC0	-17.3426	-20.3379	-6.0701	-5.2397	4.7050	4.2000	1.2663	1.2230	5
2RIP	-31.1680	-27.0384	-9.5541	-7.1194	5.7439	1.4000	0.7282	0.7282	9
1QXW	-25.1415	-28.9606	-7.6605	-6.0060	2.2856	9.8000	0.9925	0.8855	8
1QXZ	-19.4602	-23.8550	-5.8630	-5.4204	4.4016	5.6000	4.5663	3.4015	5
1QZY	-27.8010	-33.0330	-11.0549	-10.5499	4.6368	16.8000	0.7676	0.7543	20
1R5G	-7.9006	-12.8126	-4.7740	-6.9164	14.4036	12.6000	4.0004	3.0771	11
1X2B	-18.2392	-22.1657	-4.9100	-5.1669	4.4034	4.2000	0.7841	0.7841	6
1XBU	-22.7410	-22.5041	-5.4217	-6.8764	2.4712	4.2000	1.5490	1.4009	10
1XNZ	-16.123	-16.6426	-5.5029	-4.0395	4.6637	0.0000	1.4386	1.2673	15
1XQX	-15.5878	-20.9565	-6.6077	-4.0721	5.0485	5.6000	2.2953	2.1043	10
1XRY	-9.6999	-20.4688	-5.7894	-5.1643	3.7226	12.6000	6.1233	4.5354	10
1YJ3	-20.1375	-26.7756	-3.2425	-4.8147	3.6954	5.6000	2.0868	2.0554	8
1YW7	-16.2201	-18.2865	-4.8806	-8.1476	6.8946	2.8000	2.4084	2.6322	16
1YW8	-11.9318	-13.9261	-8.9568	-6.4223	9.1734	2.8000	6.0355	4.5244	13
2ADU	-21.2354	-16.0781	-8.5300	-5.0314	3.0040	0.0000	0.7496	0.7496	14
2B3I	-12.0158	-17.9211	-1.7694	-5.3257	2.0003	5.6000	0.6890	0.6890	5
2EVC	-14.7258	-13.2447	-10.5383	-3.8576	6.1149	1.4000	2.9210	2.3006	14
2DQM	-25.0990	-31.8568	-10.6931	-9.6931	9.1437	12.6000	1.1771	0.9624	15
2EK9	-0.8028	-15.5398	-8.1876	-7.5175	12.4422	12.6000	5.8391	4.3938	5
2EVM	-34.1073	-27.4443	-9.2982	-5.7982	3.0312	0.0000	0.9986	0.9158	13
2GG2	-18.3062	-22.1724	-5.4890	-6.2398	5.9950	4.2000	1.2822	1.1801	13
2GG3	-31.8514	-31.0404	-7.3494	-5.5486	1.0869	5.6000	0.9997	0.9485	20
2GG8	-24.8484	-34.3775	-10.4176	-6.9887	6.0344	15.4000	2.0936	1.9670	31

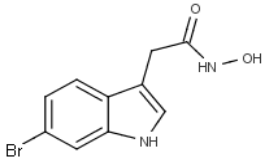
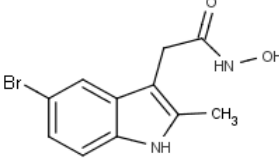
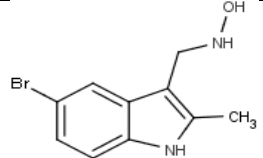
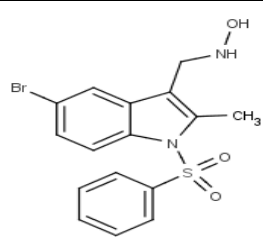
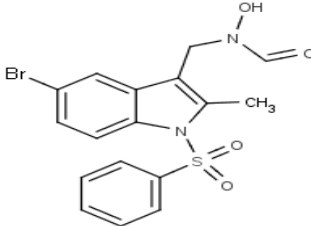
2GG5	-21.8388	-22.2314	-6.5781	-5.4696	2.8404	4.2000	1.4601	1.2276	15
2GG7	-30.8618	-28.7216	-7.3121	-7.9250	4.8968	2.8000	1.3141	1.1168	17
2GGB	-23.5798	-33.8152	-9.7232	-7.3050	5.0637	16.8000	1.3578	1.2932	20
2P9A	-10.4406	-12.5596	-3.5979	-2.6097	2.9266	0.0000	3.6954	3.3089	11
2PRQ	-7.6752	-18.0004	-2.1899	-4.0487	2.7639	8.4000	1.3922	1.3922	5
2Q93	-29.9708	-26.7664	-6.6790	-5.1889	1.8635	1.4000	1.3103	1.0901	15
2Q92	-40.8584	-34.2512	-6.8523	-8.1929	3.0380	0.0000	0.7943	0.7943	15
2Q94	-21.8050	-19.8807	-11.1366	-5.2662	6.2784	2.8000	0.8793	0.8736	16
2Q96	-29.3936	-25.5480	-9.4182	-5.6716	3.0443	2.8000	0.7896	0.7896	12
2Q95	-25.8139	-24.1420	-7.5931	-7.4094	7.9305	0.0000	1.6308	1.3349	14
2IIT	-12.1342	-10.5431	-9.6045	-8.7278	2.9412	8.4000	0.8220	0.8171	8

ANNEXE 2

Structure des dérivés noyau indole et valeurs IC₅₀ associées aux divers types de PDFs d'après Adrien B *et al.* (2007) [100].

Composé	Structure chimique	IC ₅₀ (μM) HsPDF	IC ₅₀ (μM) AtPDF1A	IC ₅₀ (μM) PDF1B	IC ₅₀ (μM) PDF2
1a		0.6	>1000	>1000	>1000
1b		ND	>1000	380	60
1c		ND	>1000	300	280
2		ND	790	560	250
5a		ND	>1000	200	200

5b		ND	170	120	120
5'b		ND	200	80	300
5c		ND	500	350	100
6a		ND	>1000	1.4	0.3
6b		360	130	0.035	0.013
6d		ND	14	0.027	0.018
6e		700	>1000	2	0.1
6f		ND	700	0.16	0.02
6g		600	250	0.08	0.015
6h		ND	>1000	9	0.33

6i	 <chem>O=C(O)CC1=Cc2ccc(Br)cc2N1</chem>	250	250	0.21	0.03
6j	 <chem>O=C(O)CC1=C(C)c2ccc(Br)cc2N1</chem>	450	450	3	0.1
11	 <chem>CC1=C(C)C(CN)C2=CC=CC=C2N1</chem>	ND	>250	50	1
15	 <chem>CC1=C(C)C(CN)C2=CC=CC=C2N1S(=O)(=O)c3ccccc3</chem>	ND	500	6	0.4
16	 <chem>CC1=C(C)C(CN)C2=CC=CC=C2N1S(=O)(=O)c3ccccc3</chem>	200	35	0.03	0.025

Title: *In silico* study of the peptide déformylase inhibition

Abstract :

In front of the evidence of increased resistance levels among many pathogenic bacterial species, the permanent need of development of new antibiotics is obvious. Therefore the peptide deformylase is a potential target because involved in the maturation of proteins to bacteria. One of the methods commonly used in pharmacochemistry is the molecular docking, it consists in predicting and in reproducing the protein ligand interactions. FlexX is one of the most used molecular docking programs. Our results show that it is rather successful to reproduce the experimental tests because 79.24 % of the values of RMSD are lower than 2 Å.

It was used to study the inhibition of 2AIE, a peptide déformylase belonging to *Streptococcus pneumoniae* the agent infectious the most commonly implicated in severe cases of pneumonia, by diverse molecules of ligands to discover the best inhibitors of the enzyme

The first study highlighted the VRC 4307 as the better inhibitor of the enzyme. The study of the modelling realized on this inhibitor show that the binding energy can be decreased in a significant way by a sensible choice of fragments to be substituted. The replacement of the methyl group in position 9 of thiazole ring, situated at the level of the P3' region by a carbonyl and the hydrophobic part P1', by other groups of the same nature decreases the energy of interaction of 15 units (-24.9923 to -39.8811 kJ/mol).

The second study shows that among the inhibitors of the indole class and its by-products the compound 6g with an interaction energy of -23.7513 kJ / mol presents the best inhibitive effect. The introduction of an amide in position 1 and a carbonyl in position 10 of the compound 6g decreases the energy of interaction until -34.8470 KJ / mol.

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

Keywords: bacterial resistance, antibiotic, peptide déformylase, Molecular docking, Protein-ligand interactions, FlexX, rule of Lipinski.

عنوان: دراسة نظرية لتثبيط إنزيم Peptide déformylase

ملخص:

في مواجهة زيادة معدلات المقاومة بين أنواع كثيرة من البكتيرية المسببة للأمراض، تبقى هناك حاجة مستمرة و ملحة لتطوير مضادات حيوية جديدة ، في هذا السياق يعتبر الإنزيم peptide déformylase هدف مهم لأن له دور في نضج البروتينات عند البكتيرية. من الطرق المستعملة بكثرة في ميدان الكيمياء الصناعية طريقة docking moléculaire، التي تشمل التنبأ و إعادة تشكيل التفاعلات بروتين – رابط. يعتبر البرنامج FlexX من بين برامج docking moléculaire الأكثر إستعمالاً، حيث بينت نتائجنا أنه فعال جداً في إعادة إنجاز النتائج التطبيقية لأن 79.24 % من قيم RMSD أقل من 2Å.

لقد أستعمل هذا البرنامج لدراسة تثبيط 2AIE، peptide déformylase الموجود عند *Streptococcus pneumoniae* البكتيريا الأكثر تسبباً في الحالات الخطيرة للإلتهاب الرئوي، بعدة جزيئات متفاعلة لكشف أحسن المثبطات لهذا الأنزيم.

الدراسة الأولى بينت VRC 4307 كأحسن مثبط للإنزيم، دراسة النمذجة المطبقة على هذا المثبط أظهرت أن طاقة الارتباط بإمكانها الإنخفاض بشكل ملحوظ بالإختيار الحكيم للإستبدالات. إن إستبدال الجذر ميثيل في الموضع 4 من الحلقة تيازول، الموجود في المنطقة 'P3، بجذر كربونيل و الجزء الكاره للماء 'P1' بمجموعات أخرى من نفس الطبيعة الكيميائية تخفض طاقة الارتباط بـ 15 وحدة (من -24.9923 إلى -39.8811 كج/مول).

الدراسة الثانية أظهرت أن من بين مثبطات المجموعة نواة الإندول ومشتقاتها المركب 6g بطاقة ارتباط تقدر بـ -23.7513 كج/مول قدم أحسن نشاط تثبيطي. إدخال مجموعة أميد في الموضع 1 و مجموعة كربونيل في الموضع 10 للمركب 6g خفض طاقة الارتباط إلى غاية -34.8470 كج/مول.

دراسة الخصائص الدوائية لهذه المواد المقترحة تبين أنهم يتقيدون تماماً بمجموعة المعايير التي تفرضها قاعدة Lipinski.

الكلمات المفتاحية: المقاومة البكتيرية، مضاد حيوي، peptide déformylase، docking moléculaire ، التفاعلات بروتين – رابط، FlexX، قاعدة Lipinski.

Nom : MERZOUG Prénom : Amina	Date de soutenance : 25/01/2012															
Thème : Etude <i>in silico</i> de l'inhibition de la peptide déformylase																
<p>Résumé :</p> <p>Face à l'évidence de l'augmentation des taux de résistance parmi de nombreuses espèces bactériennes pathogènes, le besoin permanent du développement de nouveaux antibiotiques est évident. A ce titre la peptide déformylase est une cible potentielle car impliquée dans la maturation des protéines chez les bactéries. Une des méthodes communément utilisée en pharmacochimie est l'arrimage moléculaire, elle consiste à prédire et reproduire les interactions protéine ligand. FlexX est parmi les programmes de docking moléculaire les plus utilisés. Nos résultats montrent qu'il est assez performant pour reproduire les tests expérimentaux puisque 76.62 % des valeurs de RMSD calculées sont inférieures ou égale à 2Å.</p> <p>Il a été utilisé pour étudier l'inhibition de la 2AIE, une peptide déformylase appartenant à <i>Streptococcus pneumoniae</i> qui est l'agent infectieux le plus couramment incriminé dans les cas graves de pneumonie, par diverses molécules de ligands afin de découvrir les meilleurs inhibiteurs de l'enzyme;</p> <p>La première étude a fait ressortir le VRC 4307 comme meilleur inhibiteur de l'enzyme. L'étude de la modélisation réalisée sur cet inhibiteur montre que l'énergie de liaison peut être diminuée de manière significative par un choix judicieux des fragments à substituer. Le remplacement du radical méthyle en position 4 du noyau thiazole, situé au niveau de la région P3', par un groupement carbonyle et la partie hydrophobe P1' par d'autres groupes de même nature diminue l'énergie d'interaction de 15 unités (-24.9923 à -39.8811 kj/mol).</p> <p>La deuxième étude montre que, parmi les inhibiteurs de la classe de noyau indole et ses dérivés, le composé 6g avec une énergie d'interaction de -23.7513 kj/mol présente le meilleur effet inhibiteur. L'introduction d'un amide en position 1 et d'un carbonyle en position 10 au niveau du composé 6g diminue l'énergie d'interaction jusqu'à -34.8470 Kj/mol.</p> <p>L'étude des propriétés pharmacocinétiques de ces molécules proposées montre qu'ils s'inscrivent parfaitement dans la marge des critères imposés par la règle de Lipinski.</p>																
<p>Mots clés: Résistance bactérienne, Antibiotique, Peptide déformylase, Docking moléculaire, Interaction protéine-ligand, FlexX, La règle de Lipinski.</p>																
<p>Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biologie Appliquée et Santé.</p>																
<p>Devant le jury :</p> <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 15%;">Président :</td> <td style="width: 30%;">Mr KHELIFI D.</td> <td style="width: 20%;">Professeur</td> <td style="width: 35%;">Université de Constantine</td> </tr> <tr> <td>Rapporteur :</td> <td>Mr CHIKHI A.</td> <td>Maître de conférences</td> <td>Université de Constantine</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">Examineurs :</td> <td>Mr BENSEGUENI A.</td> <td>Maître de conférences</td> <td>Université de Constantine</td> </tr> <tr> <td>Mr NOUADRI T.</td> <td>Maître de conférences</td> <td>Université de Constantine</td> </tr> </table>		Président :	Mr KHELIFI D.	Professeur	Université de Constantine	Rapporteur :	Mr CHIKHI A.	Maître de conférences	Université de Constantine	Examineurs :	Mr BENSEGUENI A.	Maître de conférences	Université de Constantine	Mr NOUADRI T.	Maître de conférences	Université de Constantine
Président :	Mr KHELIFI D.	Professeur	Université de Constantine													
Rapporteur :	Mr CHIKHI A.	Maître de conférences	Université de Constantine													
Examineurs :	Mr BENSEGUENI A.	Maître de conférences	Université de Constantine													
	Mr NOUADRI T.	Maître de conférences	Université de Constantine													