

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE 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 et de Microbiologie

N° d'ordre :
N° de série :

Mémoire

Présenté par

BOUCHERIT Hanane

Pour obtenir le diplôme de MAGISTER EN BIOCHIMIE

Option: Technologies des explorations biochimiques

THEME

**ETUDE THEORIQUE DES INTERACTIONS INTERVENANT DANS
L'INHIBITION DE LA METHIONINE AMINOPEPTIDASE DE
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS PAR DIVERSES MOLECULES**

Soutenu le : 14-03-2012

Devant le jury :

Président : M ^{me} . MECHAKRA A.	Professeur	Univ. Mentouri Constantine
Rapporteur : Mr. CHIKHI A.	Maître de conférences	Univ. Mentouri Constantine
Examineurs :		
Mr. BENSEGUENI A.	Maître de conférences	Univ. Mentouri Constantine
Mr. BOUDAH A.	Maître de conférences	Univ. Mentouri Constantine

2011-2012

REMERCIEMENTS

- Tout d'abord, je remercie **DIEU** de m'avoir accordé la santé et les moyens de réaliser ce travail.

- Je remercie vivement le Docteur **CHIKHI Abdelouahab** d'avoir bien voulu accepter d'être mon Directeur de thèse.

Nous lui exprimons notre sincère reconnaissance.

- A Madame la Professeur **MECHAKRA Aïcha**, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire.

Hommages respectueux.

- A Monsieur le Docteur **BENSEGUENI Abderrahmane**, qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de mémoire.

Sincères remerciements.

- Je remercie vivement Monsieur le Docteur **BOUDAH Abdennacer**, qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de mémoire.

Sincères remerciements.

Merci...

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	-1-
CHAPITRE I : Les méthodes de modélisation des interactions protéine-ligand.....	-3-
1. Les interactions intermoléculaires.....	-3-
1.1 La force de Van der Waals.....	-4-
1.2 La liaison hydrogène.....	-4-
1.3 L'effet hydrophobe.....	-5-
2. Le docking moléculaire.....	-5-
2.1 Utilité des programmes de docking moléculaire.....	-5-
2.2 Principe théorique.....	-6-
2.3 Algorithmes de docking.....	-7-
2.3.1 Méthode systématique.....	-7-
2.3.2 La méthode stochastique.....	-8-
2.4 Programmes utilisés.....	-8-
2.4.1 Surflex-dock.....	-8-
2.4.2 GOLD.....	-9-
2.4.2.1 Algorithme de GOLD.....	-9-
2.4.2.2 Le mécanisme du placement du ligand dans le site de liaison.....	-10-
2.4.2.3 La fonction de score.....	-10-
3. Fonctions de Score.....	-11-
3.1 Fonctions de score basées sur les champs de force.....	-11-
3.2 Fonctions de score empirique.....	-11-
3.3 Fonctions de score basées sur la connaissance « <i>knowledge-based</i> ».....	-11-
CHAPITRE II : La tuberculose.....	-12-
1. La tuberculose dans le monde.....	-12-
2. Définition.....	-13-
3. Etiologie de la tuberculose.....	-13-
3.1 Agent pathogène.....	-13-
3.2 Transmission.....	-13-
3.3 Physiopathologie.....	-14-
4. Les antibiotiques antituberculeux et les traitements.....	-14-
4.2 Les antibiotiques antituberculeux.....	-14-
4.2.1 Les antituberculeux essentiels.....	-14-
4.2.2 Les médicaments de seconde intention.....	-15-
4.3 Traitement.....	-16-
4.4 Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	-16-
4.4.1 Mécanisme de résistance aux antituberculeux.....	-16-

4.4.2 Tuberculose multi-résistante.....	-17-
4.5 Les nouveaux antituberculeux.....	-17-
CHAPITRE III : La méthionine aminopeptidase et ses inhibiteurs.....	-18-
1. La méthionine aminopeptidase.....	-19-
1.1 Définition.....	-19-
1.2 Classification de la forme de l'enzyme MetAP.....	-20-
1.3 Rôle physiologique la MetAP.....	-20-
1.4 Propriétés de la MetAP.....	-21-
1.4.1 La dépendance au métal.....	-21-
1.4.2 Spécificité de substrat.....	-21-
1.5 Structure générale de la MetAP de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-22-
1.5.1 La structure de la MetAP.....	-22-
1.5.2 La méthionine dans le site actif.....	-23-
2. La recherche de nouveaux agents antimicrobiens.....	-25-
2.1 Généralité.....	-25-
2.2 Inhibiteurs de la méthionine aminopeptidase.....	-25-
CHAPITRE IV : Matériels et méthodes.....	-29-
1. Evaluation des programmes de docking.....	-29-
1.1 Le RMSD.....	-29-
1.2 Le coefficient de corrélation (r).....	-29-
2. Préparation des molécules.....	-30-
2.1 La structure de l'enzyme.....	-30-
2.2 Choix d'une structure cristallographique.....	-31-
2.2.1 La résolution.....	-31-
2.2.2 Le facteur R.....	-31-
2.3 Préparation des molécules à l'arrimage.....	-32-
2.3.1 Open Babel.....	-32-
2.3.2 Viewerlite.....	-32-
2.4 Le dessin des inhibiteurs de la MetAP.....	-32-
2.5 Programmes utilisés.....	-33-
2.5.1 Surflex.....	-33-
2.5.2 GOLD.....	-34-
3. Inhibition de la 3IU7 par GOLD.....	-37-
3.1 Choix de la 3IU7.....	-37-
3.2 La règle de Lipinski.....	-37-
3.3 Inhibition de la 3IU7 par divers inhibiteurs.....	-38-
4. Inhibition de la MetAP de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> par les dérivés du Bengamide.....	-39-

CHAPITRE V : Résultats et discussions.....	-41-
1. Fiabilité des programmes utilisés.....	-41-
1.1 Le RMSD.....	-41-
1.2 Coefficient de corrélation.....	-45-
2. Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de la 3IU7 par diverses molécules.....	-50-
2.1 Interaction MetAP- Met-Ala-Ser.....	-50-
2.2 Docking des inhibiteurs de la MetAP.....	-53-
2.3 Règle de <i>Lipinski</i>	-55-
2.4 Interaction des 4 ligands choisis.....	-57-
2.4.1 Interaction : 3IU7-TO7.....	-57-
2.4.2 Interaction : 3IU7-inhibiteur2.....	-59-
2.4.3 Interaction : 3IU7-inhibiteur21.....	-61-
2.4.4 Interaction : 3IU7-inhibiteur22.....	-62-
2.5 Inhibition de la MetAP de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> par les dérivés du Bengamide.....	-64-
2.5.1 Docking des dérivés du Bengamide.....	-64-
2.5.2 Etude des interactions avec la 3IU7.....	-65-
2.5.2.1 Interaction : 3IU7-Y02.....	-65-
2.5.2.2 Interaction : 3IU7-Y08.....	-67-
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	-70-

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

LISTE DES TABLEAUX

Tableau II.1 : Tuberculose: estimations de l'incidence, de la prévalence et de la mortalité (2009).....	-12-
Tableau III.2 : Comparaison entre les sites de fixation de métal et de substrat pour la MetAP type I et type II.....	-24-
Tableau III.3 : Structures des inhibiteurs sélectifs (metalloformes).....	-26-
Tableau III.4 : Structures des dérivés naphthoquinones.....	-27-
Tableau IV.5 : Principales caractéristiques des codes 3IU7, 2GG2 et 1QXY.....	-31-
Tableau IV.6 : Structures des ligands étudiés.....	-39-
Tableau IV.7 : Structure des dérivés du Bengamide.....	-40-
Tableau V.8 : Valeurs du coefficient de corrélation.....	-45-
Tableau V.9 : Résultats de l'analyse par régression linéaire sur les inhibiteurs de la MetAP.....	-46-
Tableau V.10 : Les interactions de Van der Waals.....	-52-
Tableau V.11 : Résultats de docking avec les programmes Surflex et GOLD.....	-53-
Tableau V.12 : Résultats obtenus par Surflex.....	-55-
Tableau V.13 : Résultats obtenus par GOLD.....	-55-
Tableau V.14 : Critères de la règle de <i>Lipinski</i> pour les différents inhibiteurs.....	-56-
Tableau V.15 : Autres critères.....	-56-
Tableau V.16 : Les interactions de Van der Waals.....	-58-
Tableau V.17 : Représentation des interactions Van der Waals.....	-60-
Tableau V.18 : Les interactions de Van der Waals.....	-62-
Tableau V.19 : Les interactions de Van der Waals.....	-63-
Tableau V.20 : Résultats obtenus par Surflex.....	-64-
Tableau V.21 : Résultats obtenus par GOLD.....	-65-
Tableau V.22 : Critères de la règle de <i>Lipinski</i> pour les différents inhibiteurs.....	-65-
Tableau V.23 : Représentation des interactions Van der Waals.....	-66-
Tableau V.24 : Les interactions de Van der Waals.....	-68-

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Les forces de Van der Waals.....	-4-
Figure I.2 : La liaison hydrogène.....	-5-
Figure I.3 : Interaction hydrophobe.....	-5-
Figure I.4 : Principe générale d'un programme de docking.....	-7-
Figure I.5 : Construction incrémentale.....	-8-
Figure II.6 : Mécanisme d'action des antituberculeux.....	-15-
Figure III.7 : Inhibition de la voie NME chez <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-18-
Figure III.8 : Synthèse protéique chez les bactéries.....	-19-
Figure III.9 : Nouvelle classification de la MetAP.....	-20-
Figure III.10 : % de l'élimination de la méthionine <i>in vivo</i> avec une séquence N-terminale (Met)-Xaa-Gln-Val-Ala avec 20 acides aminés différents pour Xaa.....	-22-
Figure III.11 : La structure de la méthionine aminopeptidase de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-23-
Figure III.12 : a) Site de liaison du métal de complexe MtMetAP1c-Met. b) Schéma comparant le complexe méthionine-MtMetAP1c (vert) et le complexe méthionine-EcMetAP (gris).....	-24-
Figure IV.13 : Les différentes valeurs de r.....	-30-
Figure IV.14 : Résultat de docking avec Surflex.....	-34-
Figure V.15 : Superposition du ligand P4O donné par rayon-X (coloré en rouge) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec GOLD.....	-43-
Figure V.16 : Superposition du ligand MNL donné par rayon-X (coloré en rouge) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec GOLD.....	-44-
Figure V.17 : Superposition du ligand BL5 donné par rayon-X (coloré en rouge) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec GOLD.....	-44-
Figure V.18 : Corrélation entre l'activité biologique (-LogIC50) des inhibiteurs de la MetAP et leurs Affinités données par Surflex.....	-49-
Figure V.19 : Corrélation entre l'activité biologique (-LogIC50) des inhibiteurs de la MetAP et leurs Fitness données par GOLD.....	-49-
Figure V.20 : Docking de substrat (Met-Ala-Ser) dans le site actif de la 3IU7.....	-51-
Figure V.21 : Représentation des liaisons hydrogène formées par le substrat.....	-52-
Figure V.22 : Représentation des interactions van der waals formées par le substrat.....	-53-

Figure V.23 : Représentation des liaisons hydrogène formées par le composé TO7.....	-57-
Figure V.24 : Représentation des interactions Van der Waals formées par le composé TO7.....	-58-
Figure V.25 : Représentation de la liaison hydrogène formée par l'inhibiteur 2.....	-59-
Figure V.26 : Représentation des interactions Van der Waals formées par l'inhibiteur2.....	-60-
Figure V.27 : Représentation de liaison hydrogène formée par l'inhibiteur 21.....	-61-
Figure V.28 : Représentation des interactions Van der Waals formées par l'inhibiteur21.....	-62-
Figure V.29 : Représentation de liaison hydrogène formée par le composé 22.....	-63-
Figure V.30 : Représentation des interactions Van der Waals formées par l'inhibiteur22.....	-64-
Figure V.31 : Représentation des liaisons hydrogène formées par le composé Y02.....	-66-
Figure V.32 : Représentation des interactions Van der Waals.....	-67-
Figure V.33 : Représentation des liaisons hydrogène.....	-68-
Figure V.34 : Représentation des interactions Van der Waals.....	-69-

LISTE DES GRAPHES

Graphe1 : Résultats en % obtenus par Surflex à divers intervalles de RMSD (Å).....	-41-
Graphe2 : Résultats en % obtenus par GOLD à divers intervalles de RMSD (Å).....	-42-
Graphe 3 : Comparaison des deux programmes.....	-42-

LISTE DES ABREVIATIONS

VIH : Le virus d'immunodéficience humaine

MetAP: La méthionine aminopeptidase

GOLD: Genetic Optimisation for Ligand Docking

CCD: Cambridge Crystallographic Data Centre

BK: Bacille de Koch

INH: Isoniazide

OFX: Ofloxacin

CPX: Ciprofloxacine

Et : Ethionamide

MDR : Multi-Drug Résistances

XDR : Extremely-Drug Résistances

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

NME : Excision de la Méthionine N-terminale

PDF: La peptide déformylase

Mtb: *Mycobacterium tuberculosis*

HsMetAPI : La méthionine aminopeptidase humaine type I

HsMetAPII : La méthionine aminopeptidase humaine type II

MtMetAPIc : La méthionine aminopeptidase de *Mycobacterium tuberculosis* type Ic

EcMetAP : La méthionine aminopeptidase de *Escherichia coli*

RMSD : Ecart quadratique moyen

PDB : Protein Data Bank

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

ADME/Tox : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et de Toxicité

logP : Le coefficient de partition

PSA : La surface polaire

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'interaction entre une protéine et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. Comprendre son mode de fonctionnement et définir quels sont les résidus mis en jeu, est donc primordial pour pouvoir expliquer les mécanismes qui influent sur l'affinité entre deux molécules. De même, la découverte de nouvelles drogues activant ou inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective. C'est dans ce but que des techniques de modélisations moléculaires, regroupées sous le nom de "amarrage" ou "docking" moléculaire ont été développées.

Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales *in vitro*. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, 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 [1].

Au cours de ces dernières années, la tuberculose connaît une recrudescence inquiétante aussi bien dans les pays en voie de développement que dans les pays industrialisés. La recrudescence de la maladie est due d'une part à la synergie prononcée entre le virus d'immunodéficience humaine (VIH) et la tuberculose et d'autre part à l'apparition de souches résistantes aux antibiotiques spécifiques de la mycobactérie [2]. Ceci rend nécessaire le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques, basées notamment sur la recherche de nouvelles molécules capables d'agir comme antituberculeux.

Dans ce contexte, la méthionine aminopeptidase (MetAP) est utilisée comme une cible prometteuse pour développer de nouveaux antibiotiques car elle est essentielle à la survie bactérienne. La MetAP est une métalloprotéase qui assure le clivage de la méthionine N-terminale au cours de la synthèse de protéines, une des étapes critiques dans la maturation des protéines [3].

Le but de cette étude est :

- De tester, dans un premier temps, la fiabilité des programmes Surflex et GOLD utilisés dans cette étude pour examiner les interactions protéine-ligand.
- Dans un deuxième temps, d'étudier l'inhibition de la méthionine aminopeptidase par les méthodes de docking moléculaire. Nous nous intéressons à déterminer le mode d'interaction, lors de la fixation de l'inhibiteur à l'enzyme durant la formation du complexe MetAP-inhibiteur, avec une meilleure complémentarité par le calcul de l'affinité du complexe formé. Le composé qui aura la plus grande affinité est celui qui présentera la meilleure activité et par la suite une meilleure inhibition. Ces résultats aideront probablement au développement d'un outil thérapeutique efficace pour lutter contre le développement de la tuberculose.

Nous présentons ce travail selon cinq chapitres. Dans le premier chapitre, nous nous intéressons à l'apport de la modélisation moléculaire dans l'étude des interactions protéine-ligand. Le second concerne la pathologie de la tuberculose. Le troisième chapitre est consacré à la présentation de la méthionine aminopeptidase ainsi qu'à ses inhibiteurs connus à travers les articles. Nous présentons, dans le quatrième chapitre, les différents matériels et méthodes utilisés dans cette étude. Enfin le dernier chapitre expose l'essentiel de nos résultats et une discussion.

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LES METHODES DE MODELISATION DES INTERACTIONS PROTEINE-LIGAND

La modélisation moléculaire regroupe l'ensemble des techniques de visualisation des molécules, de calcul de leurs conformations et de simulation de leur comportement. Les outils de modélisation moléculaire sont particulièrement performants pour l'étude au niveau atomique d'interactions entre deux entités moléculaires. Ce type d'étude fait appel le plus souvent aux techniques de “ *docking* ” [4].

La modélisation moléculaire trouve de nos jours d'importantes applications, parmi les quelles deux applications classiques sont :

- *Le développement de nouveaux médicaments* : le mécanisme d'action de nombreux médicaments consiste à agir comme inhibiteurs (ligand) d'une enzyme (récepteur) impliquée dans le développement de la maladie, que ce soit une protéine d'un organisme pathogène ou du propre organisme humain. L'élucidation de la structure tridimensionnelle des protéines impliquées dans plusieurs pathologies a permis, via des simulations informatiques, la découverte d'inhibiteurs puissants pour ces pathologies, en réduire considérablement le nombre d'essais de screening nécessaires pour aboutir à un nouveau médicament [5, 6].
- *La rationalisation de l'énergie enzymatique* : le fondement est le même que celui du développement du médicament : en permettant d'étudier les interactions entre les substrats (ligand) et les enzymes (récepteurs), la modélisation moléculaire apporte une meilleure compréhension de la sélectivité enzymatique, au niveau moléculaire. Ce qui peut rendre possible, par la suite, le développement d'approches prédictives pour la sélectivité des enzymes natives vis-à-vis d'un substrat ou d'une classe de substrats donnée, ou encore, d'identifier des acides aminés dont la mutation ponctuelle permettait de modifier la sélectivité ou la spécificité enzymatique [7, 8].

1. Les interactions intermoléculaires

Mises à part quelques exceptions, les atomes ne sont pas isolés dans les conditions habituelles. Ils établissent entre eux des liaisons chimiques covalentes, ou liaisons fortes, afin de former des molécules. Une particularité des molécules biologiques qui rend leur étude d'autant plus complexe est l'importance, aussi bien dans leur structure que lors d'interactions,

de la formation de liaisons non covalentes, ou liaisons faibles. Dans cette partie nous allons développer les liaisons chimiques faibles d'importance biologique.

Ces liaisons sont essentielles pour expliquer les propriétés des molécules biologiques. Du fait de leur faible énergie (généralement comprise entre 4 et 30 kJ/mol), elles peuvent se rompre et se rétablir très facilement à la température physiologique, permettant ainsi des interactions temporaires entre molécules [9, 10, 11].

1.1. Les forces de Van der Waals

Ces forces résultent de l'interaction des nuages électroniques d'atomes ou de molécules proches les uns des autres (figure I.1). Pour des atomes distants de 3-4 Å, l'énergie de liaison est seulement comprise entre 0.4 et 4 kJ/mol. Les interactions de Van der Waals sont très faibles, mais dans le cas des macromolécules, leur nombre élevé va produire au total une force importante [9, 10, 11].

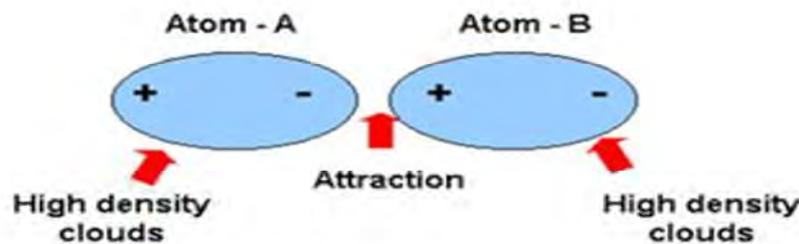
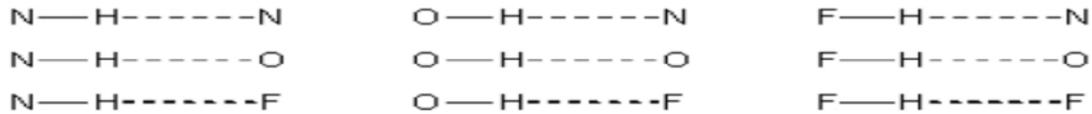


Figure I.1 : Les forces de Van der Waals

1.2. La liaison hydrogène

Cette liaison, intervient lorsqu'un atome d'hydrogène lié par covalence à un atome électro-négatif (le donneur D) est attiré par un autre atome électro-négatif (l'accepteur A). Le nuage électronique de l'hydrogène est attiré par l'atome donneur qui est relativement plus électro-négatif que l'atome d'hydrogène créant ainsi une charge partielle positive sur l'hydrogène : $\delta^-D-H^{\delta+} \dots\dots\dots A^{\delta-}$ (figure I.2). Cette charge positive est attirée par la charge partielle négative portée par l'atome accepteur donnant ainsi naissance à une interaction désignée par pont hydrogène, sa force est de l'ordre de 12 à 30 kJ/mol. Elle agit, à très courte distance (0,8 à 2,8 Å°).

Les liaisons hydrogènes habituelles sont :



Les liaisons hydrogène sont peu nombreuses et s'adaptent très bien à la flexibilité (l'angle peut varier de 120° à 180°). Elle est définie par ; la distance entre les deux atomes qui forment la liaison covalente D-H de type δ , la longueur de l'interaction H...A et l'angle D-H...A [9, 10].



Figure I.2 : La liaison hydrogène

1.3. L'effet hydrophobe

Les molécules ou groupes non polaires ne sont pas capables de former de liaisons hydrogène et 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 I.3). La force des liaisons hydrophobes est de l'ordre de 20 à 30 kJ/mol [9, 10].

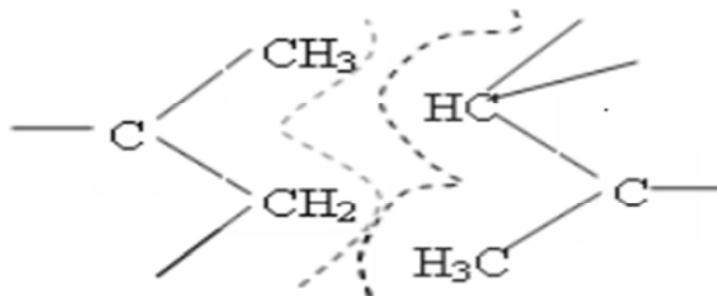


Figure I.3 : Interaction hydrophobe

2. Le docking moléculaire

2.1. Utilité des programmes de docking moléculaire

Les interactions protéine-protéine et protéine-ligand jouent un rôle clé dans l'organisation des systèmes biologiques. Elles permettent la régulation de certains processus

biologiques [12], la transmission des signaux ou encore la catalyse de diverses réactions biochimiques.

Connaître la façon dont les protéines interagissent avec d'autres entités biochimiques est une étape essentielle pour comprendre les processus biologiques dans lesquels elles sont impliquées. Le développement d'approches prédictives ouvre la voie à la conception assistée par ordinateur de systèmes protéiques aux propriétés modifiées et présente donc un intérêt indéniable pour la recherche et l'industrie pharmaceutique et médicale.

Dans le domaine de la chimie théorique, le docking moléculaire est une méthode qui prédit la conformation (position et orientation relatives) la plus favorable de deux molécules en interaction et formant un complexe stable. La connaissance de cette conformation préférentielle permet par la suite l'estimation de la force d'association (affinité de liaison) entre ces deux molécules.

Cependant, chaque programme de docking diffère par rapport aux autres par leurs algorithmes d'échantillonnage, par leur manière de manipuler la flexibilité du ligand et de la protéine et par leurs fonctions d'évaluation des complexes. Il existe deux grands types de docking moléculaire. Le docking rigide consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéine-ligand en considérant que chacune des deux molécules conserve une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité, en interaction dans le complexe, n'est pas prise en compte [13]. Actuellement cette approche est utilisée dans le docking protéine-protéine. L'approche la plus récente dans le traitement de la flexibilité, considère la cible protéique comme corps rigide tandis que le ligand est flexible. En effet elle représente l'approche la plus utilisée dans la plupart des logiciels ou programmes de docking. Néanmoins, celle-ci reste approximative, du fait que le récepteur ne doit pas être considéré comme corps rigide (au moins la flexibilité du site d'interaction doit être prise en compte).

2.2. Principe théorique

Docking (ancrage ou amarrage en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interactions entre deux molécules. Dans la plus part des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de docking) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand). Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine

[14]. Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring (figure I.4).

- La première (le docking) est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celle qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- La deuxième (le scoring) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées [14, 15].

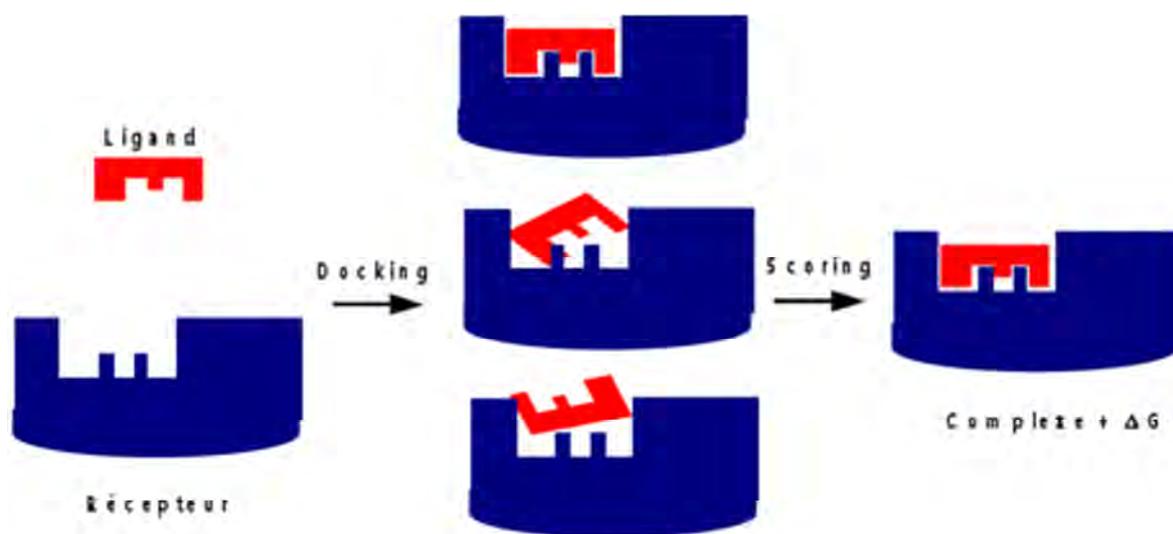


Figure I.4 : Principe générale d'un programme de docking

2.3. Algorithmes de docking

Il existe différentes méthodes qui permettent de prendre en compte la flexibilité du ligand notamment des méthodes systématiques et des méthodes aléatoires ou stochastiques.

2.3.1. Méthodes systématique

Le principe général est de couper le ligand en fragments rigides et flexibles. Entre les points où des rotations sont possibles, une ou plusieurs ancres sont définies. Dans un premier lieu, un [16, 17] ou plusieurs [18, 19] fragments qui doivent être rigides sont placés au sein du site actif et donc mis en interaction avec la cible, puis le ligand est reconstruit en plaçant les

fragments flexibles d'une manière successive tout en exploitant les angles de torsion (figure I.5). Cette méthode a été incorporée dans plusieurs programmes dont Dock [16], FlexX [17] et Surflex [20].

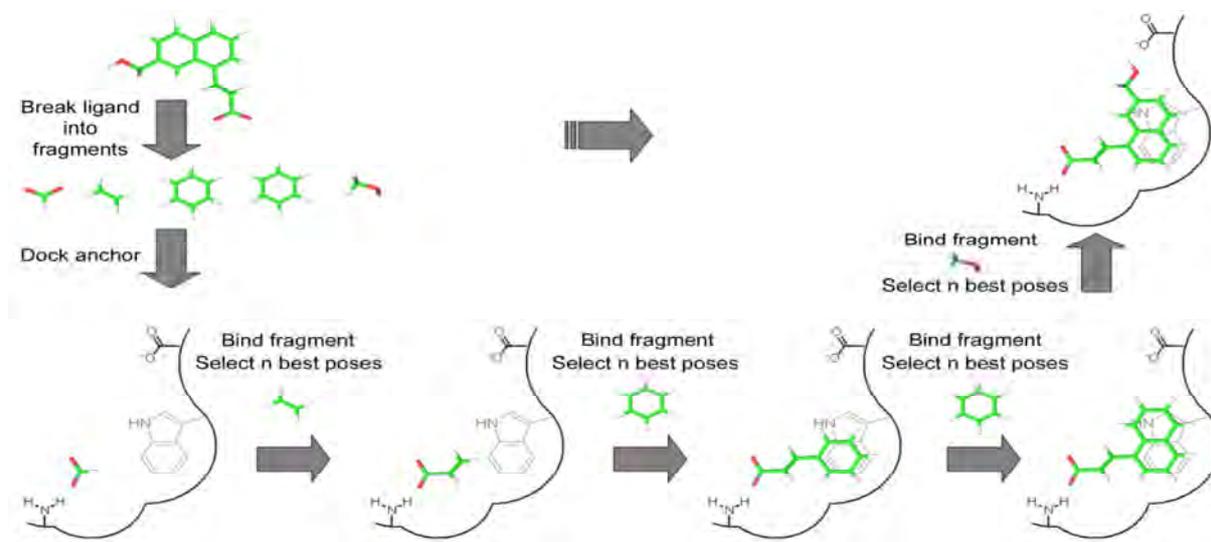


Figure I.5 : Construction incrémentale

2.3.2. La méthode stochastique

L'approche stochastique consiste à effectuer des changements aléatoires dans la structure tridimensionnelle du ligand. Un des principaux algorithmes stochastiques est la méthode par algorithme génétique. Cette méthode a été implémentée dans plusieurs programmes dont AutoDock et GOLD [21].

2.4. Programmes utilisés

Pour étudier les interactions protéines-ligands, nous avons choisi deux programmes de docking moléculaire: Surflex [22], qui utilise une méthode incrémentielle et GOLD [23] qui utilise un algorithme génétique (GA).

2.4.1. Surflex-dock

Le programme Surflex comprend deux parties. L'une pour des études de similarité tridimensionnelle des molécules, l'autre pour des études de Docking. Seule la partie docking est abordée ici. Elle se base sur la construction d'une pseudo-molécule comme cible sur laquelle aligner le ligand. Il s'agit de fragments de molécules placés dans le site actif de manière à occuper idéalement et de manière redondante celui-ci à partir de critères

morphologiques. Il est important de préciser que cette pseudo-molécule peut être construite à partir du ligand dans le site actif, à condition de bénéficier d'une structure, ou bien à partir du récepteur sans aucun ligand : il utilise dans ce cas trois types de fragments CH₄, C=O et N-H mais il est nécessaire de connaître l'emplacement du site actif.

L'étape de docking s'effectue suivant deux méthodes :

- La première est une méthode incrémentale dite *Hammerhead*. Dans ce cas le programme fractionne le ligand et cherche à trouver le meilleur appariement pour chaque fragment, il essaye d'adapter les fragments à ceux de la pseudo-molécule. Les fragments ayant la plus haute affinité sont utilisés pour reconstruire le ligand. À la différence de la recherche incrémentale de Dock il n'y a pas de recherche systématique des angles de torsion mais une étape de minimisation entre chaque ajout de fragment.
- La deuxième méthode dite « molécule entière » reprend la même étape de fractionnement que précédemment. Le changement se fait au niveau des fragments du ligand conservés. Dans la méthode *Hammerhead* ne sont conservés pour l'étape de docking que les meilleurs fragments qui s'alignent avec ceux de la pseudo-molécule. Ici tous les fragments sont pris en compte pour la recherche de configuration optimale du ligand [24].

2.4.2. GOLD

Le logiciel GOLD (*Genetic Optimisation for Ligand Docking*) est l'un des programmes de docking les plus réussis et largement utilisé, provient d'une collaboration entre l'Université de Sheffield, GlaxoSmithKline plc et CCDC (*Cambridge Crystallographic Data Centre*). Il est basé sur trois parties majeures [23] : un algorithme de recherche pour explorer les possibilités de modes de liaison, un mécanisme pour placer le ligand dans le site de liaison et une fonction de score pour classer les différents modes de liaison.

2.4.2.1. Algorithme de GOLD

GOLD utilise un algorithme génétique pour le docking de petites molécules (ligand) dans le site actif d'une protéine. Il considère le ligand comme flexible alors que la protéine est maintenue fixe sauf pour les groupements hydroxyles de certains résidus à savoir Tyrosine, Serine et Thréonine [25].

L'algorithme génétique est basé sur le principe de la sélection naturelle, développé par *Charles Darwin* en 1838. Les algorithmes génétiques fonctionnent par une génération successive d'individus ou structures du ligand. Chaque individu possède des gènes se sont ses caractéristiques. La méthode comporte trois phases : reproduction, *crossover*, mutation. La phase de reproduction vise à identifier les individus pouvant donner une autre génération. Pour la première génération les éléments sont créés au hasard pour éviter la dépendance vis-à-vis de la structure de départ. Pour les générations suivantes elles sont composées des meilleurs éléments de la génération précédente sélectionnés par une fonction d'évaluation. Dans notre cas il s'agit souvent d'une fonction basée sur la Fitness. Durant la phase de *crossover*, les gènes des individus sélectionnés sont échangés 2 à 2 pour créer la nouvelle génération, le lieu de croisement est déterminé au hasard. La troisième étape est la mutation, certains individus peuvent être le résultat de mutations où un gène est modifié de façon aléatoire. Le cycle de génération est répété jusqu'à ce que soit atteint le nombre maximum de générations ou le nombre maximum d'évaluations de l'énergie [26, 27].

2.4.2.2. Le mécanisme du placement du ligand dans le site actif

GOLD utilise une méthode unique pour ce faire, qui est fondée sur les points de fixation, il ajoute des points de fixation aux groupements de liaisons hydrogènes sur la protéine et le ligand, puis il va cartographier les points accepteurs qui se trouvent dans le ligand sur les points donateurs dans la protéine et vice versa. En outre, GOLD génère des points de fixation hydrophobiques dans la cavité de la protéine sur laquelle les groupements CH du ligand sont mappés [28].

2.4.2.3. La fonction de score

GOLD utilise différentes fonctions de score pour le processus d'optimisation [29] : **GoldScore** (une fonction de score basée sur le champ de force), **ChemScore**, **ASP** (Astex Statistical Potential), **CHEM PLP** (Piecewise Linear Potential) et **User Defined Score**. Cependant, Goldscore est la fonction originale pour GOLD, issue des travaux de Willet. Cette fonction est la somme de quatre éléments [29, 21]:

$$\mathbf{GOLD\ Fitness} = \mathbf{Shb_ext} + \mathbf{Svdw_ext} + \mathbf{Shb_int} + \mathbf{Svdw_int}$$

Shb_ext est l'énergie de liaison hydrogène entre le récepteur et le ligand ;

Svdw_ext est l'énergie des forces de Van der Waals (vdw) entre le récepteur et le ligand ;

Shb_int est l'énergie de liaison hydrogène interne du ligand ;

Svdw_int est le résultat de la contrainte intramoléculaire dans le ligand.

3. Fonctions de score

Les méthodes de « *scoring* » permettent d'évaluer l'énergie de liaison du complexe formé et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra d'une part de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées, mais également de classer la meilleure pose de différents ligands pour identifier les meilleurs d'entre eux. 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 actuelles et les méthodes empiriques.

3.1. Fonctions de score basées sur les champs de force

Les fonctions de score basées sur un champ de force calculent, par mécanique moléculaire, l'énergie d'interaction du complexe récepteur-ligand (interactions intermoléculaires) et l'énergie interne du ligand. Les interactions entre récepteur et ligand comprennent souvent des termes de Van der Waals et électrostatiques. L'énergie interne du ligand est généralement écrite de manière similaire [13, 30]. Les fonctions de score qui se basent sur les champs de force sont par exemple : Goldscore [23], DOCK [16] et Autodock [13, 25].

3.2. Fonctions de score empiriques

Les fonctions empiriques de score estiment l'affinité des complexes protéine-ligand en additionnant des termes d'interaction (liaison hydrogène, interaction hydrophobe, interaction ionique ...). Elles sont utilisées dans la plupart des algorithmes d'amarrage notamment FlexX [31], Chemscore et LUDI [13, 25].

3.3. Fonctions de score basées sur la connaissance « *knowledge-based* »

Ces fonctions de score sont construites à partir de règles fondées sur une analyse statistique des complexes protéine-ligand résolus expérimentalement. La fonction PMF (Potential of Mean Force) fait partie de cette classe de fonction [24].

CHAPITRE II: LATUBERCULOSE

1. La tuberculose dans le monde

Aujourd'hui, la tuberculose reste un problème majeur de santé publique: 2 milliards de personnes, soit 30 % de la population mondiale, sont infectées par le bacille tuberculeux. Chaque année, 9 millions de personnes sont atteintes d'une tuberculose maladie dont 3,9 millions sont contagieuses [32]. En 2009, le nombre de décès dus à la tuberculose était estimé à 1,7 millions dont 380 000 vivant avec le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) [33]. Cette pathologie touche essentiellement les pays en voie de développement qui totalisent 95% des cas et 98% des décès, mais aussi les régions industrialisées comme les Etats-Unis ou l'Europe [34]. Trois continents sont principalement concernés : l'Afrique, l'Asie et l'Amérique Latine (tableau II.1) où la surpopulation, les conditions de vie insalubres, l'alimentation déficiente et le manque de moyens des autorités sanitaires sont propices à la propagation de l'infection. En Algérie, 21 832 cas de tuberculose ont été enregistrés en 2010 [35].

Tableau II.1: Tuberculose : estimations de l'incidence, de la prévalence et de la mortalité (2009).

Région de l'OMS	Incidence ¹			Prévalence ²		Mortalité (hors VIH)	
	nombre en milliers	% du total mondial	pour 100 000 habitants	nombre en milliers	pour 100 000 habitants	nombre en milliers	pour 100 000 habitants
Afrique	2 800	30%	340	3 900	450	430	50
Amériques	270	2,9%	29	350	37	20	2,1
Méditerranée orientale	660	7,1%	110	1000	180	99	18
Europe	420	4,5%	47	560	63	62	7
Asie du Sud-Est	3 300	35%	180	4 900	280	480	27
Pacifique occidental	1 900	21%	110	2 900	160	240	13
Ensemble du monde	9 400	100%	140	14 000	164	1 300	19
¹ Incidence: nouveaux cas survenant pendant une période déterminée.							
² Prévalence: nombre de cas existant dans la population à un moment déterminé.							

2. Définition

La tuberculose est une maladie infectieuse provoquée, dans la plupart des cas, par un microorganisme nommé *Mycobacterium tuberculosis*.

- **La tuberculose pulmonaire** : est la forme la plus fréquente de la maladie et concerne plus de 80 % des cas. C'est la seule forme de tuberculose qui soit contagieuse.
- **La tuberculose extra-pulmonaire** : atteint des organes autres que le poumon, le plus souvent la plèvre, les ganglions lymphatiques, la colonne vertébrale, les articulations, les voies génito-urinaires, le système nerveux ou l'abdomen. La tuberculose peut toucher n'importe quelle partie du corps [36].

3. Etiologie

3.1. Agent pathogène

En 1882, le microbiologiste allemand *Robert Koch*, observa et décrivit pour la première fois le germe pathogène responsable de la tuberculose : *Mycobacterium tuberculosis* également appelé bacille de Koch.

L'espèce la plus répandue est représentée par le bacille de type humain, *Mycobacterium tuberculosis* (99% des cas). *Mycobacterium africanum* est une variété qui existe parfois en Afrique de l'Ouest. *Mycobacterium bovis* est responsable de la tuberculose bovine mammaire transmissible de manière rare à l'homme par le lait non bouilli. Ces trois espèces de bacilles sont des mycobactéries tuberculeuses et constituent le « complexe tuberculosis ». Les mycobactéries non tuberculeuses ou mycobactéries atypiques sont souvent non pathogènes, mais peuvent parfois donner des manifestations cliniques (pulmonaires, osseuses, ganglionnaires ou cutanées) simulant ceux de la tuberculose [37, 38].

3.2. Transmission

La transmission de la tuberculose est essentiellement interhumaine : le bacille de Koch (BK) se trouve dans les gouttelettes de salives extériorisées par les malades. Lorsqu'il tousse, rit ou éternue, le patient tuberculeux contagieux expulse dans l'air des gouttelettes microscopiques contenant des bacilles. Ces gouttelettes sèchent rapidement et deviennent des particules infectieuses qui peuvent rester en suspension dans l'air pendant plusieurs heures. Toute personne entrant dans la pièce peut inhaler ces particules infectieuses. Si les bacilles

s'installent dans les poumons de la personne qui les inhale et commencent à s'y multiplier, l'infection s'est alors produite [36, 42].

3.3. Physiopathologie

La primo-infection tuberculeuse correspond au premier contact de l'organisme avec la bactérie. La contamination se fait par voie aérienne entraînant des lésions pulmonaires. La multiplication de la bactérie entraîne une réponse immunitaire (défense de l'organisme destinée à empêcher le développement des bactéries et à favoriser leur destruction). Dans 90% des cas, la primo-infection tuberculeuse évolue spontanément vers la guérison définitive. Chez les patients immunodéprimés, en particulier infectés par le VIH, cette guérison spontanée n'est obtenue que dans 70% des cas. Dans les 10% des cas restants (jusqu'à 30% pour les patients infectés par le VIH), une tuberculose active va se développer, la moitié dans l'année suivante, l'autre moitié durant le reste de la vie. C'est la tuberculose maladie [40, 41].

4. Les antibiotiques antituberculeux et les traitements

4.1. Les antibiotiques antituberculeux

Généralement les médicaments antituberculeux ciblent la biosynthèse de macromolécules (protéines, acides nucléiques, polysaccharides ou lipides de l'enveloppe cellulaire) essentielles à la survie de la mycobactérie. Les molécules utilisées dans le traitement contre la tuberculose peuvent également être classées en deux catégories (figure II.6) :

4.1.1. Les antituberculeux essentiels

Les médicaments antituberculeux essentiels sont au nombre de cinq [42, 43] :

La streptomycine : a été isolée de *Streptomyces griseus* et fut le premier antibiotique réellement efficace contre la tuberculose. Elle pénètre dans la membrane interne de *Mycobacterium tuberculosis* et inhibe la biosynthèse des protéines en se liant de manière irréversible à la petite sous unité des ribosomes.

L'isoniazide (INH) : cette molécule est une pro-drogue nécessitant une activation *in vivo* pour former le véritable principe actif. Il inhibe la biosynthèse des acides mycoliques qui sont des constituants essentiels de la paroi mycobactérienne.

Le pyrazinamide : est un analogue de l'isoniazide. Il s'agit également d'une pro-drogue dont l'activité dépendrait d'une amidase bactérienne. L'acide pyrazinoïque serait en fait la molécule active.

La rifampicine : est un composé naturel isolé de *Streptomyces mediterranei*. Elle inhibe l'ARN polymérase, entraînant ainsi la mort de la bactérie par blocage transcriptionnel. Avec l'INH, la rifampicine constitue la base de la chimiothérapie antituberculeuse.

L'éthambutol : est un amino-alcool synthétique décrit en 1961. Il inhibe la biosynthèse des arabinogalactane qui entrent dans la composition de la membrane mycobactérienne.

4.1.2. Les médicaments de seconde intention

Ils sont d'efficacité mineure et ne sont pas utilisés dans la chimiothérapie de courte durée. Les médicaments de deuxième ligne sont : *capréomycine*, *kanamycine*, *ofloxacine* (OFX), *ciprofloxacine* (CPX), *éthionamide* (Et), *cyclosérine*, *acide para-aminosalicylique* et *prothionamide*. Cependant, ce traitement présente plusieurs obstacles : des effets secondaires plus fréquents et un coût onéreux dû à un traitement d'environ deux ans [42, 44, 45]. Selon les recommandations de l'OMS, le traitement de deuxième ligne doit comprendre durant la phase initiale (d'au moins six mois) au minimum quatre médicaments. Cette phase est suivie d'une phase d'entretien (de 12 à 18 mois) comprenant au moins trois des médicaments les plus actifs et les mieux tolérés [45]. De plus, Les *fluoroquinolones* comme la *lévofloxacine* et l'*ofloxacine* sont extrêmement actives contre *Mycobacterium tuberculosis* et sont souvent choisies pour traiter les cas de tuberculose multi-résistante, malgré les effets secondaires.

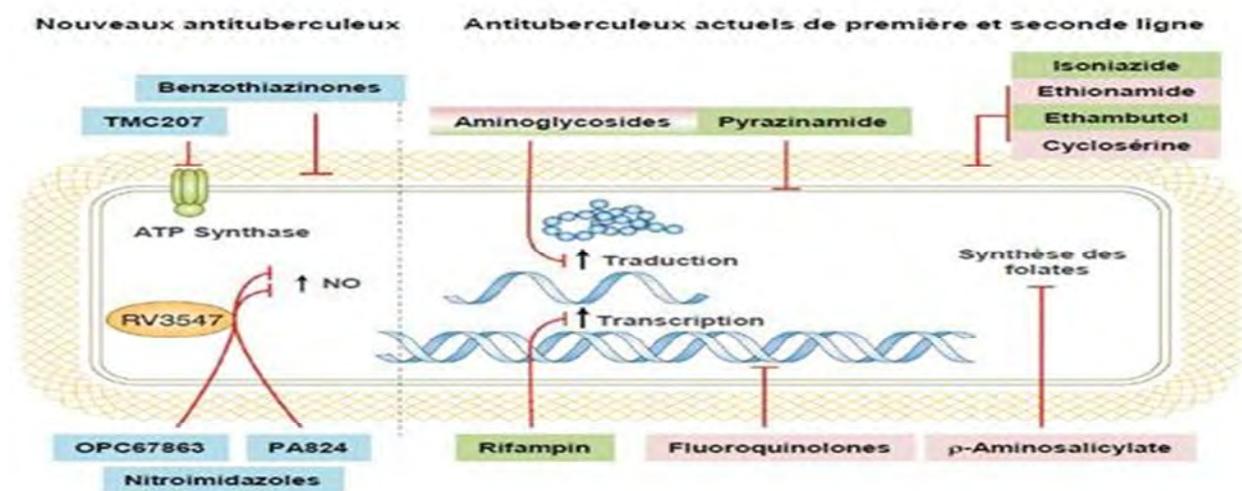


Figure II.6 : Mécanisme d'action des antituberculeux

4.2. Le traitement

Le traitement de la tuberculose repose sur la chimiothérapie. La durée de cette chimiothérapie a considérablement diminué depuis 1960 ; initialement de 18 à 24 mois, elle est actuellement de 6 à 8 mois et constitue « la chimiothérapie de courte durée » [37, 46].

Actuellement, le régime de base pour le traitement de toutes les formes de tuberculose consiste en une phase intensive de deux mois associant *Isoniazide* + *Rifampicine* + *Pyrazinamide*, et soit *Ethambutol*, soit *Streptomycine*, suivie par une phase dite « de consolidation » de quatre mois associant *Isoniazide* et *Rifampicine* [37, 47, 42]. Aucun de ces médicaments essentiels n'est suffisamment efficace pour détruire tous les bacilles tuberculeux se trouvant chez un malade ; c'est pourquoi l'association de plusieurs médicaments antituberculeux est indispensable pour obtenir la guérison définitive d'un malade [37, 44].

4.3. Résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses. Cette résistance est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes et la dissémination des souches multi-résistantes. Trois mécanismes principaux sont responsables de la résistance aux antibiotiques [48] :

- Modification de la cible des antibiotiques ;
- Synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques ;
- Diminution de la perméabilité bactérienne aux antibiotiques.

4.3.1. Mécanisme de résistance aux antituberculeux

Comme tous les antibiotiques d'une manière générale, la résistance des mycobactéries tuberculeuses aux médicaments est un phénomène connu depuis l'utilisation du premier antituberculeux (*Streptomycine*) en 1944 [45].

La résistance acquise aux antibiotiques est toujours liée à des mutations des gènes chromosomiques qui codent soit pour des protéines cibles de certains antibiotiques (ARN polymérase, ribosome, ADN gyrase), soit pour des enzymes impliquées dans l'activation de l'antibiotique en substance active (catalase-peroxydase, pyrazinamidase) [49].

4.3.2. Tuberculose multi-résistante

De nos jours, ce n'est pas seulement la résistance aux médicaments antituberculeux en monothérapie qui fait l'objet de graves préoccupations, mais, partout dans le monde, le grand problème réside dans la multi-résistance à la combinaison des médicaments principaux. On distingue les tuberculoses MDR (multi-résistances) et XDR (ultra-résistances) qui sont définies par l'OMS comme suit:

- **Les tuberculoses MDR :** sont des formes de tuberculose qui ne réagissent pas aux traitements standardisés de première ligne. Elles sont définies par la résistance des souches à l'*Isoniazide* et la *Rifampicine*, qui sont les deux antituberculeux les plus puissants et les plus largement utilisés, et qui constituent la base de tous les régimes thérapeutiques actuellement recommandés [45, 50, 51]. Les tuberculoses MDR sont traitées par une antibiothérapie de seconde ligne. Ces tuberculoses MDR peuvent parfois nécessiter deux ans de traitement, ce qui explique leur impact fort sur la mortalité des patients VIH+ et des immun déficients tels que les jeunes enfants et les femmes enceintes.
- **Les souches XDR :** sont des souches MDR qui en plus sont résistantes à des traitements de seconde ligne tels qu'une *fluoroquinolone* [42].

4.4. Les nouveaux antituberculeux

Les traitements antituberculeux actuels ne sont guère satisfaisants du fait de leur longueur (six mois), de leur complexité (quatre médicaments associés) et de leur inefficacité sur les souches multi-résistantes. Or, après plus de 40 ans sans aucune nouvelle molécule, de nombreux nouveaux antituberculeux sont en développement. Certains sont des dérivés de familles déjà connues, comme les *fluoroquinolones* et les *rifamycines*, d'autres appartiennent à de nouvelles familles, comme les *diarylquinolines*, les dérivés *nitroimidazolés* (figure II.6). Ces molécules permettent d'envisager une simplification du traitement de la tuberculose à bacilles sensibles (durée totale plus courte, administration hebdomadaire des médicaments). De plus, les nouvelles classes d'antituberculeux peuvent également avoir une activité sur les bacilles multi et ultra-résistants [52, 53]. Au total, de nombreuses molécules sont en développement dont certaines déjà en phase 3. Néanmoins, la longueur des essais thérapeutiques dans la tuberculose fait que des modifications du traitement standard, si elles se justifient, n'interviendront pas avant plusieurs années.

CHAPITRE III : LA METHIONINE AMINOPEPTIDASE ET SES INHIBITEURS

La découverte d'agents antituberculeux qui ciblent des nouvelles voies est cruciale pour une thérapie efficace contre la tuberculose et permettra de limiter le développement de la résistance.

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 responsable de cette modification co-traductionnelle est celui de la NME (Excision de la Méthionine N-terminale). Elle a lieu dans tous les compartiments cellulaires où il y a une synthèse protéique. Deux classes de protéases composent la NME : la méthionine aminopeptidase (MetAP) et la peptide déformylase (PDF). Aujourd'hui un nombre croissant d'études rapportent que les enzymes de la NME sont la cible de composés ayant des effets antibiotiques, antiparasitaires, antifongiques ou anticancéreux [54]. Malgré les efforts réalisés pour caractériser les voies de signalisation qui lui sont associées, peu d'inhibiteurs efficaces de la NME ont été découverts principalement à cause de notre connaissance limitée de sa fonction physiologique.

Ici, nous passons en revue la voie de l'excision de la méthionine N-terminal (NME) comme une cible thérapeutique potentielle lors de l'infection par *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) (figure III.7).

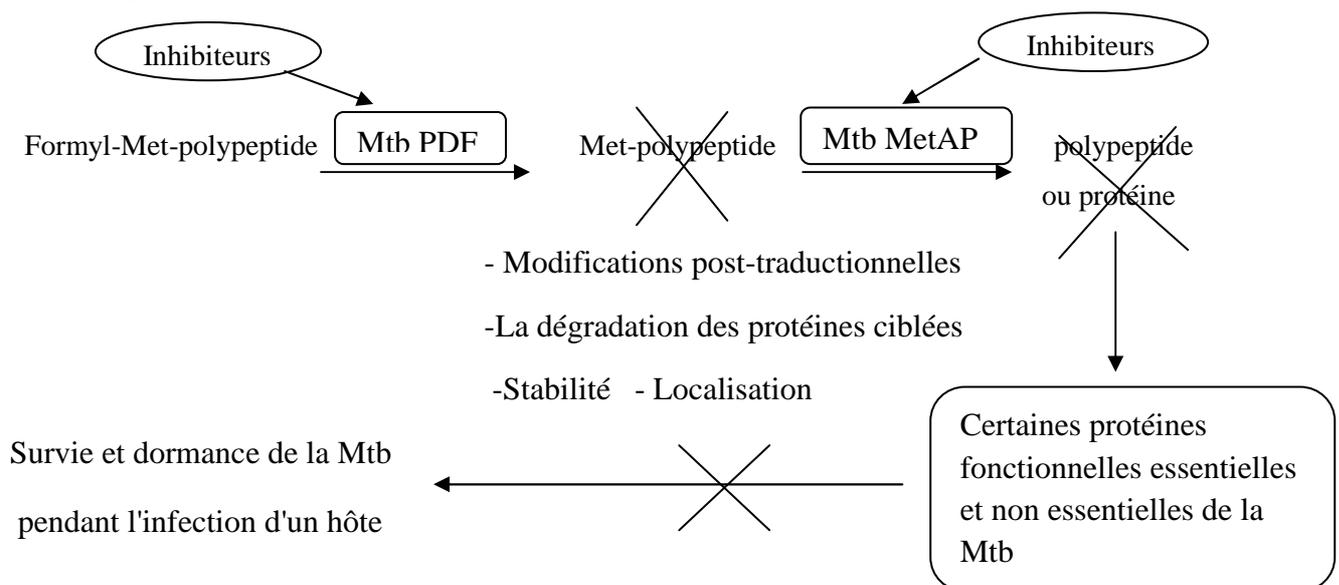


Figure III.7 : Inhibition de la voie NME chez *Mycobacterium tuberculosis*

Les efforts précédents de découverte de nouveaux médicaments sont principalement portés sur la PDF. Cependant, l'apparition des mutants résistants pourrait limiter l'utilité des inhibiteurs de la PDF. D'autre part, le succès de ses inhibiteurs dans les essais cliniques a préparé le terrain pour des études potentielles visant les MetAPs dans la Mtb [54].

Notre travail est basé sur l'étude *in silico* de l'inhibition de la méthionine aminopeptidase par diverses molécules dans le but de découvrir de nouvelles cibles anti-mycobactériennes.

1. La méthionine aminopeptidase

1.1. Définition

La méthionine aminopeptidase (MetAP) est une métalloprotéase qui assure le clivage de la méthionine N-terminale au cours de la synthèse protéique, il s'agit de l'une des étapes critiques dans la maturation des protéines (figure III.8) [3]. La MetAP se trouve dans les cellules procaryotes et eucaryotes. Elle joue un rôle beaucoup plus important que d'autres exopeptidases non spécifiques et est responsable de la plus grande partie de l'élimination de la méthionine N-terminale. Les eucaryotes inférieurs et supérieurs ainsi que les bactéries semblent partager un même mécanisme pour le traitement des protéines, indiquant l'universalité de ce système [55, 56].

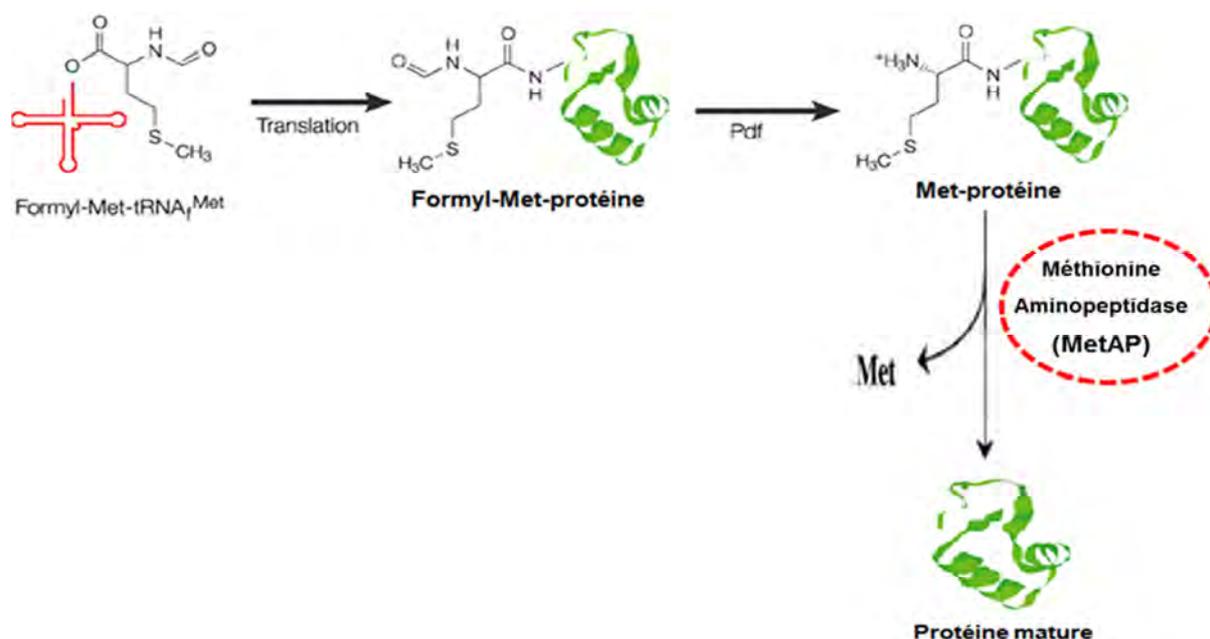


Figure III.8 : Synthèse protéique chez les bactéries

1.2. Classification du forme de l'enzyme MetAP

La méthionine aminopeptidase existe sous deux formes distinctes (type-I et type-II) (figure III.9). Elle est classée en fonction de la présence d'extra séquences, soit à l'extrémité N-terminale de la protéine ou entre les deux glutamates impliqués dans la coordination de l'ion métallique. Les eubactéries présentent seulement le type-I et les archaebactéries uniquement le type-II, les eucaryotes possèdent les deux types [55, 56, 57]. À l'heure actuelle, il n'est pas clair pourquoi certaines espèces bactériennes ont deux MetAPs tandis que d'autres n'ont qu'un seul.

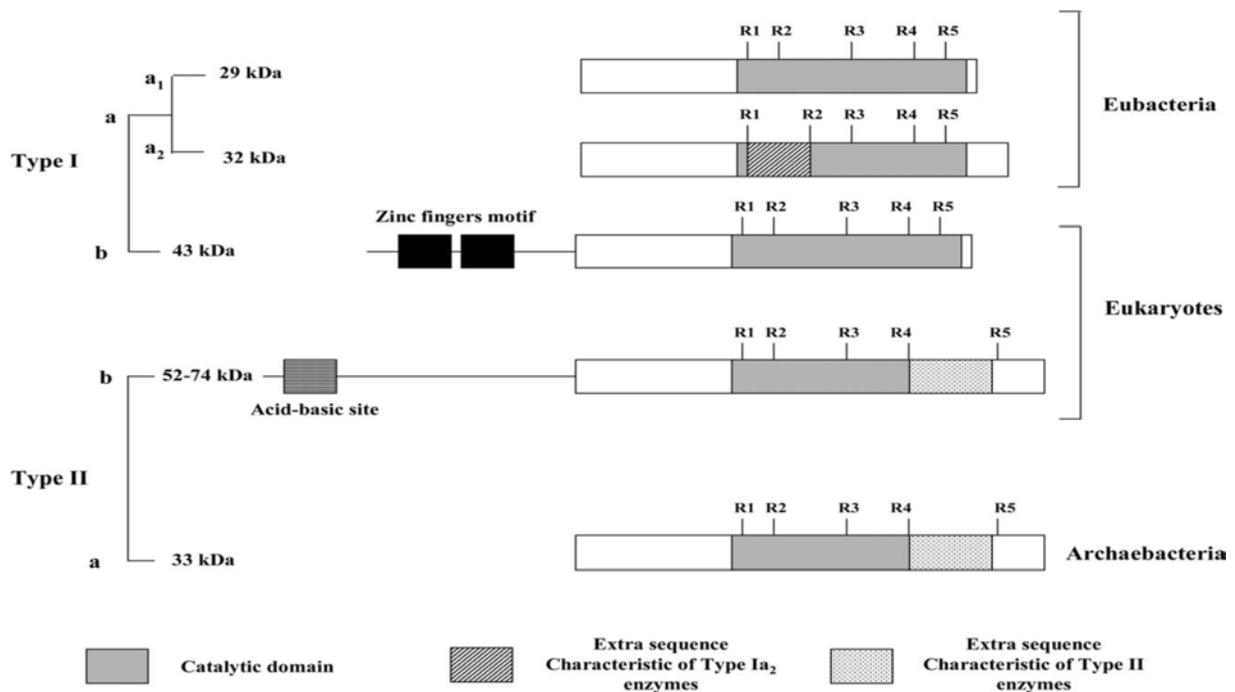


Figure III.9 : Nouvelle classification de la MetAP

1.3. Rôle physiologique de la MetAP

La MetAP élimine la méthionine N-terminale des protéines naissantes, qui a lieu dans environ 50-70% de protéines [57]. L'élimination du NH₂-méthionine est essentielle à certaines protéines pour fonctionner normalement *in vivo* [58].

L'importance physiologique de l'activité de la MetAP est soulignée par la létalité des organismes dont tous les gènes de la MetAP ont été supprimés ou tous les produits des gènes de la MetAP sont inhibés. Ceci a été montré pour *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*. Chez les levures, la suppression de l'une des MetAPI ou MetAPII provoque un ralentissement de croissance, alors que l'élimination des deux gènes est mortelle. La MetAPII

de *Caenorhabditis elegans*, est essentielle pour le développement de la cellule germinale. Dans les cellules de mammifères, les deux HsMetAPI et HsMetAPII sont nécessaires pour la prolifération des cellules. En particulier, HsMetAPII est essentielle pour la croissance des cellules endothéliales et l'angiogenèse [3].

1.4. Propriétés de la MetAP

1.4.1. La dépendance au métal

La MetAP est l'une des metallohydrolases dinucléaires, les ions métalliques jouent un rôle clé dans l'hydrolyse catalysée par la MetAP. Elle peut être activée par plusieurs métaux bivalents, y compris Co (II), Mn(II), et Fe(II). Initialement, la MetAP a été considérée comme une enzyme à Co(II), parce que le cobalt est parmi les meilleurs activateurs, et toutes les premières structures déterminées par rayons X de la MetAP contiennent deux Co(II) dans le site actif [59].

1.4.2. Spécificité de substrat

L'activité de la MetAP est strictement spécifique de la méthionine et elle dépend de la structure de son résidu adjacent. Dans la plupart des cas, un résidu adjacent avec une taille de chaîne latérale plus petit que 0,129 nm est préféré ; pour les tailles de chaîne latérale supérieure à 0,143 nm, la MetAP est incapable de cliver la méthionine [60, 61].

La méthionine initiatrice peut être complètement retirée de la protéine naissante uniquement lorsque le deuxième résidu dans la séquence primaire est petit et non chargé (Glycine, Alanine, Proline, Serine, Cystéine, Thréonine et Valine) [62,63]. Ceci a été démontré *in vitro* en utilisant des substrats différents, mais également *in vivo* (figure III.10) :

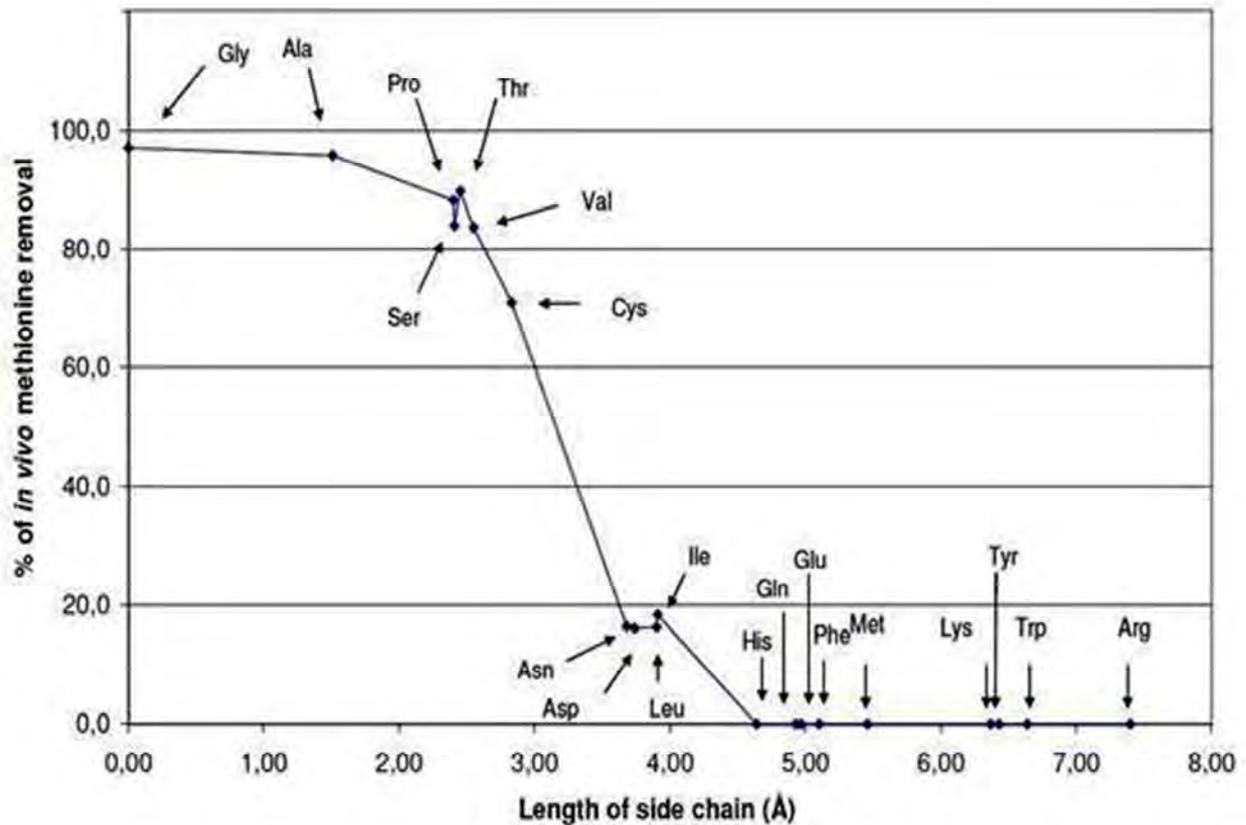


Figure III.10: % de l'élimination de la méthionine *in vivo* avec une séquence N-terminale (Met)-Xaa-Gln-Val-Ala avec 20 acides aminés différents pour Xaa

1.5. Structure générale de la MetAP de *Mycobacterium tuberculosis*

1.5.1. La structure de la MetAP

Deux iso formes de MetAP ont été identifiées chez *Mycobacterium tuberculosis*, l'une avec une taille semblable à la MetAP de *Escherichia coli* (MtMetAPIa) et la seconde avec une extension N-terminale contenant environ 40 acides aminés (MtMetAP1c) [64]. Seule la MtMetAP1c est présentée ici.

Une vue générale de la structure tridimensionnelle de la MetAP de *Mycobacterium tuberculosis* est présentée dans la figure III.11. En résumé, La MetAP contient 5 hélices α et 15 feuilletts β . Deux ions de cobalt ont été trouvés dans la structure rencontrée. Les 40 acides aminés de l'extension N-terminale (colorée en rouge) s'enroulent autour de la surface du domaine catalytique (en vert), le rôle de cette extension est encore inconnu mais il est supposé probablement interagir avec le ribosome lors de l'excision de la méthionine N-terminale. La

MtMetAP1c est plus courte de huit acides aminés à l'extrémité C-terminale par rapport à la MetAP de *Escherichia coli* (EcMetAP) [64, 65].

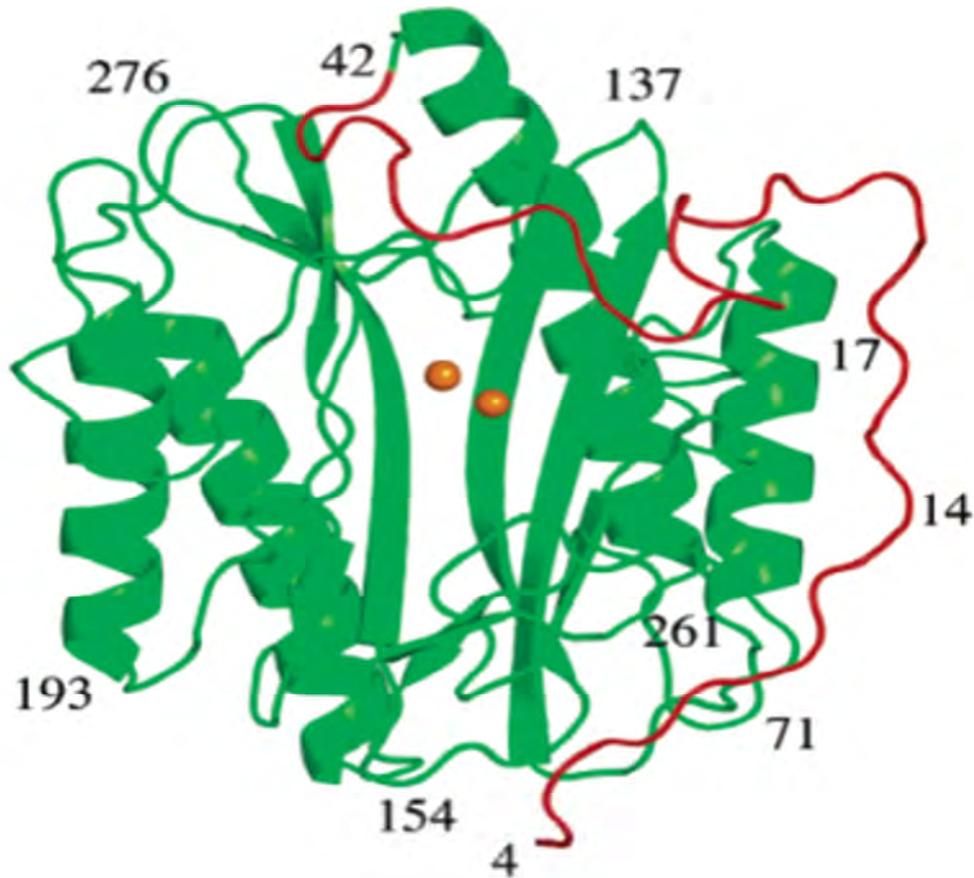
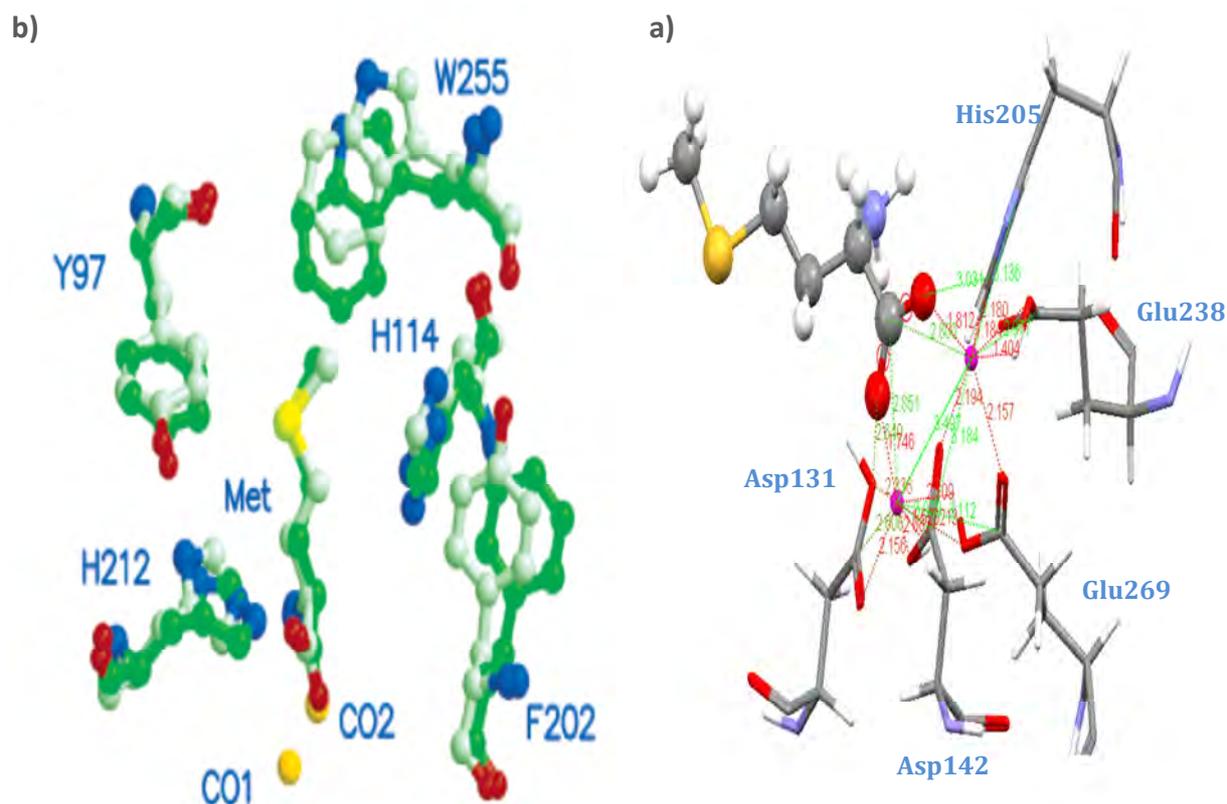


Figure III.11 : La structure de la méthionine aminopeptidase de *Mycobacterium tuberculosis*

1.5.2. La méthionine dans le site actif

Le site actif de la MtMetAP1c est situé à environ dans le centre du domaine catalytique. Les ions métalliques, CoI et CoII, sont liés à la molécule par l'intermédiaire des chaînes latérales des résidus Asp131, Asp142, His205, Glu238 et Glu269 comme le montre la figure III.12a. Tous les résidus qui sont normalement en contact avec les ions métalliques sont conservés.

La chaîne latérale de la méthionine est enterrée dans une poche hydrophobe adjacente au site du métal et formé par plusieurs résidus conservés (figure III.12b). Les résidus His114 et His212 sont vraisemblablement impliqués dans la catalyse ainsi la mutation de leurs homologues structuraux chez HsMetAPIIb (His231 et His339) et EcMetAPIa (His79 et His178) entraîne la suppression ou la réduction significative de l'activité des enzymes MetAP [66].



MetAP	S1-subsite (reconnait Met)	Site de liaison du métal	S1'-subsite
Type-I EcMetAP	Cys59, Tyr62, Tyr65, Cys70, His79, Phe177, Trp221	Asp97, Asp108, His171, Glu204, Glu235	Tyr168, Cys169, Gly170, His185, Glu204, Pro205, Met206, Gln233
Type-II MetAP	Pro220, Gly222, Ile338, His382, Met384, Tyr444	Asp, Asp, His, Glu, Glu	Leu, Gly, Glu, Phe, Gln

2. La recherche de nouveaux agents antimicrobiens

2.1. Généralité

L'émergence de microorganismes pathogènes multi-résistants, due à l'usage abusif et inapproprié des antibiotiques, pose actuellement un problème de santé publique particulièrement préoccupant. En effet, la résistance des bactéries aux antibiotiques rend quelque fois le traitement thérapeutique inefficace, et met le praticien dans des situations délicates, surtout lorsque la vie du malade est en cause. La solution de ce problème s'avère donc urgente et impose la recherche de nouveaux agents antimicrobiens.

Cette thématique vise à utiliser une nouvelle cible, une métalloprotéine impliquée dans la maturation des protéines chez les bactéries (la méthionine aminopeptidase) et à rechercher des inhibiteurs sélectifs de cette métalloprotéine bactérienne.

2.2. Inhibiteurs de la méthionine aminopeptidase

L'intérêt des inhibiteurs de la MetAP est principalement focalisé sur la fumagilline et les inhibiteurs covalents de la MetAP-II en raison de son rôle dans l'angiogenèse. Il y a seulement quelques inhibiteurs rapportés pour la MetAP-I, Bien qu'elle soit une enzyme unique et essentielle dans les bactéries. Depuis les ions métalliques font partie du site catalytique, la conception des chélateurs de métaux a été une approche populaire pour développer des inhibiteurs de la MetAP (type I et type II). Les inhibiteurs compétitifs de la MetAP peuvent être divisés en différentes classes.

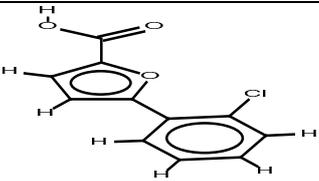
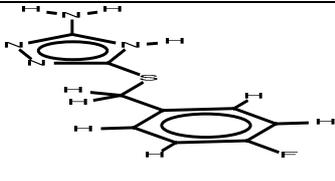
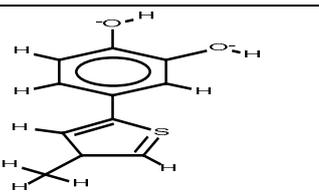
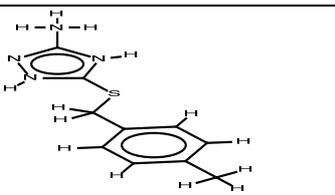
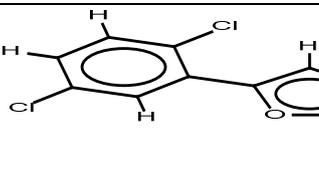
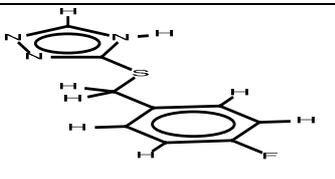
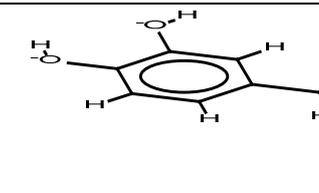
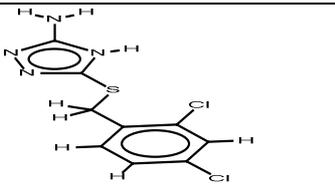
Une classe des inhibiteurs de la méthionine aminopeptidase (MetAP), contient un hydroxamate interne (N-acyl-Nalkylhydroxylamine) noyau en tant que groupe de métal-chélation, a été conçu, synthétisé et testé [69]. Les bengamides (un produit marin naturel isolé à partir d'éponges) et leurs analogues synthétiques [70] partager un même mode de liaison.

Une seconde classe contient une triazole ou un groupe pyrazole représente une classe originale des inhibiteurs non-peptidiques efficaces contre les MetAPs [71]. Les groupements structuraux tels que les acides carboxyliques ou les thiazole-2-oxalamides [72] sont présentes en quelques autres inhibiteurs efficaces.

Dans cette étude, nous nous sommes limités à deux classes de molécules récemment étudiées et qui ont été rapportées comme inhibiteurs de la MtMetAP :

- Une série des inhibiteurs sélectifs (metalloformes) sont identifiés comme nouvelle classe d'inhibiteurs non peptidiques et de faible poids moléculaire de la MtMetAP [61] dont les structures sont représentées dans le tableau III.3 ci-dessous.

Tableau III.3: Structures des inhibiteurs sélectifs (metalloformes)

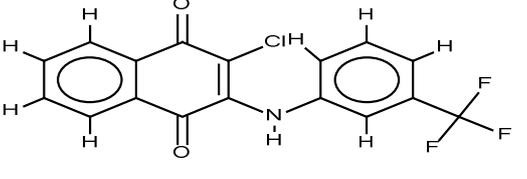
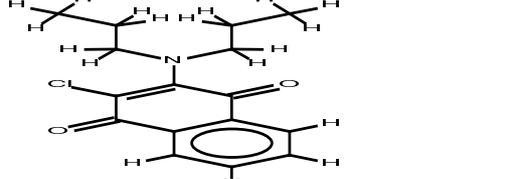
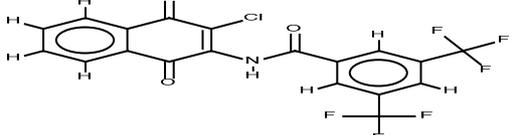
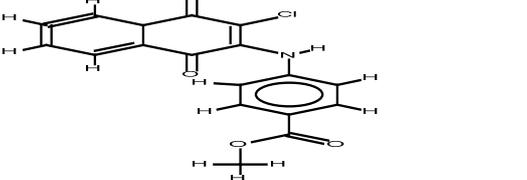
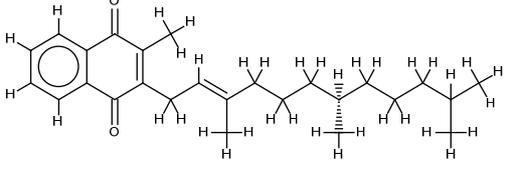
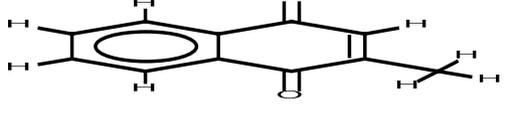
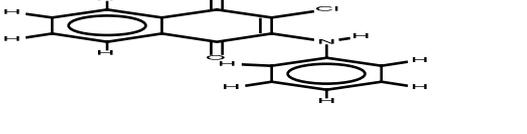
1		5	
2		6	
3		7	
4		8	

- Une étude expérimentale réalisée par une équipe de chercheurs, *O. Olaleye et al.* 2010 [3], a permis d'identifier de nouveaux composés capables d'inhiber les deux types de MtMetAPs. Ces composés sont les naphtoquinones et leurs dérivés (tableau III.4).

Tableau III.4 : Structures des dérivés naphtoquinones

2		17	
3		18	
4		19	
5		20	
6		21	
7		22	
8		23	
9		24	
10		25	

Tableau III.4 : suite

12		26	
13		27	
14		28	
15		29	
16			

MATERIELS

ET

METHODES

CHAPITRE IV : MATERIELS ET METHODES

1. Evaluation des programmes de docking

Des études ont montré que certains algorithmes de docking sont plus fiables que d'autres pour reproduire le mode de fixation expérimentale de ligands. Les performances d'un programme de docking sont jugées au moyen de deux critères :

1.1. Le RMSD (Root Mean Square Deviation)

Correspond à la moyenne de la déviation de chacun des atomes par rapport à ceux de la molécule d'origine. Le mieux possible signifie que la valeur du RMSD entre la pose du ligand calculée par le logiciel et la conformation dans le complexe expérimental est la plus petite possible. Le positionnement, c'est-à-dire l'identification correcte du site de liaison sur la protéine, l'orientation et la conformation du ligand influent sur la valeur du RMSD.

Le ratio admis est une différence maximum de deux angströms au-delà de laquelle la prédiction est considérée comme non pertinente. La norme actuelle pour évaluer les performances d'un programme de docking est de faire un test à partir de plusieurs centaines de complexes protéines-ligands cristallisés [73, 74].

Deux programmes de docking moléculaire ont été testés, Surflex (v 1.3, 2005), et GOLD (5.0.1, 2011). Ce test a été réalisé sur 144 complexes disponibles au niveau de la PDB et leurs RMSD déterminés. La prédiction est acceptable si la valeur du RMSD ne dépasse pas 2 Å. La liste des complexes protéines-ligands étudiés sera retrouvée dans l'annexe 1.

1.2. Le coefficient de corrélation (r)

Le coefficient de corrélation de *Pearson* permet d'évaluer l'intensité et le sens de la relation linéaire entre deux séries de données provenant de l'échantillonnage de deux variables métriques. Le coefficient de corrélation indique le degré de relation linéaire entre les deux séries de données, et il prend des valeurs situées entre -1 et 1. S'il n'y a pas de relation linéaire entre les deux séries de données, le coefficient de corrélation est très proche de zéro, et on dira que les deux variables ne sont pas corrélées. Dans ce cas, il pourrait tout de même y avoir une relation entre les deux variables, mais alors elle ne sera pas linéaire [75].

Le signe du coefficient de corrélation indique le sens de la corrélation: s'il est positif, la valeur d'une des variables tend à augmenter en même temps que celle de l'autre variable, s'il est négatif, la valeur d'une variable tend à diminuer quand celle de l'autre augmente. Pour interpréter les corrélations dans le cadre de la relation examinée, nous pouvons nous en tenir à certaines valeurs indicatives (figure IV.13).

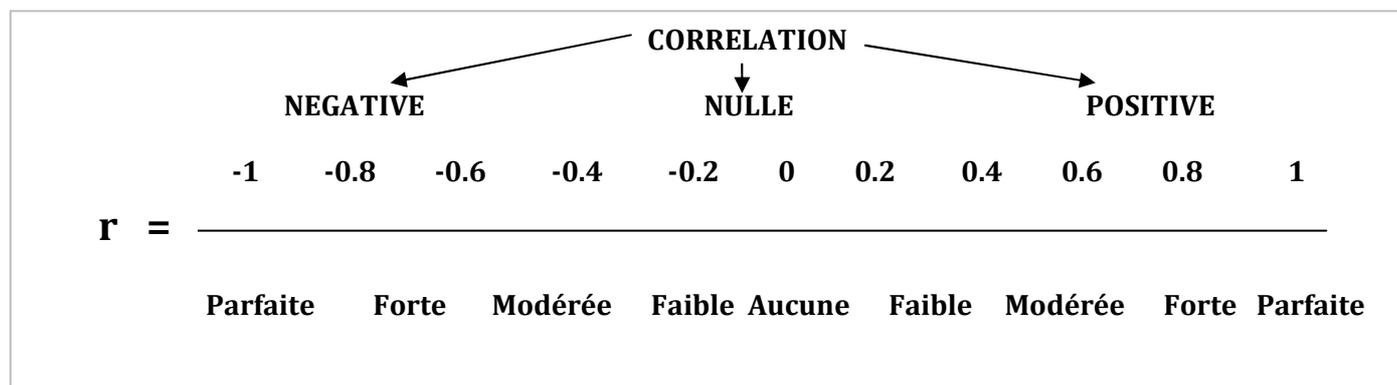


Figure IV.13: les différentes valeurs de r

Pour étudier la corrélation entre le score obtenu par le docking moléculaire et l'activité biologique (IC50), nous avons utilisé les différents inhibiteurs de la méthionine aminopeptidase (MetAP), ces inhibiteurs connus à travers les articles. Au total, 100 molécules de trois bactéries différentes: *Mycobacterium tuberculosis* [2], *Escherichia coli* [76, 77, 72] et *Staphylococcus aureus* [77] ont été testées. La disponibilité des valeurs de leur IC50 est parmi les critères de choix de ces molécules utilisées pour tester la fiabilité des programmes Surflex et GOLD à l'aide du coefficient de corrélation. Les structures des inhibiteurs de la MetAP et leurs IC50 sont représentées dans l'annexe 2.

2. Préparation des molécules

2.1. Les structures de l'enzyme

Les structures de l'enzyme MetAP proviennent de la PDB « *Protein Data Bank* », la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques, comme les protéines et les acides nucléiques. Ces données sont principalement obtenues par cristallographie aux rayons X et résonance magnétique nucléaire (RMN).

Mise en place en 1971, elle contenait à l'époque sept structures. En 2006, plus de 36000 structures, dont 33000 structures de protéines, sont disponibles dans la PDB. De nombreuses informations associées à chaque structure sont accessibles à l'ensemble de la communauté

scientifique, par un serveur internet (<http://www.rcsb.org/pdb/>). On peut y trouver la séquence correspondante, ses coordonnées atomiques, les conditions expérimentales (par exemple, les conditions de cristallisation), des images 3D [78].

2.2. Choix d'une structure cristallographique

Nous avons choisi trois codes de bonne qualité de l'enzyme MetAP ; 3IU7 (MetAP de *Mycobacterium tuberculosis*), 2GG2 (MetAP de *Escherichia coli*) et 1QXY (MetAP de *Staphylococcus aureus*). Les caractéristiques de ces enzymes sont regroupées dans le tableau IV.5 ci-dessous.

Tableau IV.5 : Principales caractéristiques des codes 3IU7, 2GG2 et 1QXY [79]

Code	Résolution (Å)	Facteur R	Classification	Nombre de chaîne	Nombre d'AA par chaîne	Nombre d'atomes par chaîne
3IU7	1.40	0.172	3.4.11.18	1	285	2167
2GG2	1.00	0.136	3.4.11.18	1	264	2176
1QXY	1.04	0.144	3.4.11.18	1	251	1910

Pour réaliser un choix pertinent de structure cristallographique il faut la combinaison des deux facteurs [80]:

2.2.1. La résolution

La résolution en angström de la protéine est une des données reflétant la qualité des structures ayant permis de construire le modèle cristallographique. Généralement, une résolution proche de 1 Å permet de distinguer tous les atomes y compris les hydrogènes. Une résolution de l'ordre de 6 Å permet seulement de distinguer que des structures de types «hélice α » ou «feuillet β » par exemple.

2.2.2. Le facteur R

Un autre indicateur est le facteur R qui est une grandeur indicatrice de l'écart entre les facteurs de structures observés et calculés. Le facteur R est compris entre 0 et 1 (plus le facteur R est proche de 0 et plus la prédiction est juste).

2.3. Préparation des molécules à l'arrimage

Dans un premier temps, le complexe protéine-ligand est téléchargé dans le format *.pdb* à partir de la banque de données en introduisant son code ID.GOLD utilise directement le format *.pdb* et n'a pas besoin d'une préparation préalable. Par contre, Surfex exige le format *.mol2*. Donc les deux molécules du complexe (enzyme-ligand) sont séparées à l'aide du logiciel Viewerlite. Les molécules d'eau et les autres composés de cristallisation sont retirés de la structure. Les hydrogènes sont ajoutés à la structure, en respectant l'état de protonation des résidus. Elles sont ensuite transformées dans le format *.mol2* par l'intermédiaire du programme disponible gratuitement Open Babel.

2.3.1. Open Babel

Open Babel (2.0.2, 1991) est un programme libre, visant à faciliter l'inter conversion des données chimiques d'un format à un autre de fichiers de divers types. Les formats de fichier que « Open Babel » prend en charge comprennent : PDB, MOL, MOL2, SDF, XYZ, PC, SMI...etc [81].

2.3.2. Viewerlite

Viewerlite (4.2, 2001) [82] est un outil gratuit de visualisation, qui permet un affichage 3D d'une structure de molécule biologique. Il lit plusieurs formats de fichier dont le format *.pdb* qui est le format le plus courant pour visualiser la structure des protéines ou des petites molécules. Viewerlite propose plusieurs fonctions telles que : la présentation des liaisons chimiques (liaison hydrogène), la mesure de distances interatomiques, l'annotation des acides aminés (nom, numéro), créations de surfaces, choix de couleur (selon les atomes, les structures...), la capacité de cacher et puis afficher à nouveau les différentes molécules.

2.4. Le dessin des inhibiteurs de la MetAP

Le programme Arguslab (4.0.1, 2003) [83] est un logiciel gratuit, utilisé pour construire les différents inhibiteurs de la MetAP. Il possède une banque d'atomes sous différents états d'hybridation permettant de construire tous les groupements chimiques éventuels. La géométrie du ligand est optimisée à l'aide de la méthode semi-empirique PM3 (Parametric Method3) et enregistrée dans le format *.mol* et ensuite transformée dans le format *.mol2* à l'aide de programme Open Babel.

2.5. Programmes utilisés

2.5.1. Surflex

Surflex (1.3, 2005) est un algorithme de docking rapide capable d'arrimer les ligands dans un environnement constitué d'acides aminés avec une bonne précision. Les paramètres standards de Surflex ont été utilisés par défaut dans cette étude.

Le docking est réalisé en 3 étapes [84]:

- Choix de la manière d'identifier le site actif soit à partir d'un ligand soit à partir du récepteur.
- Construire d'une pseudo-molécule (*protomol*) qui va servir de cible aux différents ligands.
- Arrimage d'un ou de plusieurs ligands.

Les différentes étapes de docking

- **La génération de *Protomol***

L'utilisateur emploie une pseudo-molécule (*protomol*) comme la cible à laquelle se rallie le ligand dans le site actif d'une protéine. Pour la création de *protomol* nous avons utilisé la commande : `surflex-dock proto ligand.mol2 protein.mol2 pl`.

- **Le docking d'une seule molécule**

L'arrimage moléculaire exige un ligand, un *protomol* et une protéine. Pour le docking d'une seule molécule nous avons utilisé la commande : `surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 protein.mol2`.

Le résultat est donné sous la forme des 10 meilleurs « conformères » au format *.mol2* (figure IV.14).

programmes pour la visualisation et la manipulation des structures (Hermes v 1.4), pour l'arrimage protéine-ligand (GOLD v 5.0.1) et pour le traitement et la visualisation des résultats de docking (GoldMine v 1.3).

Ses principaux avantages sont sa fiabilité à prédire des structures cristallographiques pour des complexes de type protéine-ligand et l'emploi d'un algorithme génétique efficace. De plus, le logiciel dispose d'une interface graphique simple d'emploi, et aisément scriptable et s'adapte particulièrement bien aux environnements de calcul parallèle.

Hermes

Hermes est un programme permettant de visualiser la structure des protéines en trois dimensions. Ses caractéristiques comprennent [29] :

- La capacité de lire les structures des protéines et de ligand à partir de fichiers externes ;
- Une gamme d'options de visualisation 3D, y compris le choix des modèles d'affichage, les couleurs, la capacité de cacher et puis afficher à nouveau les atomes, les résidus, les ligands, les molécules d'eau,...etc ;
- La capacité de mesurer et afficher les distances, les angles et les angles de torsion ;
- La capacité de trouver et montrer les liaisons hydrogène ;
- La possibilité d'enregistrer les fichiers ;
- La possibilité de modifier les ligands ;
- La possibilité de charger et de visualiser les surfaces contournées.

Les différentes étapes de docking

Après l'ouverture du visualiseur *Hermes*. On ouvre la fenêtre *GOLD setup wizard*, en cliquant sur *Wizard*. Le complexe *enzyme-ligand.pdb* sera téléchargé, en cliquant sur le bouton *Load Protein*.

Les étapes suivantes sont nécessaires :

1. Addition des hydrogènes

Tous les atomes d'hydrogène doivent être présents dans le fichier d'entrée des protéines.

2. Suppression des molécules d'eau

Les molécules d'eau dans les cavités des protéines peuvent parfois être un élément fondamental. Elles sont capables d'assurer le relais entre le récepteur et le ligand et ainsi créer des réseaux de liaisons hydrogène. Dans nos études, nous n'avons pas mis en évidence l'intérêt d'introduire des molécules d'eau. Un clic sur l'option *Delete Remaining Waters* permet l'élimination des molécules d'eau.

3. Suppression des ligands

Le fichier protéine peut avoir un ou plusieurs ligands occupant le site de liaison qui doit être enlevé avant de pouvoir effectuer un docking. En cliquant sur *Delete Ligands* de la liste des options proposées, puis sur le bouton *Extract*. Le ligand extrait est enlevé du fichier de la protéine et automatiquement rechargé dans *Hermes* de sorte qu'il puisse être employé pour définir le site de liaison. Le ligand est sauvegardé sous forme *ligand .mol2*.

4. Définition de site de liaison

Il est nécessaire de préciser le site de liaison de l'enzyme, en cliquant sur *Define Binding Site* de la liste *Global Options* puis choisir l'option *One or more ligands*. Une liste de ces ligands actuellement chargés dans le visualiseur *Hermes* sera montrée. Choisissez le ligand de référence que vous souhaitez utiliser à partir de cette liste.

5. La sélection du Ligand

Pour sélectionner le ligand, appuyer sur *Add*. Choisir *ligand .mol2* puis cliquer sur *Open*. Le *ligand .mol2* sera inscrit au *Ligand File*.

6. La fonction de score

La fonction *Goldscore* est utilisée dans le cadre du docking, pour l'évaluation de l'énergie des systèmes protéine-ligand.

7. Run GOLD

Avant de terminer la mise en place de notre arrimage, cliquer sur l'option *Advanced*, sélectionner *Output Options*. Cette page est séparée en trois vues tabulées : *File Format Options*, *Information in File* et *Selecting Solutions*, permettent de contrôler les informations des fichiers de sortie.

Enfin, le choix de l'option *Run GOLD* dans le menu permet de lancer les calculs. Une fois le travail terminé, le message *Finished Docking Ligand* apparaîtra dans la fenêtre *Run GOLD*. Les résultats de docking sont présentés sous forme de 5 fichiers de sortie, pouvant être observés dans la fenêtre *Run GOLD*:

- Les fichiers contenant des informations sur la protéine et le ligand initialisé (*gold_protein.mol2* et *gold_ligand.mol2*) ;
- Les fichiers contenant le ligand docké (*gold_soln_ligand_m1_n.mol2*) ;
- Les fichiers contenant le score de Fitness (*ligand_m1.rnk* et *bestranking.lst*) : les tentatives d'amarrage sont énumérées selon le score de Fitness. Donc, la meilleure solution est placée en premier ;
- Les fichiers log des protéines et de ligand (*gold_protein.log* et *gold_ligand_m1.log*) ;
- Les fichiers contenant les messages d'erreur (*gold.err*).

3. Inhibition de la 3IU7 par GOLD

3.1. Choix de la 3IU7

Dix structures tridimensionnelles pour la méthionine aminopeptidase de *Mycobacterium tuberculosis* sont disponibles sur la PDB, identifiées par les codes 3IU7, 3IU8, 3IU9, 1YJ3, 1YIN, 3PKA, 3PKB, 3PKC, 3PKD et 3PKE. La structure 3IU7 a été choisie pour notre étude, car elle constitue un compromis entre une bonne résolution et la présence d'un inhibiteur co-cristallisé.

3.2. La règle de *Lipinski*

Chaque médicament potentiel doit de se conformer à plusieurs critères de base, tel son faible coût de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologique d'absorption, de distribution, métabolisme, d'excrétion et de toxicité (filtre ADME/Tox) [85]. Cette méthode est basée essentiellement sur la règle de 5 de *Lipinski* [86]:

- Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da) ;
- Le coefficient de partition (logP) doit être ≤ 5 ;
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être ≤ 5 ;
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être ≤ 10 .

LogP : est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanol et dans l'eau ($\text{LogP} = \text{Log Coct/Ceau}$). Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe d'une molécule. En effet, une molécule doit, pour parvenir dans l'organisme jusqu'à son lieu d'action, se dissoudre dans des phases aqueuses, traverser des membranes lipidiques, des phases protéiques et osidiques. La solubilité dans l'eau et dans les lipides ainsi que le coefficient de partage jouent dans ce transport, un rôle fondamental. Une molécule dotée d'une action plus rapide doit avoir un coefficient de partage qui favorise le plus son transport [27].

Les composés dont les propriétés physico-chimiques ne satisfont pas au moins deux des règles sont fortement susceptibles de présenter des problèmes d'absorption ou de perméabilité. De plus, *Veber* [87] a introduit deux critères supplémentaires à ce qui est aujourd'hui communément appelé "la règle des 5". La surface polaire (PSA, polar surface area) du composé doit être inférieure à 140 \AA^2 et le nombre de liaisons de rotation « rotatable bonds » doit être inférieur à 15.

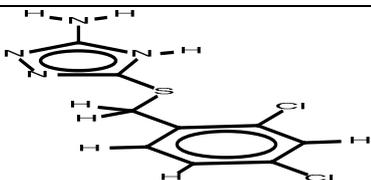
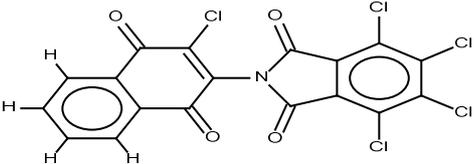
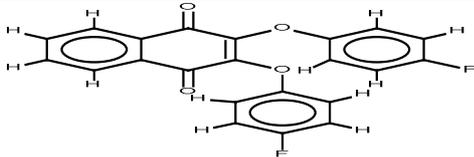
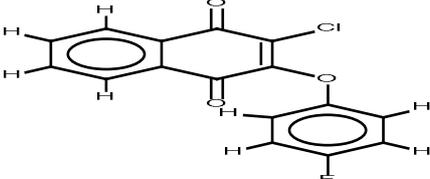
En effet, en complément de ces règles, d'autres critères sont pris en compte dans la sélection de molécules potentiellement candidates [24]:

- Nombre d'halogènes ≤ 7 ;
- Chaînes alkyles $\leq \text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-CH}_3$;
- 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.

3.3. Inhibition de la 3IU7 par divers inhibiteurs

Nous avons sélectionné les quatre composés (parmi les 35 cités dans le chapitre III) qui agissent sur la MetAP de *Mycobacterium tuberculosis*. Les structures des ligands sont représentées dans le tableau IV.6 ci-dessous.

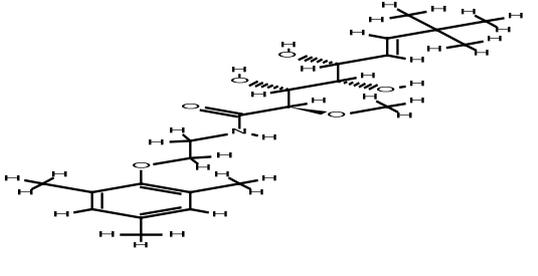
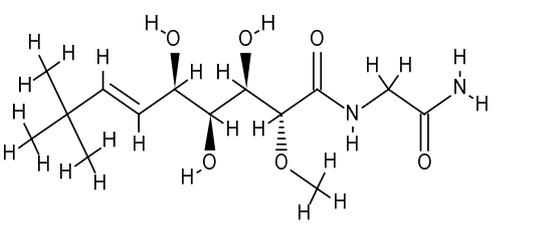
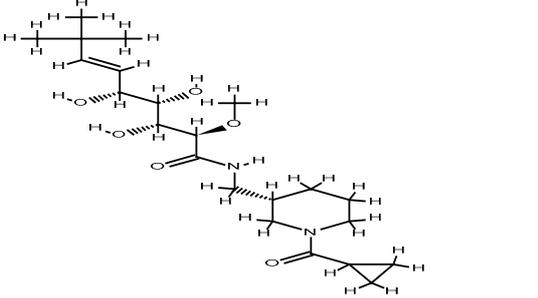
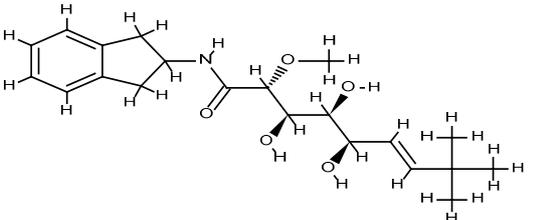
Tableau IV.6 : Structure des ligands étudiés

N°	Composé	Nom
1		5-[[[(2,4-dichlorophenyl) methyl] sulfanyl]-4H-1,2,4-triazol-3-amine
2		4,5,6,7-tetrachloro-2-(3-chloro-1,4-dioxo-1,4-dihydronaphthalen-2-yl)-2,3-dihydro-1H-isoindole-1,3-dione
3		2,3-bis(4-fluorophenoxy)-1,4-dihydronaphthalene-1,4-dione
4		2-chloro-3-(4-fluorophenoxy)-1,4-dihydronaphthalene-1,4-dione

4. Inhibition de la MetAP de *Mycobacterium tuberculosis* par les dérivés du Bengamide

Lu J. P et al. (2011) ont identifié de nouveaux composés capables d'inhiber les deux types de la MetAP de *Mycobacterium tuberculosis*. Ces composés sont les dérivés du Bengamide, tirés directement de la banque de données PDB. Les structures de ses dérivés se retrouvent dans le tableau IV.7.

Tableau IV.7 : structure des dérivés du Bengamide

N°	Composé	Nom
1		Y02 : (2r,3r,4s,5r,6e)-3,4,5-Trihydroxy-2-Methoxy-8,8-Dimethyl-N-[2-(2,4,6-Trimethylphenoxy)ethyl]non-6-Enamide
2		Y16 : (2r, 3r, 4s, 5r, 6e)-N-(2-Amino-2-Oxoethyl)-3, 4,5-Trihydroxy-2-Methoxy-8,8-Dimethylnon-6-Enamide
3		Y08 : (2r,3r,4s,5r,6e)-N-[(3s)-1-(Cyclopropylcarbonyl)piperidin-3-Yl]methyl}-3,4,5-Trihydroxy-2-Methoxy-8,8-Dimethylnon-6-Enamide
4		Y10 : (2r,3r,4s,5r,6e)-N-(2,3-Dihydro-1h-Inden-2-Yl)-3,4,5-Trihydroxy-2-methoxy-8,8-Dimethylnon-6-Enamide

RESULTATS
ET
DISCUSSIONS

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le travail réalisé ici s'articule en trois parties. La première partie traite la performance des programmes utilisés. Une deuxième partie expose l'étude des interactions intervenant dans l'inhibition de la MetAP par divers molécules. Nous présentons, dans la dernière partie l'inhibition de la MetAP de *Mycobacterium tuberculosis* par les dérivés du Bengamide.

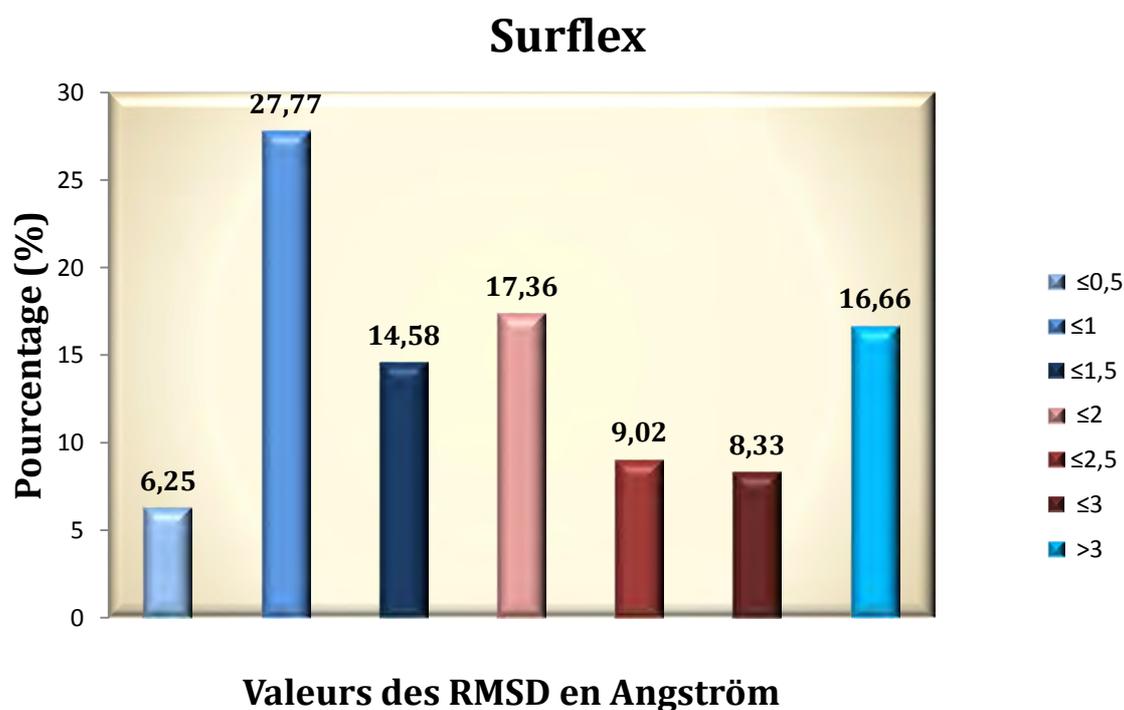
1. Fiabilité des programmes utilisés

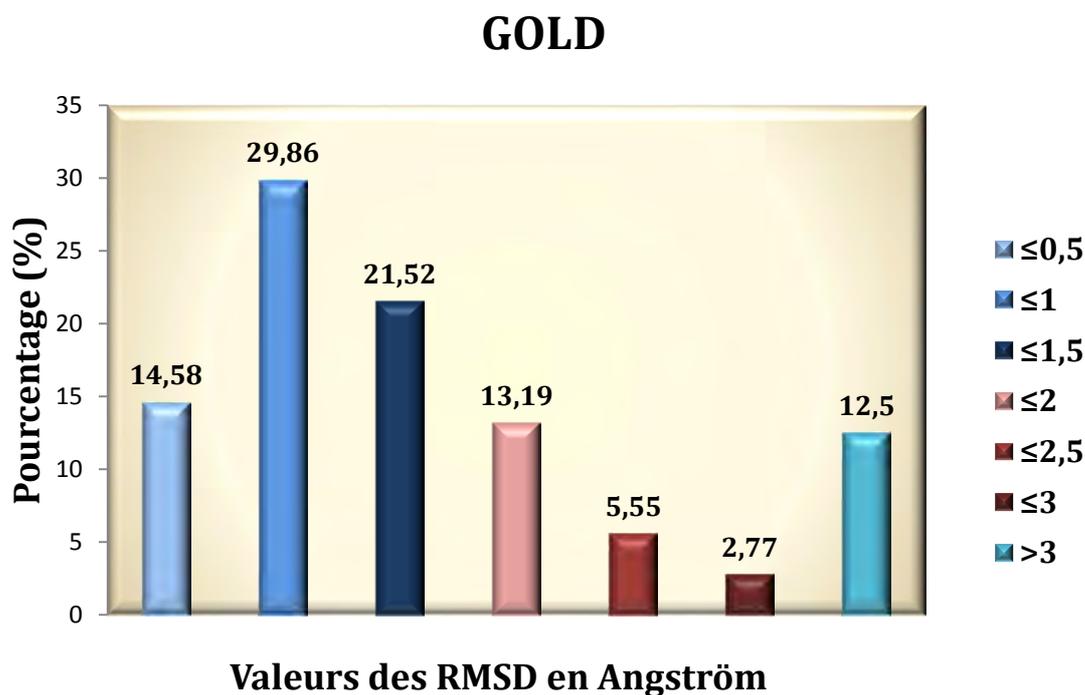
1.1. Le RMSD

La performance des deux logiciels a été évaluée sur 144 complexes protéines-ligands (annexe1) tirés de façon aléatoire de la PDB.

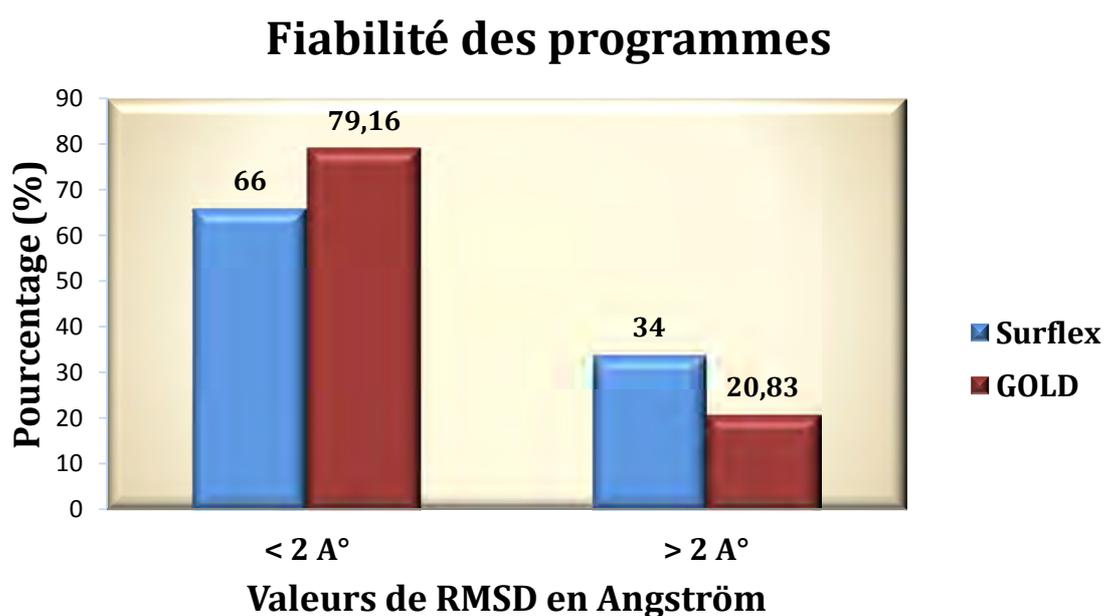
Les écarts quadratiques moyens entre la position du ligand du complexe cristallographique et celles des ligands amarrés par Surfex et GOLD, ont été calculés. Une prédiction correcte (résultat positif) est définie par un RMSD entre le mode d'interaction prédit et la structure cristalline, inférieur à 2 Å. Dans les graphes suivants, les résultats sont donnés en pourcent (%), à divers intervalles de RMSD représentés par différentes couleurs, pour les deux programmes : Surfex et GOLD.

GRAPHE1 : Résultats en % obtenus par Surfex à divers intervalles de RMSD (Å)



GRAPHE2 : Résultats en % obtenus par GOLD à divers intervalles de RMSD (Å)

Le RMSD minimum dans l'ensemble est de 0,27 Å alors que le maximum est de 7.67 Å. La majorité des résultats positifs se situe dans l'intervalle 0,5 – 1 Å pour Surflex et 0.5 – 1.5 Å pour GOLD.

GRAPHE 3 : Comparaison des deux programmes

Nous remarquons d'après ces résultats que le programme GOLD reproduit bien les données expérimentales, et à un degré moindre Surflex. En effet, 79.16 % des valeurs de RMSD sont inférieures ou égale à 2 Å pour le premier, et 66 % pour le deuxième. En revanche, le temps de calcul requis par le programme GOLD pour le docking d'un ligand est plus long que le temps requis par le programme Surflex. Ce paramètre n'est pas négligeable si le logiciel est utilisé pour le criblage d'un nombre important de molécules.

Exemples des valeurs du RMSD

La comparaison de la conformation expérimentale des trois complexes (colorées en rouge) : le 3FHR (le meilleur), le 1BSK (l'intermédiaire) et le 1RL4 (le mauvais) avec les conformations optimales calculées par le logiciel GOLD (colorées en vert), est montrée dans les figures suivantes.

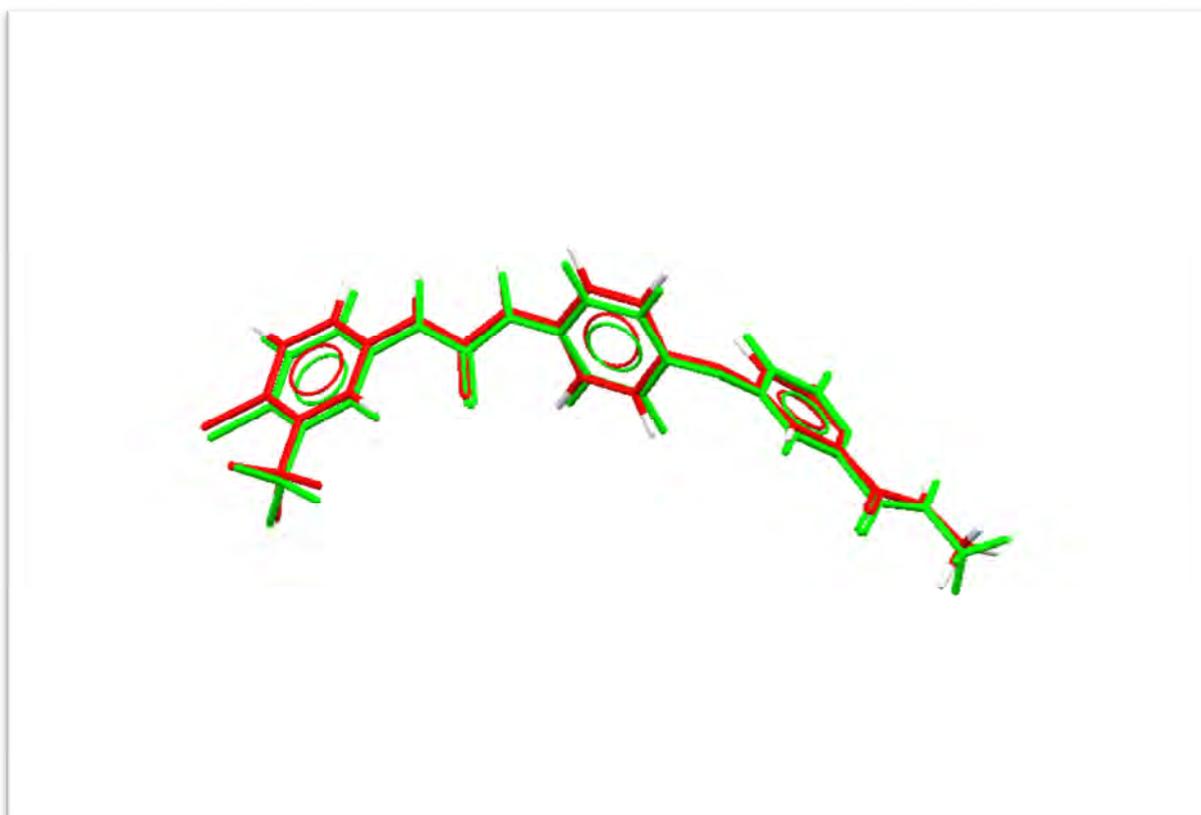


Figure V.15: Superposition du ligand P4O donné par rayon-X (coloré en rouge) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec GOLD

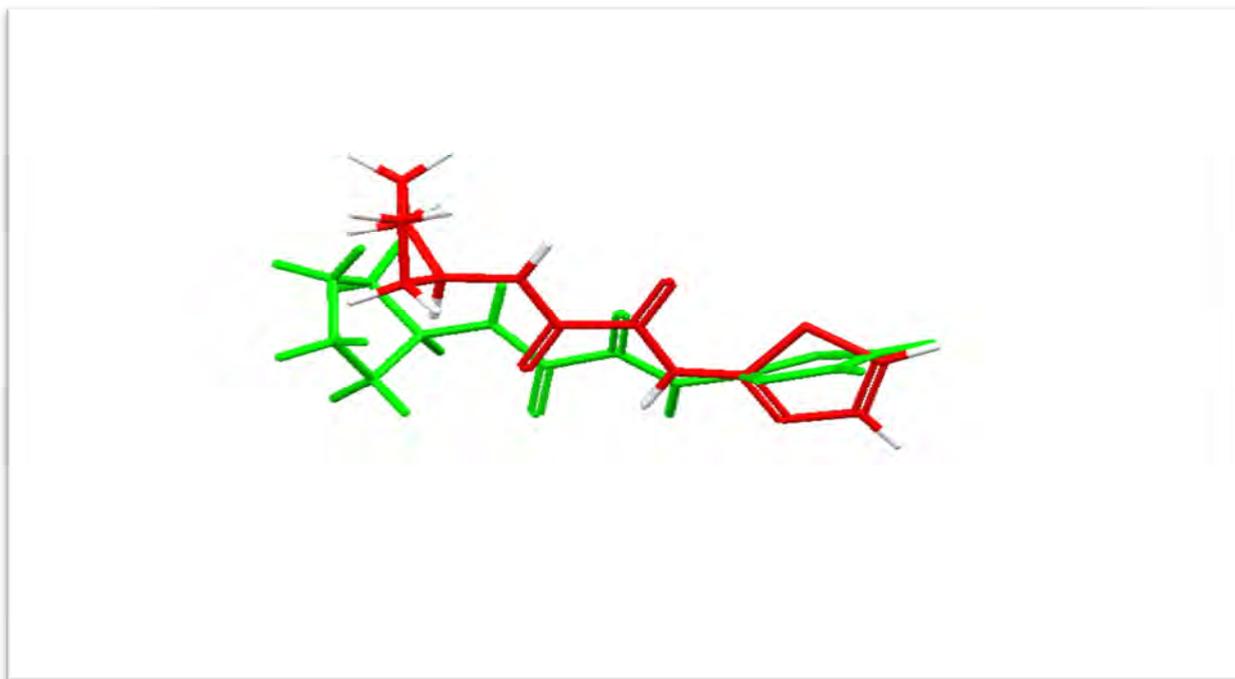


Figure V.16 : Superposition du ligand MNL donné par rayon-X (coloré en rouge) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec GOLD

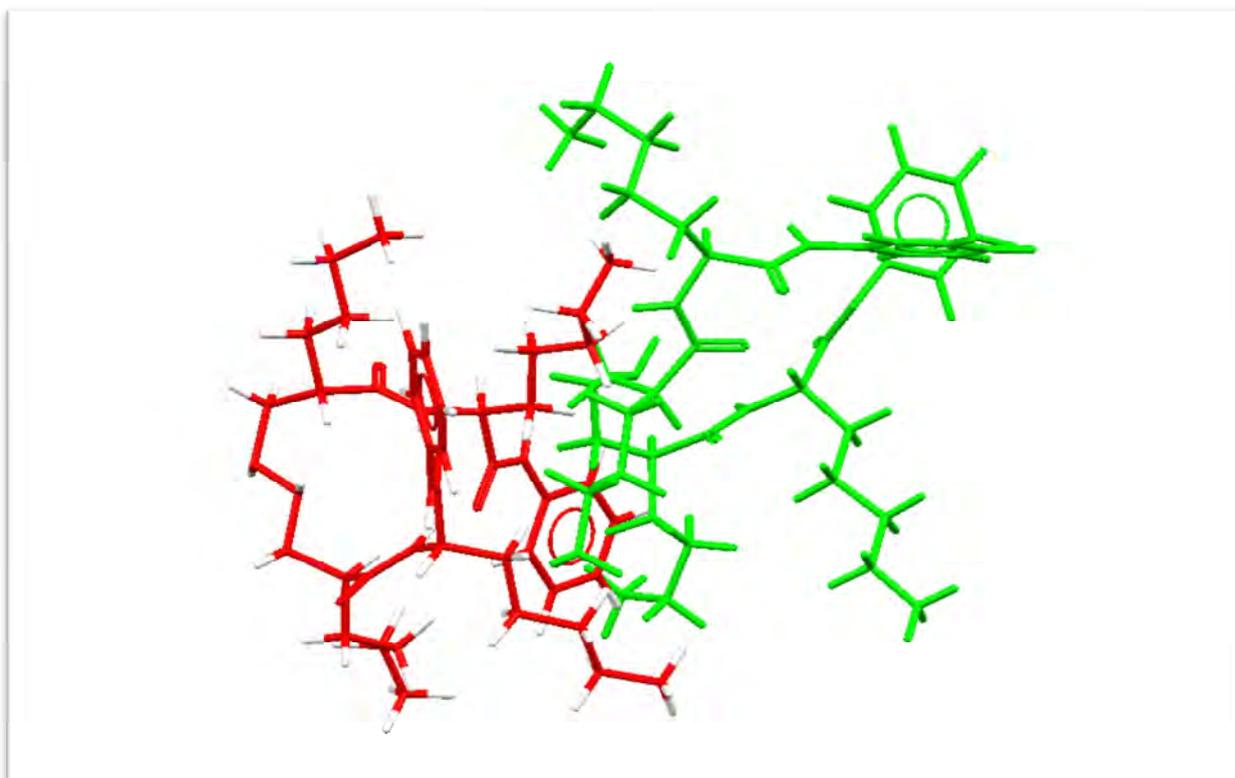


Figure V.17 : Superposition du ligand BL5 donné par rayon-X (coloré en rouge) et par docking moléculaire (coloré en vert) avec GOLD

Dans le premier cas, avec un RMSD de 0.276 Å, on obtient une bonne superposition de solution du docking avec les coordonnées de structure observée expérimentalement. De ce fait la superposition est presque parfaite (figure V.15); dans le deuxième cas, avec un RMSD de 2.245 Å, elle l'est moins (figure V.16); alors que dans le troisième cas, avec un RMSD de 7.676 Å elle est mauvaise, c'est à dire le ligand arrimé est éloigné de ligand naturel (figure V.17).

La présence des liaisons rotatives dans le ligand du complexe 1RL4 (31 liaisons rotatives) est probablement la raison pour laquelle le RMSD est supérieur à 2 Å. 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 [24, 27]. Lorsque le nombre de liaisons simples croît, le nombre théoriquement envisageable de conformations pour une molécule augmente. Une recherche conformationnelle exhaustive est donc impossible.

Conclusion

Le test par le RMSD nous permet de conclure, que les logiciels surflex et GOLD peuvent être utilisés pour prédire les interactions enzyme-inhibiteurs. Ils sont généralement plus efficaces en présence de petites molécules de ligand.

1.2.Coefficient de corrélation

L'analyse par régression linéaire a été réalisée sur différents complexes (MetAP-inhibiteurs) dont l'activité biologique a déjà été testée. La corrélation entre l'activité biologique et le résultat obtenu par le docking moléculaire est un des moyens pour tester la fiabilité des programmes Surflex et GOLD utilisés dans cette étude.

IC50 : est la concentration d'inhibiteur nécessaire pour atteindre 50% d'inhibition de l'enzyme. Cette grandeur peut également être exprimée en $pIC50 = -\log IC50$ [88].

L'analyse par régression linéaire a permis d'obtenir un coefficient de corrélation pour chacun des programmes utilisés (tableau V.8).

Tableau V.8 : Valeurs du coefficient de corrélation

Programmes	Surflex-dock	GOLD
Coefficient de corrélation	0.76	0.64

Des inhibiteurs de la MetAP provenant de la littérature ont été examinés. Au total, 100 structures (MetAP-inhibiteurs) ont été testées par les deux programmes Surfex et GOLD (annexe 2).

Dans les deux cas, la valeur du coefficient de corrélation est supérieure à 0.5 ($|r| \geq 0.5$) [27]. Il y a donc corrélation significative entre les deux paramètres analysés, à savoir l'activité biologique représentée ici par $-\text{Log IC}_{50}$ et les résultats de docking donnés par les 2 programmes Surfex (Affinité) et GOLD (Fitness).

Surflex établit une bonne corrélation ($r = 0,76$) ce qui est en accord avec les résultats de *Chikhi A et Bensegueni A. (2010) [89]* et de *Kamel M. M. et al. (2010) [90]*. Cependant la corrélation obtenue par GOLD en conjonction avec la fonction de score GoldScore (Fitness) est légèrement inférieure, mais encore à un niveau acceptable ($r = 0,64$), Comme il est clairement démontré dans les figures V.18 et V.19. Ce résultat est comparable à celui rapporté par *Maouche A. T et al. (2008) [91]* qui utilise le logiciel GOLD en jonction avec une autre fonction de score (Chemscore).

On remarque des interactions intéressantes entre la MetAP et divers inhibiteurs avec des valeurs de l'affinité et de la fitness suffisamment élevées, notamment pour les quatre complexes 17, 19, 21 et 91 avec 5.40 M^{-1} (Affinité) - 64.83 (Fitness), 4.17 M^{-1} - 63.46, 4.87 M^{-1} - 60.69 et 4.17 M^{-1} - 64.31 respectivement.

Tableau V.9 : Résultats de l'analyse par régression linéaire sur les inhibiteurs de la MetAP

Dans le tableau V.9 ci-dessous nous présentons les valeurs suivantes : IC_{50} issues de la littérature, les valeurs calculées de $-\text{log IC}_{50}$, les valeurs de l'affinité données par Surfex et les valeurs de la fitness données par GOLD.

N	IC ₅₀ (µM)	- Log IC ₅₀	Affinité (M ⁻¹)	Fitness
1	10	-1	3.23	55,42
2	5.2	-0.71	4.26	57,52
3	4.6	-0.66	4.75	54,97
4	3.9	-0.59	2.49	57,25
5	3.4	-0.53	4.36	61,52
6	2.6	-0.41	4.26	55,68
7	2.4	-0.38	4.56	56,19
8	2.1	-0.32	4.34	54,64
9	1.7	-0.23	4.34	54,38
10	1.7	-0.23	4.38	55,51

11	1.2	-0.079	4.04	62,1
12	0.99	0.004	5.72	62,52
13	0.97	0.013	5.61	62,59
14	0.78	0.1	5.02	60,78
15	0.55	0.259	4.29	53,89
16	0.54	0.26	4.66	57,99
17	0.46	0.33	5.40	64,83
18	0.38	-0.42	3.81	55,67
19	0.16	0.79	4.17	63,46
20	1.75	-0.24	4.09	75,76
21	0.25	0.6	4.87	60,69
22	0.25	0.6	5.33	59,53
23	0.55	0.259	4.17	63,11
24	0.55	0.25	4.72	66,34
25	1.25	-0.096	4.00	60,21
26	1.50	-0.176	3.47	60,94
27	0.1	1	4.86	62,64
28	5	-0.69	3.63	50,62
29	1.69	-0.22	5.38	71,26
30	0.044	1.35	4.71	64,41
31	19	-1.27	2.10	53,13
32	16	-1.2	2.92	54,73
33	18.3	-1.26	2.24	47,86
34	41.7	-1.62	2.09	48,54
35	38.9	-1.58	2.97	39,18
36	17.9	-1.25	2.81	41,45
37	19.4	-1.28	3.40	42,22
38	45.5	-1.65	3.33	45,78
39	40.1	-1.6	3.04	42,6
40	29.2	-1.46	3.20	49,26
41	4.9	-0.69	2.66	47,02
42	19.9	-1.29	3.06	42,4
43	22.8	-1.357	3.03	41,12
44	22.4	-1.35	3.60	50,94
45	22.0	-1.34	3.05	44,51
46	18.8	-1.27	3.07	42,54
47	21.2	-1.32	3.08	49,68
48	7.2	-0.85	3.67	54,05
49	>100	-2	3.30	42,53
50	>100	-2	2.50	49,76
51	>100	-2	3.34	48,89
52	>100	-2	1.23	52,75
53	>100	-2	2.08	51,71
54	>50	-1.69	1.72	56,28
55	>50	-1.69	3.07	49,82
56	>50	-1.69	3.53	52,14

Tableau 9 : suite

57	21.3	-1.32	3.90	52,37
58	1.79	-0.25	3.68	57,53
59	3.74	-0.57	3.50	57,67
60	>30	-1.47	3.09	41,09
61	>50	-1.69	3.04	45,2
62	>50	-1.69	2.76	40,14
63	>30	-1.47	3.83	51,18
64	>50	-1.69	2.23	53,25
65	>50	-1.69	3.09	68,07
66	>50	-1.69	2.62	41,5
67	200	-2.3	3.45	52,65
68	4.61	-0.66	4.55	59,61
69	4.3	-0.63	4.09	54,89
70	2.4	-0.38	5.72	73,86
71	1.5	-0.17	4.88	50,09
72	1.3	-0.11	5.00	49,78
73	0.57	0.24	4.60	51,68
74	0.11	0.95	4.55	56,75
75	0.47	0.32	4.11	52,94
76	0.58	0.23	6.65	51,56
77	2.00	-0.3	5.47	77,43
78	0.21	0.67	4.30	48,77
79	4.4	-0.64	4.49	43,07
80	22.9	-1.359	2.97	72,57
81	16.0	-1.2	3.00	71,93
82	8.7	-0.93	3.30	63,34
83	>100	-2	2.14	57,46
84	>50	-1.69	2.91	60,59
85	9	-0.95	6.29	57,25
86	7.2	-0.85	4.35	51,24
87	0.24	0.619	3.92	57,51
88	2.8	-0.44	1.00	60,01
89	1.7	-0.23	7.03	71,05
90	0.137	0.86	3.14	62,87
91	0.154	0.81	4.17	64,31
92	35.9	-1.55	4.48	41,96
93	6.6	-0.81	1.76	43,89
94	22.5	-1.35	4.54	55,02
95	16.4	-1.21	4.65	52,32
96	138	-2.13	5.06	53,15
97	71.4	-1.85	4.43	53,71
98	57.5	-1.75	4.17	55,18
99	84.2	-1.92	4.57	53,9
100	57.3	-1.75	3.92	54,39

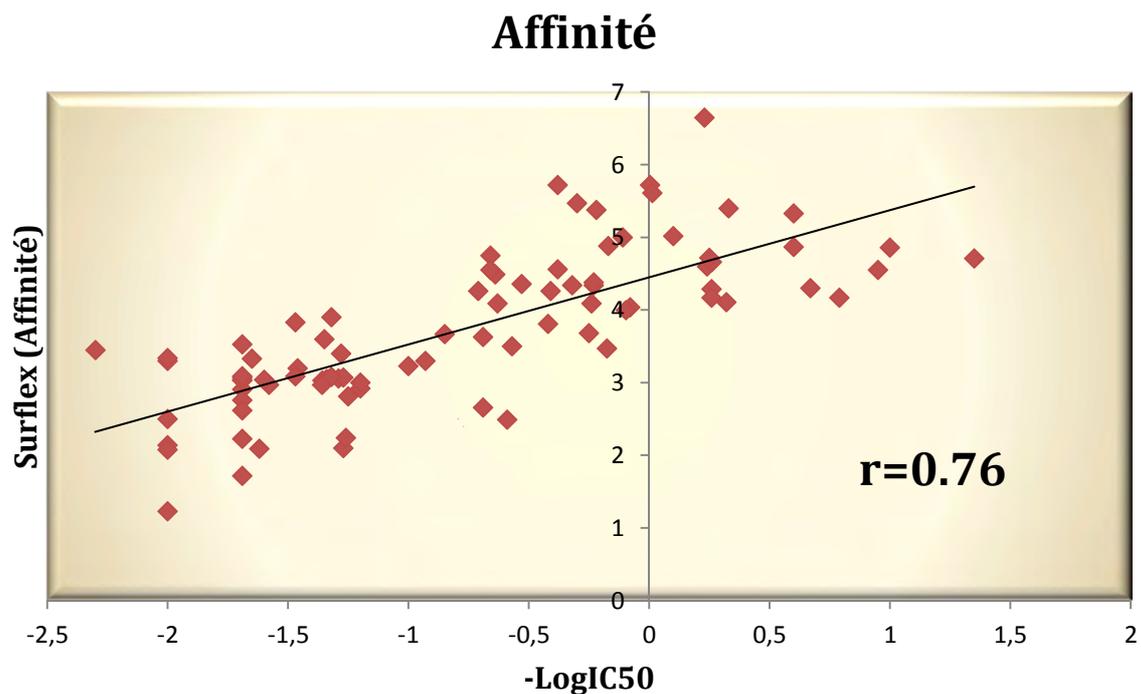


Figure V.18: corrélation entre l'activité biologique ($-\text{LogIC}_{50}$) des inhibiteurs de la MetAP et leurs Affinités données par Surflex

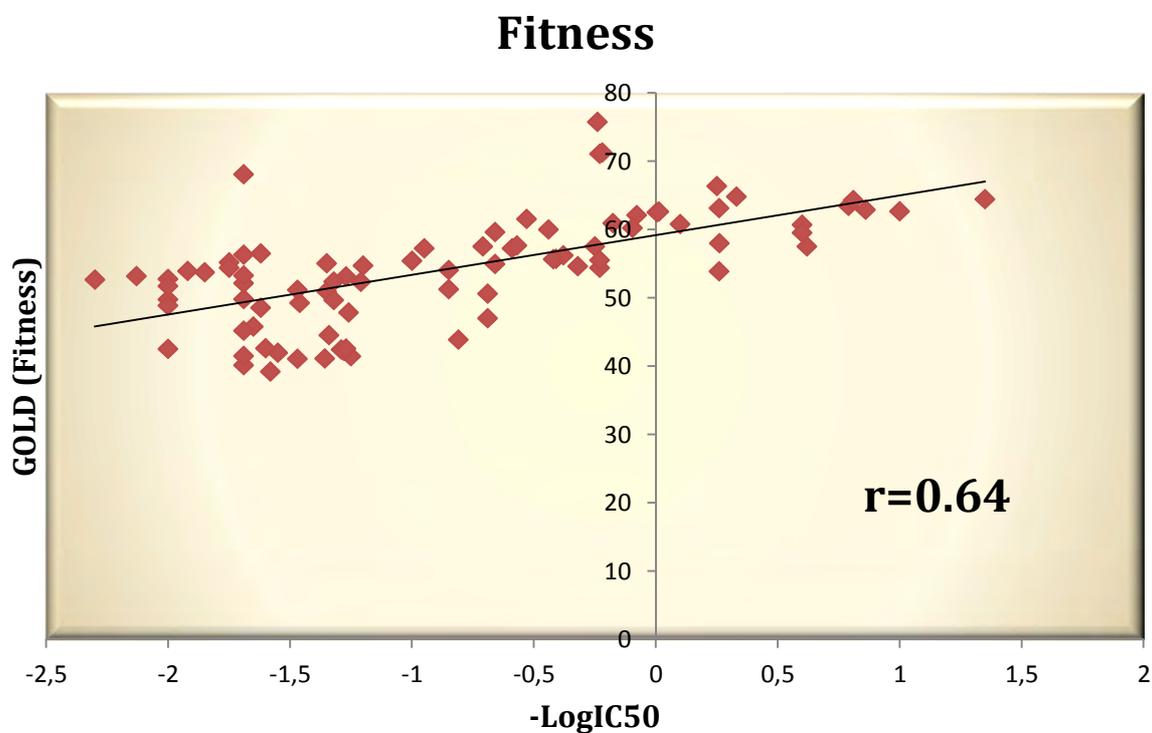


Figure V.19: corrélation entre l'activité biologique ($-\text{LogIC}_{50}$) des inhibiteurs de la MetAP et leurs Fitness données par GOLD

Conclusion

La détermination du coefficient de corrélation entre l'activité biologique et le score de docking semble être un bon moyen pour tester la performance des programmes utilisés dans notre travail. Cette étude théorique confirme clairement les résultats expérimentaux et montre que les deux logiciels Surflex et GOLD peuvent être utilisés sans trop risque d'erreurs, pour simuler la formation des complexes enzyme-inhibiteurs. Nos résultats prouvent que les programmes Surflex et GOLD réalisent un travail raisonnable dans l'arrimage et devrait soutenir largement le processus de découverte de médicaments.

2. Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de la 3IU7 par diverses molécules

2.1. Interaction MetAP-Met-Ala-Ser

Pour étudier le mode d'interaction de différents inhibiteurs avec le site actif de l'enzyme MetAP de *Mycobacterium tuberculosis* par le docking moléculaire ; nous avons utilisé la dernière version du programme GOLD, il permet de montrer les contacts de Van der Waals et les liaisons hydrogène, ces dernières sont les plus importantes parmi les liaisons faibles.

Les acides aminés du site actif

Une étape fondamentale dans la stratégie de docking moléculaire est l'identification des résidus d'acides aminés pouvant intervenir dans le processus de reconnaissance du ligand. D'après le logiciel GOLD, les acides aminés du site actif sont : Thr94, Tyr97, Lys98, Phe100, Cys105, Cys113, His114, Asp131, Thr133, Asp142, Asn144, Phe202, Thr203, Gly204, His205, Phe211, His212, Thr236, Glu238, Trp255, Gln267, Glu 269.

Notre démarche consiste d'abord d'étudier l'interaction avec la Met-Ala-Ser, substrat de la cible.

La figure V.20 suivante montre le site actif de la méthionine aminopeptidase complexée avec le substrat. Le ligand est en représentation « boules et bâtonnets » de différents couleurs, et les acides aminés du site actif de l'enzyme sont représentés en « wireframe ».

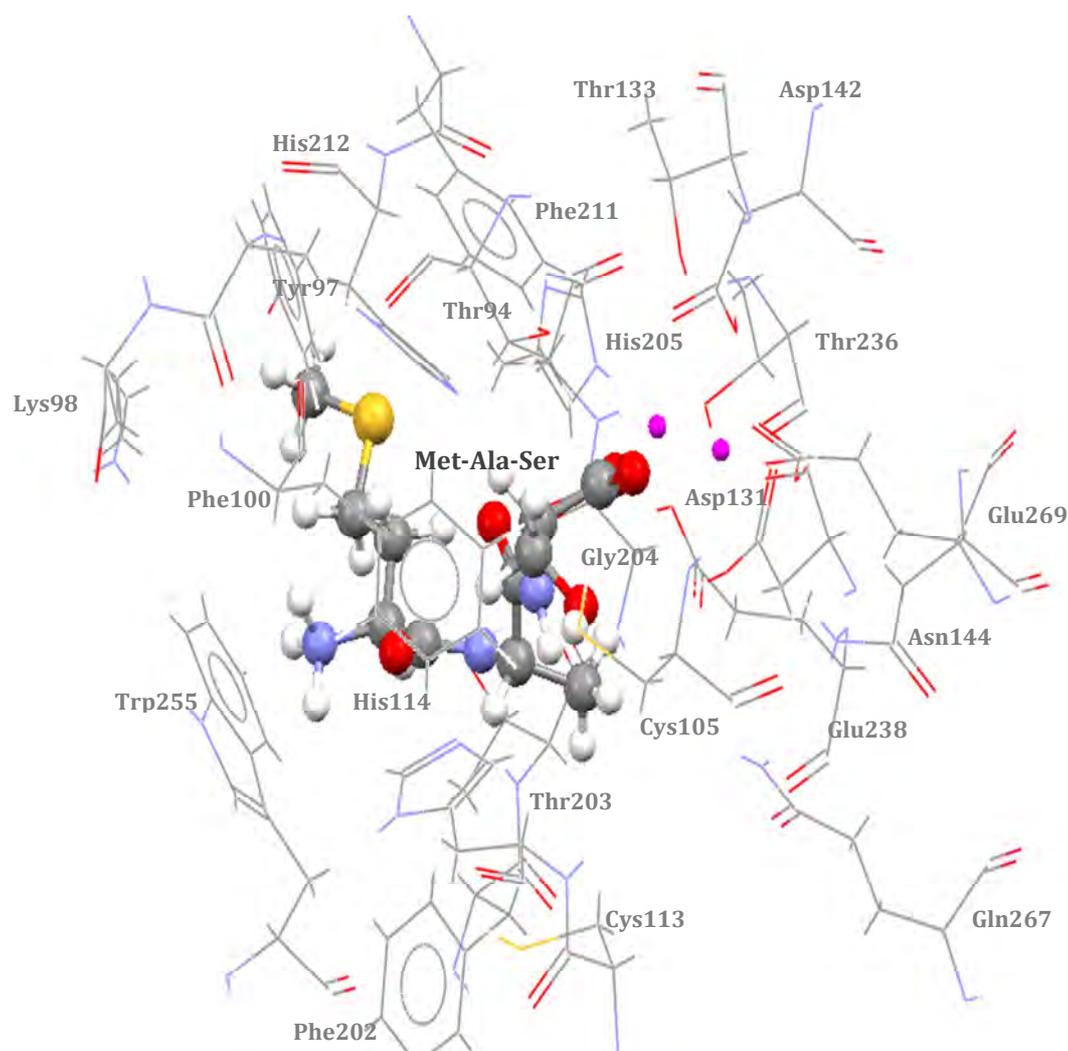


Figure V.20 : Docking de substrat (Met-Ala-Ser) dans le site actif de la 3IU7

Le substrat Met-Ala-Ser est bien centré dans le site actif de l'enzyme. Sa chaîne latérale est entourée par les résidus Thr94, Tyr97, Phe100, His114, Phe211, Trp255 (la poche hydrophobe).

L'hydroxyle établit, par l'intermédiaire de son atome d'oxygène, un pont hydrogène avec l'un des atomes d'azote du cycle du résidu His205 ($\text{H-O} \cdots \text{H}_{\text{E}2}\text{-N}_{\text{E}2}\text{-His205}$; $d = 3.035 \text{ \AA}$) et un pont hydrogène avec l'hydroxyle de Glu238 ($\text{H-O} \cdots \text{H}_{\text{E}2}\text{-O}_{\text{E}2}\text{-Glu238}$; $d = 2.958 \text{ \AA}$). Un troisième pont hydrogène est formé avec le carbonyle de Asp142 ($\text{O-H} \cdots \text{O}_{\text{D}1}=\text{C}_{\text{G}}\text{-Asp142}$; $d = 3.011 \text{ \AA}$). Le carbonyle O_{XT} du substrat forme un quatrième pont hydrogène avec l'hydroxyle du résidu Asp131 ($\text{C}=\text{O} \cdots \text{H}_{\text{D}2}\text{-O}_{\text{D}2}\text{-Asp131}$; $d = 2.864 \text{ \AA}$). Enfin, le groupement amine de cette molécule forme un pont hydrogène avec le résidu Thr203 ($\text{N-H} \cdots \text{O}=\text{C}\text{-Thr203}$; $d = 2.696 \text{ \AA}$) schématisé sur la figure V.21.

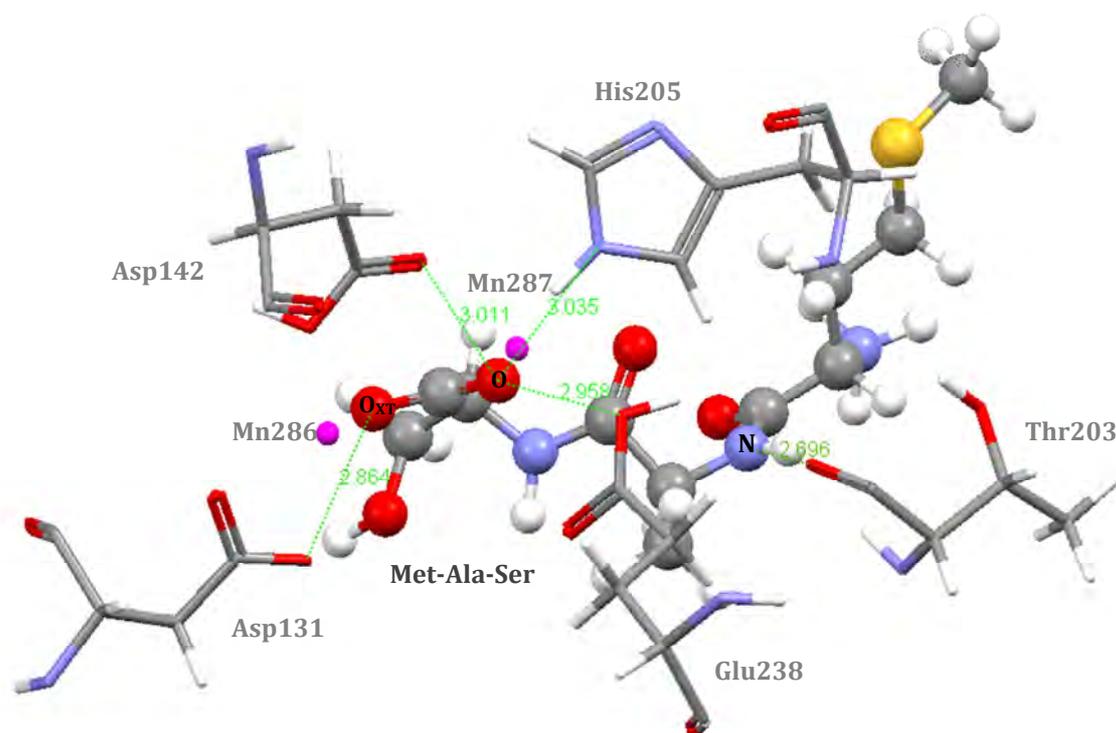


Figure V.21 : Représentation des liaisons hydrogène formées par le substrat

NB : nous avons négligé quelques acides aminés de quelques figures pour la clarté des images.

Le substrat établit plusieurs interactions Van der Waals avec les résidus Thr203, His205, Glu238 et les ions métalliques. Dans le tableau V.10 ci-dessous nous avons résumé les différentes interactions :

Tableau V.10 : Les interactions de Van der Waals

N	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance Å
1	Thr203	C _B	H	1.693
1	His205	H _{B1}	S _D	2.375
1	His205	H _{E2}	O	2.201
1	Glu238	C _D	H	2.369
1	Mn286	-	C	2.892
1	Mn286	-	O _{XT}	1.976
1	Mn286	-	C	2.717
1	Mn286	-	O	1.587

La figure V.22 suivante visualise ces interactions :

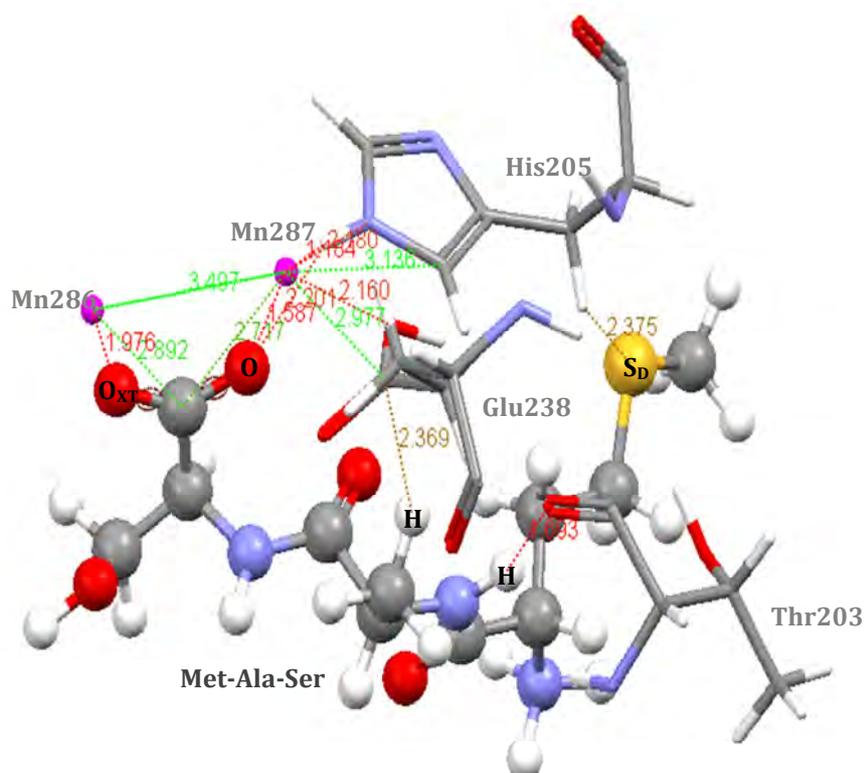


Figure V.22 : Représentation des interactions Van der Waals formées par le substrat

2.2.Docking des inhibiteurs de la MetAP

Le docking de 35 molécules tirées de la littérature est effectué sur la structure de la protéine co-cristallisée avec le FCD (structure cristallographique 3IU7). Nous avons jugé intéressant de tester ces inhibiteurs, de comparer leurs scores (Affinité, Fitness) par rapport au ligand initial et de proposer le meilleur inhibiteur de l'enzyme MetAP. Les résultats de docking sont présentés dans le tableau V.11.

Tableau V.11 : Résultats de docking avec les programmes Surflex et GOLD

Le premier résultat (Affinité, Fitness) est celui du ligand de référence et les autres correspondent aux différents inhibiteurs provenant de la littérature. Nous avons choisi cet inhibiteur comme référence parce qu'il est le premier ligand proposé comme inhibiteur de la MetAP de *Mycobacterium tuberculosis*.

N	Composés	IC50 (µM)	Affinité (M⁻¹)	Fitness
1	1 (FCD)	16	2.78	56.72
2	2	14	3.26	50.45
3	3	14	3.09	54.85
4	4	37	2.39	56.66
5	5	18	-1.50	55.78
6	6	26	6.28	59.50
7	7 (TO3)	0.58	2.08	56.15
8	8 (TO7)	0.24	3.10	57.35
9	2	8.7	3.30	57.53
10	3	7.2	3.67	54.05
11	4	6.6	1.76	43,89
12	5	>100	3.30	42.53
13	6	>100	2.50	49.76
14	7	>100	3.34	48.89
15	8	>100	2.14	57,46
16	9	>100	1.23	52.75
17	10	>100	2.08	51.71
18	12	>50	1.72	56.28
19	13	>50	2.91	60.59
20	14	>50	3.07	49.82
21	15	>50	3.53	52.14
22	16	>50	3.03	58.98
23	17	21.3	3.90	52,37
24	18	22.5	4.54	55.02
25	19	16.4	4.65	52,32
26	20	0.71	1.55	46,68
27	21	1.79	3.68	57.06
28	22	3.74	3.50	57.67
29	23	>30	3.09	41.09
30	24	>50	3.04	45.20
31	25	>50	2.76	40.14
32	26	>30	3.83	51.18
33	27	>50	2.23	53.25
34	28	>50	3.09	68.07
35	29	>50	2.62	41.50

Parmi les complexes qui figurent dans le tableau V.11, nous avons retenu les meilleurs résultats uniquement. C'est-à-dire ceux qui présentent une activité inhibitrice non négligeable sur la MetAP (IC50 inférieure à celle du ligand initial), avec un meilleur score de docking (Affinité et Fitness supérieures à celles du ligand de référence).

Tableau V.12 : Résultats obtenus par Surflex

N	composés	log-0	crash	polar
8	TO7	3.10	1.59	2.34
9	2	3.30	1.26	0.85
27	21	3.68	3.76	0.00
28	22	3.50	0.46	0.00

- Log-0 est la meilleure solution parmi les dix qui sont données, par défaut, par le logiciel. log-0 représente l'affinité.
- La deuxième valeur ou crash, correspond au degré de pénétration inappropriée du ligand dans la protéine.
- La dernière valeur, désignée par polar, correspond au niveau de contribution des interactions polaires.

Tableau V.13 : Résultats obtenus par GOLD

N	composés	Fitness	S (hb_ext)	S (vdw_ext)	S (hb_int)	S (int)
8	TO7	57.35	21.41	30.04	0.00	-5.36
9	2	57.53	13.70	32.01	0.00	-0.18
27	21	57.07	11.30	34.61	0.00	-1.82
28	22	57.67	12.68	34.67	0.00	-2.69

2.3.Règle de *Lipinski*

Avant d'entamer l'étude des interactions entre l'enzyme MetAP et les 4 composés, il est nécessaire d'évaluer les paramètres permettant leur validation comme antibiotiques (tableau V.14). Ces indices ont été calculés dans le cadre du code « Molinspiration » [92]. Elle permet de dessiner des molécules et de calculer les propriétés moléculaires importantes (logP, la surface polaire, le nombre de donneurs et accepteurs de liaison hydrogène...etc) directement sur une page internet.

Tableau V.14 : Critères de la règle de *Lipinski* pour les différents inhibiteurs

N	Composés	PM	nOH,NH	nO,N	ClogP	nrotb
8	TO7	275.164	3	4	2.992	3
9	2	475.498	0	5	5.331	1
27	21	378.33	0	4	5.359	4
28	22	302.688	0	3	4.119	2

PM : poids moléculaire ;

nOH,NH : nombre de donneurs de liaisons H ;

nO,N : nombre d'accepteurs de liaisons H ;

clogP : logP ou coefficient de partition calculé ;

nrotb : liaisons rotatives.

Nous constatons que presque tous les inhibiteurs étudiés répondent à la règle de 5 de *Lipinski*, avec l'absence de donneurs de liaisons H pour les molécules 2, 21 et 22. Les composés 2 et 21 présentent un coefficient de partage supérieur à 5.

Cependant, d'autres critères sont pris en compte dans la sélection de molécules potentiellement candidates (tableau V.15).

Tableau V.15 : Autres critères

N	Composés	Nombre d'halogènes	Chaînes alkyles	Nombre de cycles	Nombre d'atome d'oxygène	Nombre d'atome d'azote
8	TO7	2	0	2	0	4
9	2	5	0	4	4	0
27	21	2	0	4	4	0
28	22	2	0	3	3	0

Les résultats du tableau V.15 montrent que les 4 molécules étudiées s'inscrivent parfaitement dans la marge de ces critères.

Les résultats énergétiques et structuraux concernant le docking des structures étudiées (TO7, 2, 21 et 22) dans le site actif de la MetAP ont permis d'obtenir les informations souhaitées concernant le mode d'interaction spécifique de ces inhibiteurs.

Les résultats sont illustrés sur les figures ci-dessous :

2.4. Interaction des 4 ligands choisis

Tous les inhibiteurs de la MetAP de *Mycobacterium tuberculosis*, publiés à ce jour, possèdent une fonction à une des extrémités de leur molécule qui peut se lier aux ions métalliques de l'enzyme pour former un chélate.

2.4.1. Interaction : 3IU7-TO7

Parmi les inhibiteurs étudiés, la molécule TO7 présente un score élevé avec l'enzyme MetAP (Affinité=3.10 M⁻¹, Fitness=57.35). Il y a une corrélation hautement significative entre son énergie d'interaction et son effet inhibiteur indiqué par un IC50=0.24μM.

L'analyse visuelle montre que l'inhibiteur TO7 est stabilisé par la formation de deux ponts hydrogène (représentés en vert) avec les résidus His212 et Asp131. La figure V.23 montre que l'azote N₄ du ligand établit un pont hydrogène avec l'hydroxyle du résidu Asp131, par l'intermédiaire de son atome d'oxygène (N₄ H_{D2}-O_{D2}-Asp131; d = 2.925 Å). Le groupement NH₂ du ligand établit une liaison hydrogène avec l'un des atomes d'azote du cycle du résidu His212 (N₃-H.....N_{E2}-His212 ; d = 2.946 Å).

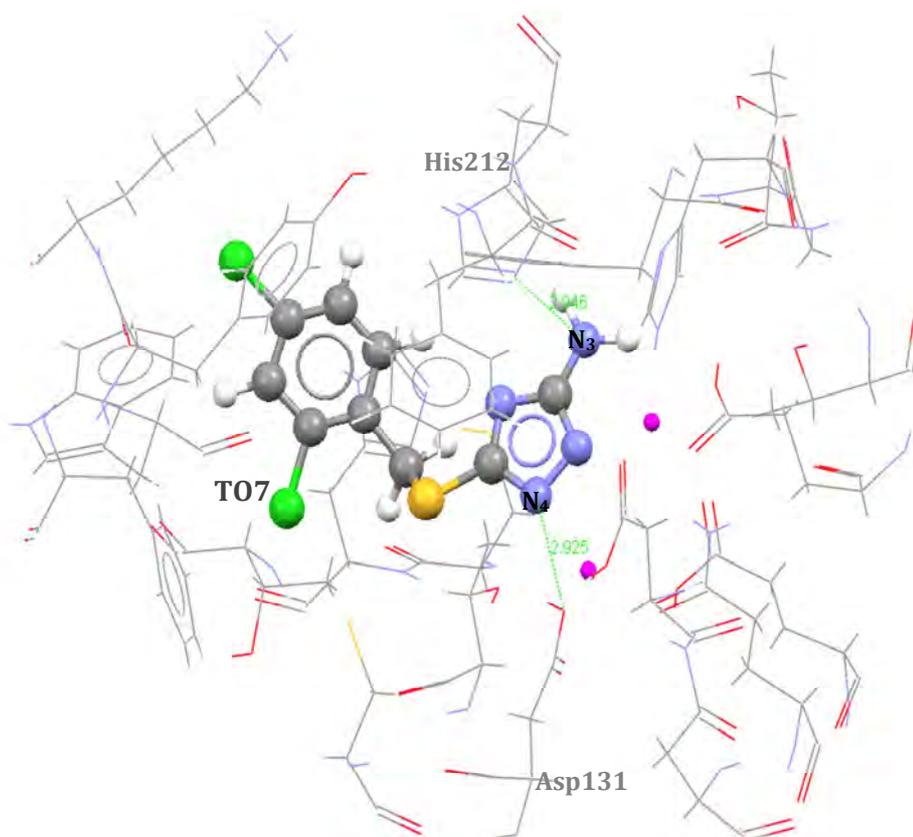


Figure V.23 : Représentation des liaisons hydrogène formées par le composé TO7

Les liaisons hydrogène ne sont pas seules responsables dans l'interaction de la MetAP avec le ligand. Le rôle des interactions de Van der Waals est aussi important dans l'explication du mode d'interaction de la MetAP, comme traduit sur le tableau V.16 et la figure V.24.

Tableau V.16 : Les interactions de Van der Waals

N	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance Å
1	Lys98	H _{D2}	CL ₂	2.299
1	Mn286	-	N ₂	2.679
1	Mn286	-	N ₄	2.113
1	Mn287	-	N ₂	2.189
1	Mn287	-	C ₈	2.873
1	Mn287	-	N ₃	2.970
1	Mn287	-	H	2.420

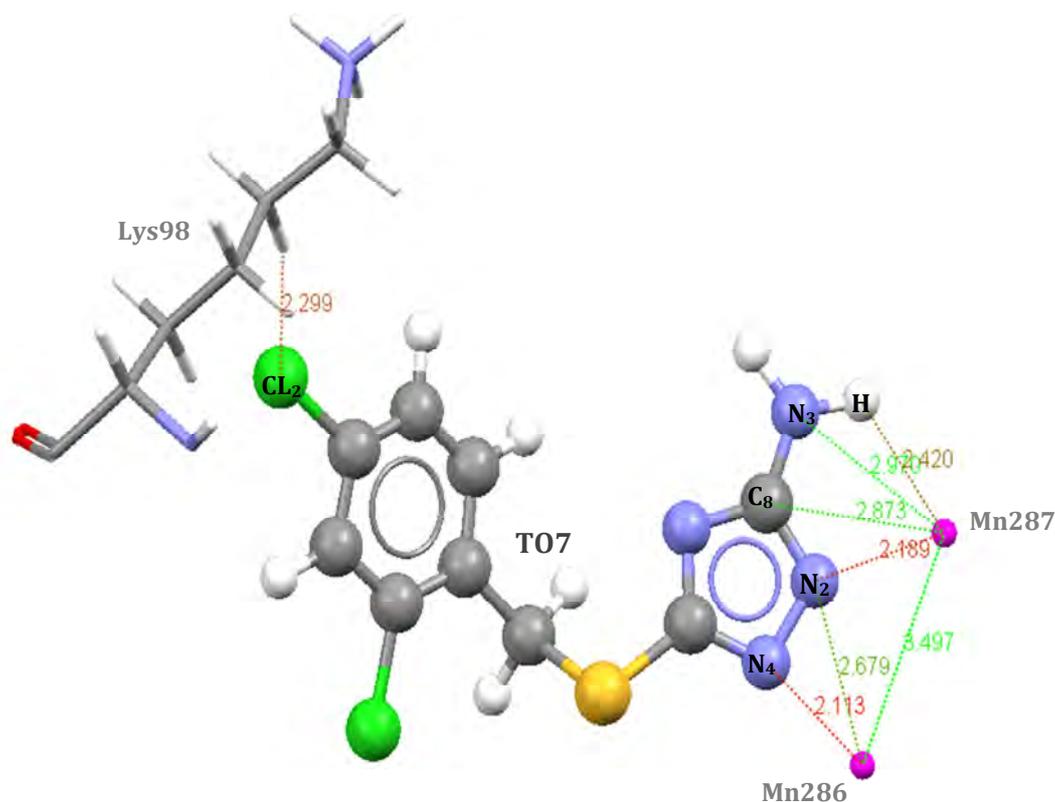


Figure V.24 : Représentation des interactions Van der Waals formées par le composé TO7

2.4.2. Interaction : 3IU7-inhibiteur 2

Concernant le complexe MetAP- inhibiteur 2, le ligand a formé une liaison hydrogène et plusieurs interactions Van der Waals.

La seule liaison hydrogène formée est d'une distance de 2,863 Å entre C=O du ligand et l'un des atomes d'azote du cycle du résidu His205 (figure V.25).

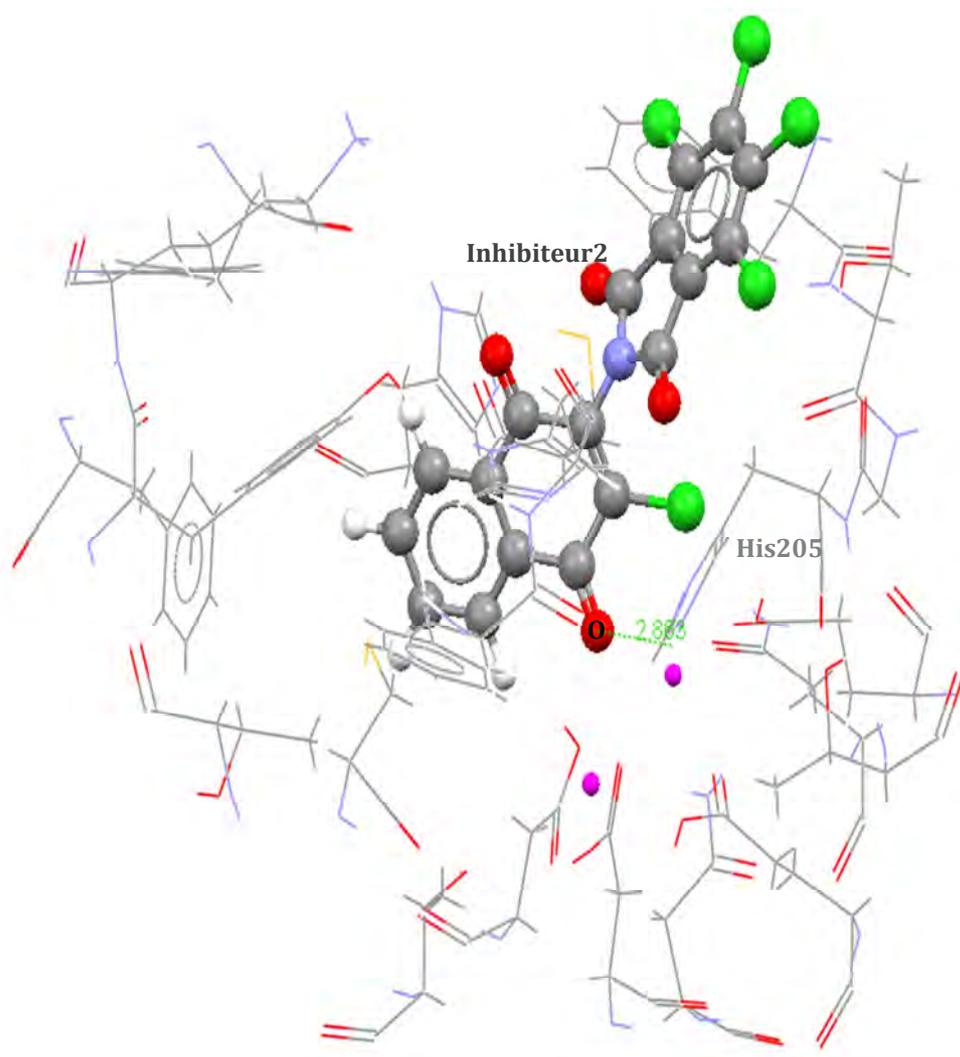


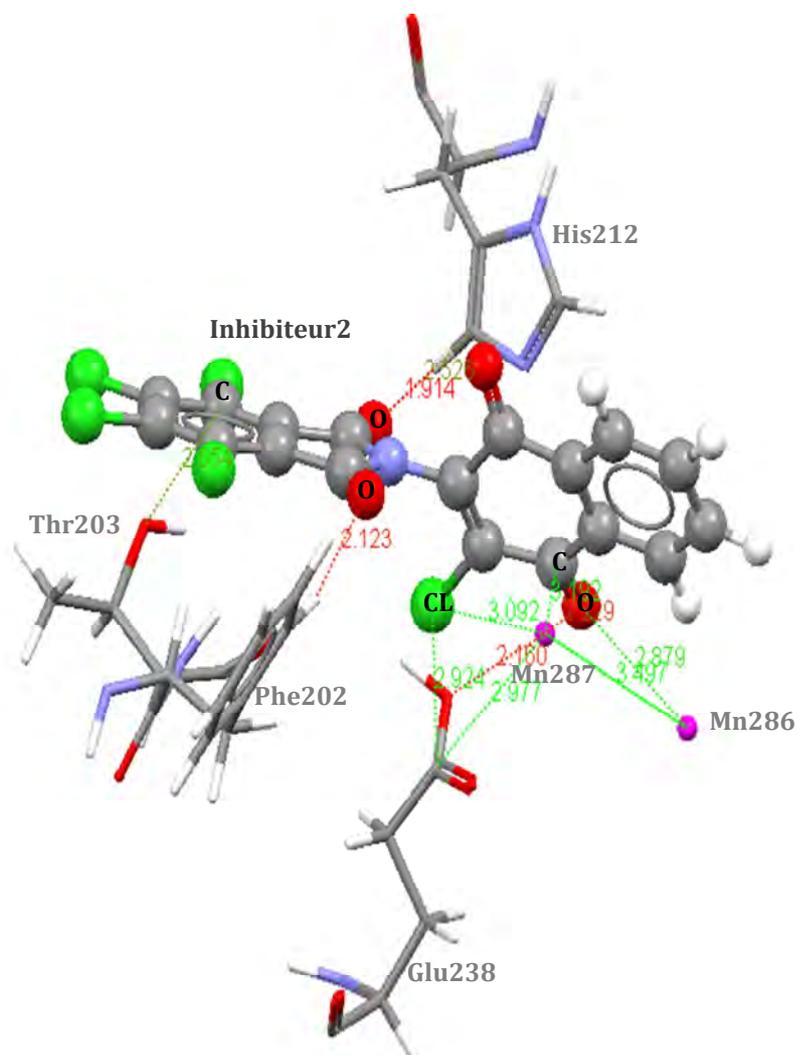
Figure V.25 : Représentation de la liaison hydrogène formée par l'inhibiteur2

Dans le tableau suivant nous avons résumé les paires d'atomes interagissant dans les différentes interactions Van der Waals:

Tableau V.17 : Représentation des interactions Van der Waals

N	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance Å
1	Glu238	C _D	CL	2.924
1	His212	C _{D2}	O	2.526
1	His212	H _{D2}	O	1.914
1	Thr203	O _{G1}	C	2.654
1	Phe202	H _{D2}	O	2.123
1	Mn286	-	O	2.879
1	Mn287	-	O	2.229
1	Mn287	-	C	3.192
1	Mn287	-	CL	3.092

La figure V.26 suivante visualise ces interactions :

**Figure V.26**: Représentation des interactions Van der Waals formées par l'inhibiteur2

2.4.3. Interaction : 3IU7-inhibiteur 21

La figure V.27 montre que l'inhibiteur 21 pénètre bien dans le site actif de l'enzyme, en formant une seule liaison hydrogène avec le résidu His205 ($C_7=O_2 \dots H_{E2}-N_{E2}-His205$; $d = 2.335\text{\AA}$).

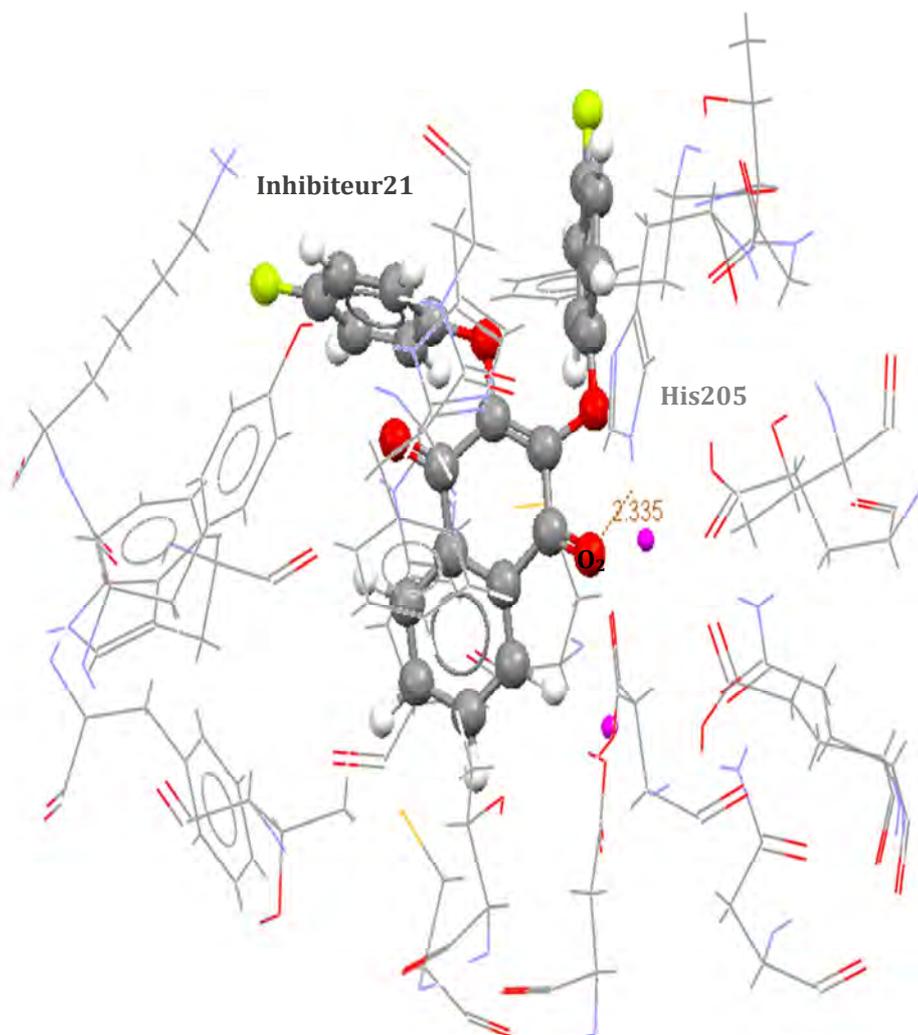
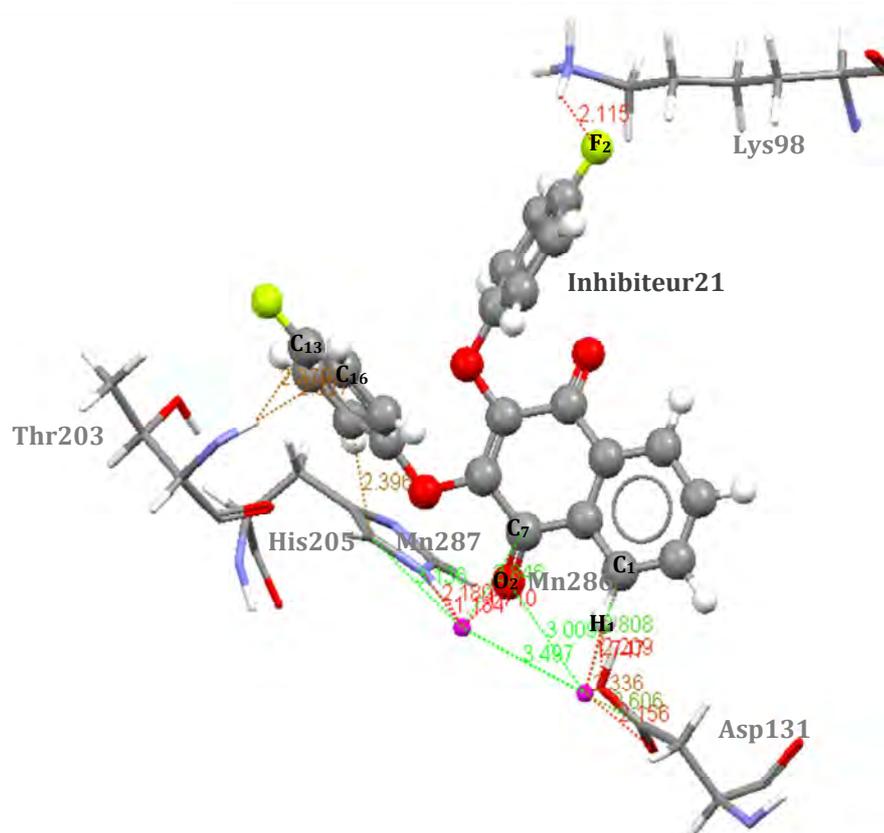


Figure V.27 : Représentation de liaison hydrogène formée par l'inhibiteur21

Les interactions de type Van der Waals observées lors de l'interaction de la molécule 21 avec le site actif de l'enzyme, représentées dans le tableau V.18 et la figure V.28 ci-dessous:

Tableau V.18 : Les interactions de Van der Waals

N	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance Å
1	Lys98	H _{Z3}	F ₂	2.115
1	Asp131	O _{D2}	H ₁	2.209
1	Thr203	H	C ₁₃	2.379
1	Thr203	H	C ₁₆	2.327
1	His205	C _{D2}	H ₅	2.396
1	Mn286	-	H ₁	1.747
1	Mn286	-	C ₁	2.808
1	Mn286	-	O ₂	3.009
1	Mn287	-	O ₂	1.710
1	Mn287	-	C ₇	2.846

**Figure V.28** : Représentation des interactions Van der Waals formées par l'inhibiteur21

2.4.4. Interaction : 3IU7-inhibiteur 22

L'inhibiteur 22 établit un seul pont hydrogène avec l'acide aminé Cys105 (figure V.29). Ce ligand est engagé par l'un de ces atomes d'oxygène dans une liaison avec le groupement SH du résidu Cys105 (O...H_G-S_G-Cys105; d = 3.108 Å).

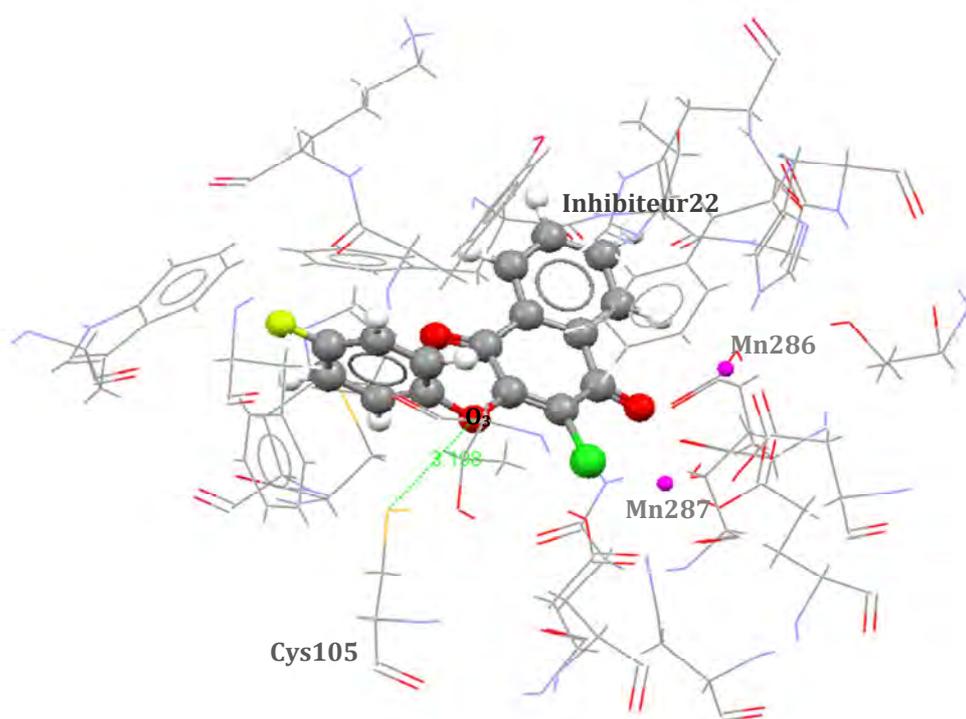


Figure V.29 : Représentation de liaison hydrogène formée par le composé 22

Les interactions Van der Waals sont résumées dans le tableau V.19 et la figure V.30 ci-dessous :

Tableau V.19 : Les interactions de Van der Waals

N	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance Å
1	Tyr97	H _{D2}	H ₈	1.877
1	Phe100	H _{B2}	F ₁	1.923
1	Phe100	H _{D1}	F ₁	1.933
1	Phe100	C _{D1}	F ₁	2.552
1	Phe100	C _{D1}	C ₁₃	2.789
1	Cys105	S _G	C ₁₁	2.943
1	Cys105	S _G	H ₅	2.496
1	His114	N _{E2}	O ₂	2.465
1	His212	N _{E2}	C ₅	2.709
1	His212	N _{E2}	C ₆	2.735
1	Trp255	C _{H2}	F ₁	2.354
1	Trp255	C _{Z3}	F ₁	2.172
1	Mn286	-	O ₁	2.089
1	Mn286	-	C ₁₀	2.989
1	Mn286	-	CL ₁	2.660
1	Mn287	-	H ₄	2.063
1	Mn287	-	C ₆	3.080
1	Mn287	-	O ₁	2.408

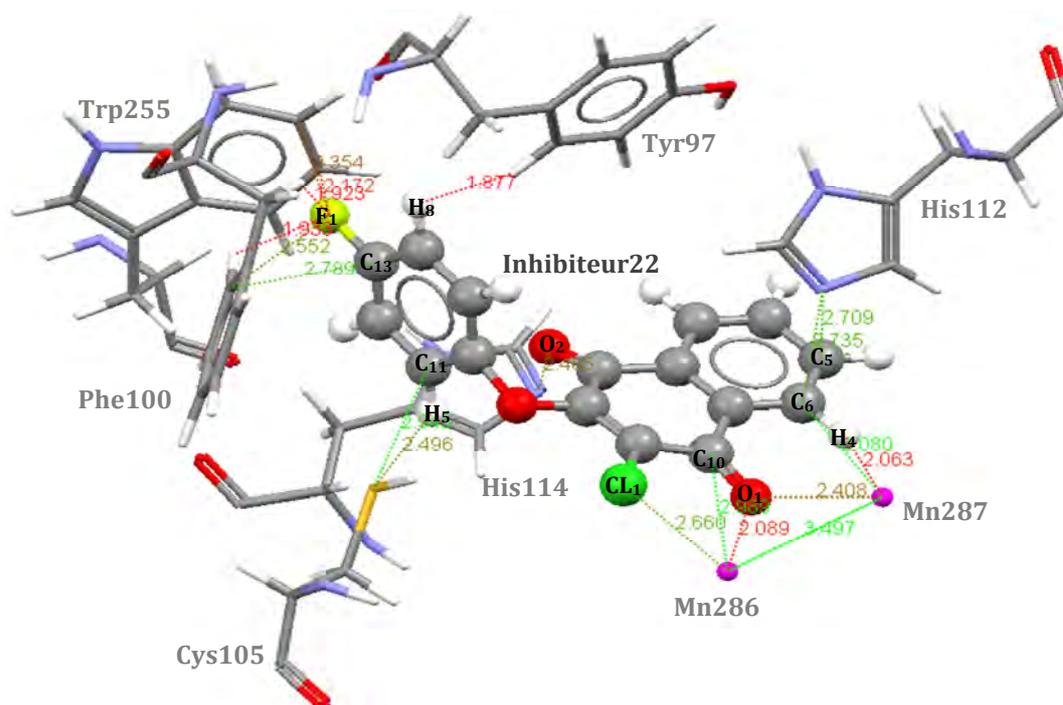


Figure V.30: Représentation des interactions Van der Waals formées par l'inhibiteur22

Parmi les 4 composés étudiés, le composé TO7 forme le complexe protéine-ligand le plus stable ; il présente donc le meilleur effet inhibiteur. En plus, ce composé possède toutes les conditions requises pour être un excellent candidat comme médicament, en particulier un faible poids moléculaire et un logP égal à 2.992.

2.5. Inhibition de la MetAP de *Mycobacterium tuberculosis* par les dérivés du Bengamide

2.5.1. Docking des dérivés du Bengamide

Le docking de 4 molécules tirées de la PDB est effectué sur la structure cristallographique 3IU7. Les valeurs de l'affinité et de fitness sont présentées dans les tableaux suivants :

Tableau V.20 : Résultats obtenus par Surflex

N	Composés	Code	log-0	crash	polar
1	Y02	3PKA	5.73	-4.97	4.42
2	Y16	3PKB	4.22	-2.85	3.56
3	Y08	3PKC	4.86	-4.95	5.01
4	Y10	3PKD	2.77	-6.58	4.85

Tableau V.21 : Résultats obtenus par GOLD

N	Composés	Fitness	S (hb_ext)	S (vdw_ext)	S (hb_int)	S (int)
1	Y02	77.11	12.05	47.90	0.00	-0.80
2	Y16	61.23	15.94	36.09	0.00	-4.34
3	Y08	75.90	11.30	47.24	0.00	-0.35
4	Y10	63.02	12.30	47.21	0.00	-14.19

Le meilleur résultat, pour les 2 programmes, est obtenu par les composés 1(Y02) et 3 (Y08) qui présentent les plus fortes affinités (5.73 M^{-1} , 4.86 M^{-1}) et fitness (77.11, 75.90) respectivement.

Tableau V.22 : Critères de la règle de *Lipinski* pour les différents inhibiteurs

N	Composés	PM	nOH,NH	nO,N	ClogP	nrotb
1	Y02	423.55	4	6	2.997	11
2	Y16	318.37	5	6	-1.155	9
3	Y08	426.554	4	6	1.107	10
4	Y10	375.509	4	5	3.329	8

Les résultats du tableau V.22 montrent que les 4 molécules utilisées dans cette étude répondent à la règle de *Lipinski*. En plus, les composés Y02 et Y08 représentent les meilleurs inhibiteurs avec un coefficient de partage égal à 2.997 pour le premier et 1.107 pour le second.

2.5.2. Etude des interactions avec la 3IU7

Nous avons choisi, parmi les composés qui figurent dans le tableau V.20 et V.21 ceux qui présentent une activité inhibitrice non négligeable sur la MetAP de *Mycobacterium tuberculosis*. Ces composés sont : Y02 et Y08.

2.5.2.1. Interaction : 3IU7-Y02

Le composé Y02 présente les meilleurs scores avec l'enzyme MetAP (Affinité = 5.73 M^{-1} , Fitness = 77.11). Trois liaisons hydrogène sont observées dans le cas de la molécule Y02 (figure V.31), il s'agit des liaisons de type :

N-H.....C=O-Thr203 où $d = 2,149 \text{ \AA}$;

O₂-H.....C_D=O_{E1}-Glu238 où $d = 2,627 \text{ \AA}$;

H-O₁.....H_{D2}-O_{D2}-Asp131 où d = 2,696Å.

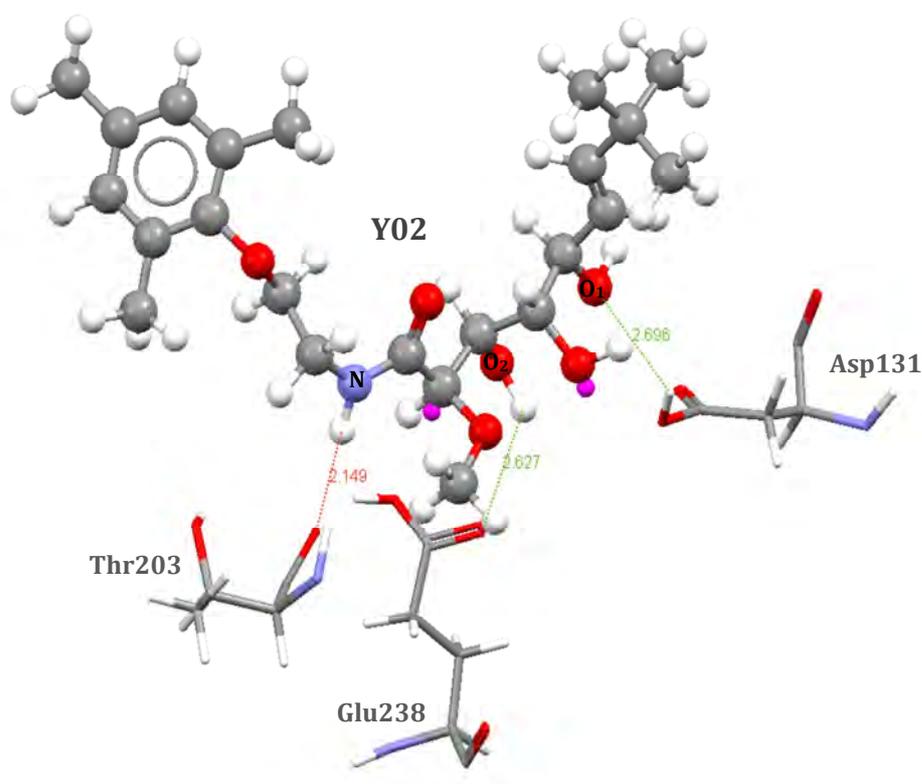


Figure V.31 : Représentation des liaisons hydrogène formées par le composé Y02

Des interactions Van der Waals ont été observées lors de l'interaction de la molécule Y02 avec le site actif de l'enzyme MetAP (tableau V.23 et figure V.32).

Tableau V.23 : Représentation des interactions Van der Waals

N	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance Å
1	Tyr97	H _{D2}	H	1.867
1	Phe100	C _G	H	2.337
1	Cys105	S _G	H	2.447
1	His114	C _{D2}	H	2.162
1	His212	N _{E2}	H	1.994
1	His212	C _{D2}	H	2.207
1	Mn286	-	O ₁	2.824
1	Mn286	-	H	2.524
1	Mn286	-	O ₂	2.775
1	Mn287	-	H	2.442
1	Mn287	-	O ₂	2.105
1	Mn287	-	C ₀₆	3.102
1	Mn287	-	H	2.602

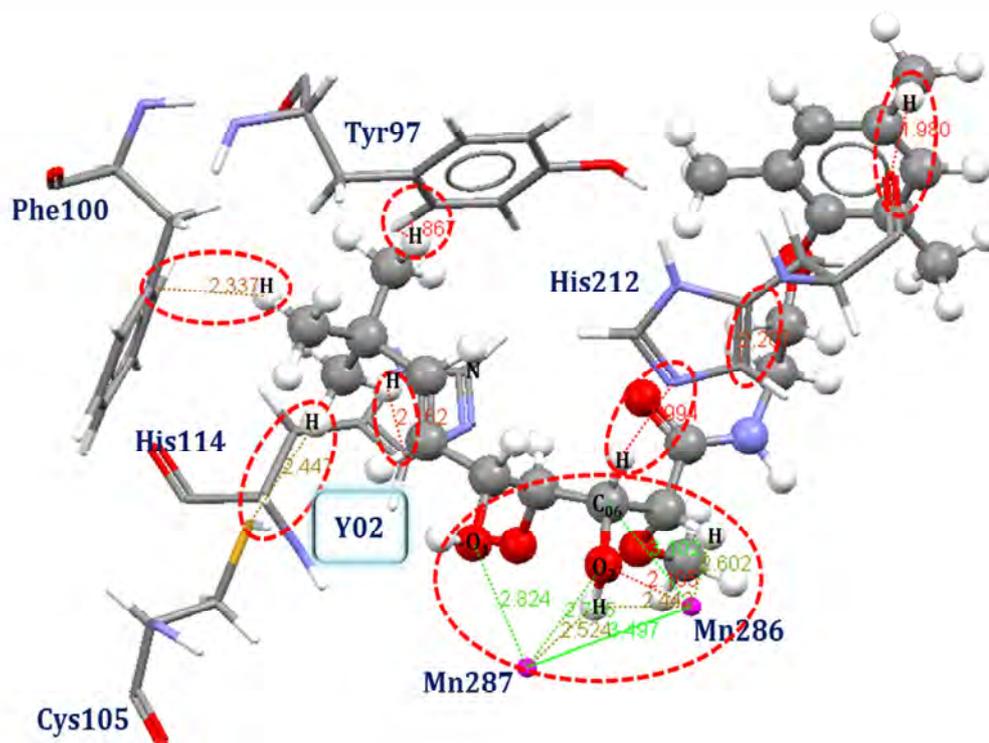


Figure V.32: Représentation des interactions Van der Waals

2.5.2.2. Interaction : 3IU7-Y08

L'analyse visuelle montre que l'inhibiteur Y08 établit trois ponts hydrogène avec les résidus : Asp131, His212 et Glu238 (figure V.33).

La fonction carboxylique est engagée dans une liaison hydrogène avec le résidu Glu238 ($C_{11}=O_4 \dots H_{E2}-O_{E2}-Glu238$; $d=2.897 \text{ \AA}$). L'hydroxyle en position 2 établit, par l'intermédiaire de son atome d'oxygène, un pont hydrogène avec l'un des atomes d'azote du cycle du résidu His212 ($O_2-H \dots N_{E2}-His212$; $d = 2.625 \text{ \AA}$). Un autre pont hydrogène d'une distance de 2.751 \AA est formé entre l'hydroxyle en position 3 et le résidu Asp131 ($O_3-H \dots O_{D2}-H_{D2}-Asp131$).

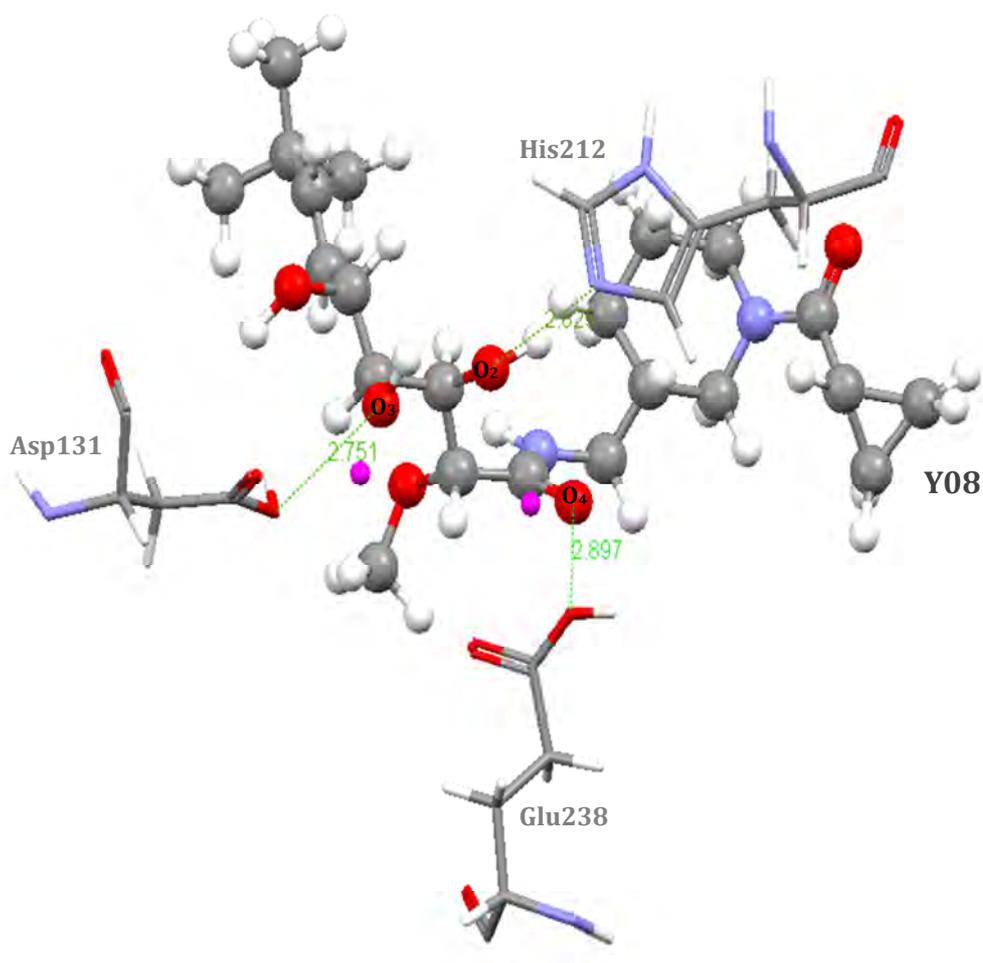


Figure V.33 : Représentation des liaisons hydrogène

Les interactions Van der Waals sont résumées dans le tableau V.24 et la figure V.34 ci-dessous :

Tableau V.24 : Les interactions de Van der Waals

N	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance Å
1	Tyr97	H _{D2}	H	1.837
1	Cys105	S _G	H	2.497
1	His114	C _{E2}	H	2.342
1	His114	N _{E2}	H	2.224
1	Phe211	H _Z	H	1.824
1	His212	C _{D2}	H	2.297
1	His212	N _{E2}	H	1.547
1	Mn286	-	O ₃	1.867
1	Mn286	-	H	2.262
1	Mn287	-	O ₂	2.910

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le but principal de ce travail a été de tester les performances de certains programmes d'arrimage moléculaire qui permettent de simuler les interactions entre protéines et ligands. Pour étudier ces interactions, nous avons choisi deux programmes de docking moléculaire: Surflex, qui utilise une méthode incrémentielle et GOLD, qui utilise un algorithme génétique. Ces programmes ont été développés pour aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique. Il s'agit de calculs entre des composés de petit poids moléculaire (inhibiteurs) et des récepteurs protéiques de types enzymatiques.

Dans ce contexte, nous avons utilisé ces programmes pour étudier les interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase par divers inhibiteurs. Cette dernière est une cible thérapeutique potentielle lors de l'infection par *Mycobacterium tuberculosis*.

Dans la première partie de notre travail nous avons testé les deux programmes Surflex et GOLD selon deux critères : le RMSD entre le mode d'interaction prédit et la structure cristalline et le coefficient de corrélation entre l'activité biologique (IC₅₀) des molécules étudiées (provenant de la littérature) et le score de docking moléculaire (Affinité pour Surflex et Fitness pour GOLD). Les deux programmes, Surflex et GOLD, peuvent être considérés suffisamment performants puisqu'ils reproduisent assez bien les résultats expérimentaux avec plus de 66 % des valeurs de RMSD inférieures à 2 Å pour le premier et 79.16 % pour le second. De plus, une corrélation positive entre les deux paramètres analysés avec $r = 0.76$ et $r = 0.64$ respectivement.

Dans la deuxième partie de ce travail nous avons essayé de contribuer d'une part, à la compréhension des mécanismes fondamentaux de la liaison entre une cible protéique et son ligand et, d'autre part, à la recherche d'agents thérapeutiques potentiels par docking moléculaire.

Pour cela, nous avons étudié l'inhibition de la MetAP par diverses molécules provenant de la littérature et aussi visualisé les liaisons qu'elles impliquent avec le site actif de cette enzyme. Les résultats sont, en général, similaires pour les deux programmes surflex et GOLD. La première étude a montré que le composé TO7 (Affinité=3.10 M⁻¹, Fitness=57.35) possède le meilleur effet inhibiteur de l'enzyme MetAP. La seconde étude a permis d'identifier les

dérivés du Bengamide comme de nouveaux inhibiteurs de faible poids moléculaire de la 3IU7, notamment le composé Y02 (Affinité= $5.73M^{-1}$, Fitness=77.11).

Enfin, il est important de noter que les différents inhibiteurs de la méthionine aminopeptidase testés par cette étude sont, en général, conformes aux critères imposés par la règle de *Lipinski*.

Pour conclure, au vu des résultats obtenus dans ce travail, qui consiste en l'élucidation de l'inhibition de la MetAP par les méthodes de modélisation moléculaire dans le but de découvrir de nouveaux antituberculeux, nous proposons les composés TO7 et Y02 comme nouveaux inhibiteurs potentiels de l'enzyme.

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

- A utiliser d'autres programmes de docking moléculaire, parmi les plus récents et les plus performants, pour tester tous les inhibiteurs de la MetAP étudiés jusqu'à présent afin de proposer les meilleurs.
- A tester l'activité de la méthionine aminopeptidase avec plusieurs métaux bivalents, y compris Co (II), Mn(II), Fe(II) et Ni(II) pour trouver le meilleur activateur de cette enzyme.
- A proposer des substitutions dans le but de découvrir de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de la MetAP.
- Enfin une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* devra permettre de vérifier ensuite les résultats théoriques obtenus *in silico*.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. 2007. 90p.
- [2] Olaleye A. O., Bishaie W. R., Liua J. O. 2009. Targeting the role of N-terminal methionine processing enzymes in *Mycobacterium Tuberculosis*. *Tuberculosis* 89. **S1**: S55- S59.
- [3] Olaleye O., Raghunand T. R., Bhat S., He J., Tyagi S., Lamichhane G., Gu P., Zhou J., Zhang Y., Grosset J., Bishai W. R., Liu J. O. 2010. Methionine Aminopeptidases from *Mycobacterium tuberculosis* as Novel Antimycobacterial Targets. *Chemistry & Biology*. **17** : 86-97.
- [4] Buléon A., Pérez S., Tran V. La modélisation moléculaire Visualiser, Calculer, Simuler. [En ligne]. <http://www.abi.snv.jussieu.fr/jompo/Public/PSF/modelisation.pdf>. Consulté le: [16/01/2011].
- [5] McCarthy D. J. 1999. Computational approaches to structure-based ligand design. *Pharmacology & Therapeutics*. **84**: 179-191.
- [6] Geldenhuys W. J., Gaasch K. E., Watson M., Allen D. D., Van der Schyf C. J. 2006. Optimizing the use of open-source software applications in drug discovery. *Drug Discovery Today*. **11**: 127-132.
- [7] Qian Z., Fields C. J., Yu Y., Lutz S. 2007. Recent progress in engineering alpha/beta hydrolase-fold family members. *Biotechnology Journal*. **2**: 192-200.
- [8] Damborsky J., Brezovsky J. 2009. Computational tools for designing and engineering biocatalysts. *Current Opinion in Chemical Biology*. **13** : 26-34.
- [9] Karp G. Biologie moléculaire et cellulaire. 3^{ème} édition. France : De Boeck. 2004. 850p.
- [10] Voet D., Voet J. G. Biochimie. 2^{ème} édition. France : De Boeck. 2005. 1600p.

- [11] Gauchard P. A. Les interactions de faible énergie. [En ligne]. http://www.umvf.biomedicale.univ-paris5.fr/.../gauchard_pierre_alexis_P05.pdf. Consulté le: [16/03/2011].
- [12] Rosen E. D., O'Donnell A. L., Koenig R. J. 1991. Protein-protein interactions involving erbA superfamily receptors: through the TRAP door. *Molecular and Cellular Endocrinology*. **78**: C83-C88.
- [13] Kitchen D. B., Decornez H., Furr J. R., Bajorath J. 2004. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Drug discovery*. **3**: 935-949.
- [14] Warren G. L., Andrews C.W., Capelli A. M., Clarke B., LaLonde J., Lambert M.H., Lindvall M., Nevins N., Semus S. F., Senger S., Tedesco G., Wall I.D., Woolven J. M., Peishoff C. E., Head M. S. 2006. A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions. *Journal of Medicinal Chemistry*. **49**: 5912-5931.
- [15] Halperin I., Ma B., Wolfson H., Nussinov R. 2002. Principles of Docking: An Overview of Search Algorithms and a Guide to Scoring Functions. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*. **47**: 409-443.
- [16] Ewing T. J. A., Makino S., Skillman A. G., Kuntz I. D. 2001. DOCK 4.0: Search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. **15**: 411-428.
- [17] Claußen H., Buning C., Rarey M., Lengauer T. 2001. FLEXE: Efficient Molecular Docking Considering Protein Structure Variations. *Journal of Molecular Biology*. **308**: 377-395.
- [18] Welch W., Ruppert J., Jain A. N. 1996. Hammerhead: fast, fully automated docking of flexible ligands to protein binding sites. *Chemistry & Biology*. **3**: 449-462.
- [19] Budin N., Majeux N., Caflisch A. 2001. Fragment-Based Flexible Ligand Docking by Evolutionary Optimization. *Journal of Biological Chemistry*. **382**: 1365-1372.
- [20] Kellenberger E., Rodrigo J., Muller P., Rognan D. 2004. Comparative Evaluation of Eight Docking Tools for Docking and Virtual Screening Accuracy. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. **57**: 225-242.

- [21] Jones G., Willett P., Glen R. C., Leach A. R., Taylor R. 1997. Development and Validation of a Genetic Algorithm for Flexible Docking. *Journal of Molecular Biology*. **267**: 727-748.
- [22] Jain A. N. 2007. Surflex-Dock 2.1: Robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *J Comput Aided Mol Des*. **21**: 281-306.
- [23] Verdonk M. L., Cole C., Hartshorn M. J., Murray C. W., Taylor R. D. 2003. Improved Protein-Ligand Docking Using GOLD. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*. **52** : 609-623.
- [24] Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide deformylase – substances antibactériennes a l'aide de techniques de « docking » (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat en microbiologie. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2007. 90p.
- [25] Reddy A. S., Pati S. P., Kumar P. P., Pradeep H. N., Sastry G. N. 2007. Virtual Screening in Drug Discovery – A Computational Perspective. *Current Protein and Peptide Science*. **8** : 329-351.
- [26] Balsmisse G. 2002. Les algorithmes génétiques. [En ligne]. http://www.gillesbalsmisse.com/IMG/pdf/GB_AlgoGen.pdf. Consulté le: [09/05/2011].
- [27] Bensegueni A. Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxigénase et la cyclooxygénase. Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2007. 76p.
- [28] Korb O., Cole J. 2010. Ant Colony Optimisation for Ligand Docking. *Cambridge Crystallographic Data Centre*. **6234**: 72-83.
- [29] Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC). [En ligne]. <http://www.ccdc.cam.ac.uk>. Consulté le: [20/05/2011].
- [30] Bissantz C., Folkers G., Rognan D. 2000. Protein-Based Virtual Screening of Chemical Databases. 1. Evaluation of Different Docking/Scoring Combinations. *Journal of Medicinal Chemistry*. **43**: 4759-4767.
- [31] Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. 1996. A Fast Flexible Docking Method using an Incremental Construction Algorithm. *Journal of Molecular Biology*. **261**: 470-489.

- [32] Kessler C., Connolly M., Levy M., Porter J., Rieder H. L. 1998. La lutte antituberculeuse dans les populations de réfugiés : un défi à la fois pour les Organismes d'Assistance et les Programmes Nationaux. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. **2**: 105-110.
- [33] Organisation mondiale de la Santé (OMS). Tuberculose faits et chiffres sur la tuberculose. [En ligne]. http://www.who.int/tb/features_archive/factsheet_tb_2010_fr.pdf. Consulté le: [20/02/2011].
- [34] Murray J. F. 2001. La tuberculose dans le monde : situation et perspective en l'an 2001. *Revue des Maladies Respiratoires*. **18** : 479-484.
- [35] Alihalassa S. 2009. Epidémiologie de la tuberculose en Algérie. [En ligne]. <http://www.sante.dz/tuberculose/epidemiologie-algerie.pdf>. Consulté le: [01/02/2011].
- [36] Enarson D. A., Rieder H. L., Arnadottir T., Trébuq A. 2000. Prise en charge de la tuberculose. Guide pour les pays à faibles revenus. Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires.
- [37] Ait-khaled N., Enarson D. 1999. TUBERCULOSE Manuel pour les Etudiants en Médecine. [En ligne]. http://www.tbrieder.org/publications/books_french/students_fr.pdf. Consulté le: [08/01/2011].
- [38] Molinier A., Massol J. Molinier: pathologie médicale et pratique infirmière. France: Editions Lamarre. 2008. 601 p.
- [39] Helbling P., Gabathuler U., Roth Th., Zellweger J. P. 2003. La tuberculose en Suisse: épidémiologie, surveillance, transmission. *Forum Med Suisse*. **21** : 487-491.
- [40] Dembele J. P. Aspects épidémiologiques de la tuberculose pulmonaire a bacilloscopie positive au mali pendant la décennie 1995 – 2004. Thèse de doctorat en Médecine. Bamako : Université de Bamako. Mali. 2005. 85 p.
- [41] Informations générales sur la tuberculose et le VIH. [En ligne]. http://www.who.int/publications/2005/9241546344_fre_chap1.pdf. Consulté le: [30/01/2011].

- [42] Palomino J. C., Leão S. C., Ritacco V. Tuberculosis 2007 From basic science to patient care. [En ligne]. <http://www.TuberculosisTextbook.com>. Consulté le: [28-01-2011].
- [43] Tripathi R. P., Tewari N., Dwivedi N., Tiwari V. K. 2005. Fighting Tuberculosis: An Old Disease with New Challenges. *MedicinalResearchReviews*. **25**: 93-131.
- [44] Anane T. 2003. La tuberculose de l'enfant en Afrique : aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques. *Médecine tropicale*. **63** : 473-480.
- [45] Gimmi R., Pfyffer G. E., Brändli O. 2003. Tuberculose multirésistante – guérissable en Suisse. *Forum Med Suisse*. **4** : 80-90.
- [46] Organisation mondiale de la Santé (OMS). Le traitement de la tuberculose: principes à l'intention des programmes nationaux. [En ligne]. www.who.int/hq/1997/WHO_TB_97.220_fre.pdf. Consulté le: [02-03-2011].
- [47] Nicolet G., Rochat T., Zellweger J. P. 2003. Traitement de la tuberculose. *Forum Med Suisse*. **22**: 506-516.
- [48] Yala D., Merad A. S, Mohamedi D., Ouarkorich M. N. 2001. Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb* n°91.
- [49] Loïez-Durocher C., Vachée A., Lemaitre N. 2000. La résistance de *Mycobacterium tuberculosis* aux antituberculeux : méthodes diagnostiques. *Annales de Biologie Clinique*. **58**: 291-297.
- [50] Colloque du réseau tuberculose. Épidémiologie clinique, moléculaire et perspectives vaccinales. [En ligne]. http://www.invs.sante.fr/.../2002/colloque_tuberculose/colloque_tuber.pdf. Consulté le : [05/02/2011].
- [51] Un cadre de lutte contre la tuberculose multirésistante dans les États et Territoires insulaires océaniques. 2010. [En ligne]. http://www.spc.int/.../Cadre_strategique_tuberculose_multiresistante_Pacifi. Consulté le: [20/02/2011].
- [52] Antoine D., Che D. 2008. Les cas de tuberculose maladie déclarés en France en 2006. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*. n°10-11. 69-75.

- [53] Nau J. Y. 2008. De nouveaux antituberculeux sont annoncés. *Revue Médicale Suisse*. **4**:744.
- [54] Olaleyed O. A., Bishaie W. R., Liu J. O. 2009. Targeting the role of N-terminal methionine processing enzymes in *Mycobacterium Tuberculosis*. *Tuberculosis* 89. **S1**: S55-S59.
- [55] Nonato M. C., Widom J., Clardy J. 2006. Human methionine aminopeptidase type 2 in complex with L- and D-methionine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **16**: 2580-2583.
- [56] Giglione C., Serero A., Pierre M., Boisson B., Meinnel T. 2000. Identification of eukaryotic peptide deformylases reveals universality of N-terminal protein processing mechanisms. *EMBO Journal*. **19**: 5916-5929.
- [57] Boufous El H., Vadeboncoeur C. 2003. Purification and characterization of the *Streptococcus salivarius* methionine aminopeptidase (MetAP). *Biochimie*. **85**: 993-997.
- [58] Bradshaw R. A., Brickey W. W., Walker K. W. 1998. N-Terminal processing: the methionine aminopeptidase and N^α-acetyl transferase families. *Trends in Biochemical Sciences*. **23**: 263-267.
- [59] Lu J. P., Ye Q. Z. 2010. Expression and characterization of *Mycobacterium tuberculosis* methionine aminopeptidase type 1a. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **20**: 2776-2779.
- [60] Zuo S., Guo Q., Ling C., Chang Y. H. 1995. Evidence that two zinc fingers in the methionine aminopeptidase from *Saccharomyces cerevisiae* are important for normal growth. *Mol Gen Genet*. **246**: 247-253.
- [61] Lu J. P., Chai S. C., Ye Q. Z. 2010. Catalysis and inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* methionine aminopeptidase. *Journal of Medicinal Chemistry*. **53**: 1329.
- [62] Chiu C. H., Lee C. Z., Lin K. S., Tam M. F., Lin L. Y. 1999. Amino Acid Residues Involved in the Functional Integrity of *Escherichia coli* Methionine Aminopeptidase. *Journal of Bacteriology*. **181**: 4686-4689.

- [63] Hirel P. H., Schmitter J. M., Dessen P., Fayat G., Blanquet S. 1989. Extent of N-terminal methionine excision from *Escherichia coli* proteins is governed by the side-chain length of the penultimate amino acid. *Biochemistry*. **86**: 8247-8251.
- [64] Addlagatta A., Quillin M. L., Omotoso O., Liu J. O., Matthews B. W. 2005. Identification of an SH3-Binding Motif in a New Class of Methionine Aminopeptidases from *Mycobacterium tuberculosis* Suggests a Mode of Interaction with the Ribosome. *Biochemistry*. **44**: 7166-7174.
- [65] Lowther W. T., Matthews B. W. 2000. Structure and function of the methionine aminopeptidases. *Biochimica et Biophysica Acta*. **1477**:157-167.
- [66] Alvarado J. J., Nemkal A., Sauder J. M., Russell M., Akiyoshi D. E., Shi W., Almo S. C., Weiss L. M. 2009. Structure of a microsporidian methionine aminopeptidase type 2 complexed with fumagillin and TNP-470. *Molecular & Biochemical Parasitology*. **168**:158-167.
- [67] Li J. Y., Cui Y. M., Chen L. L., Gu M., Li J., Nan F. J., Ye Q. Z. 2004. Mutations at the S1 Site of Methionine Aminopeptidases from *Escherichia coli* and *Homo sapiens* reveal the Residues Critical for Substrate Specificity. *Journal of Biological Chemistry*. **279**:21128-21134.
- [68] Walker K. W., Bradshaw R. A. 1999. Yeast Methionine Aminopeptidase I. Alteration of substrate specificity by site-directed mutagenesis. *Journal of Biological Chemistry*. **274**: 13403-13409.
- [69] Hu X., Zhu J., Srivathsan S., Pei D. 2004. Peptidyl hydroxamic acids as methionine aminopeptidase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **14**: 77-79.
- [70] Towbin H., Bair K. W., DeCaprio J. A., Eck M. J., Kim S., Kinder F. R., Morollo A., Mueller D. R., Schindler P., Song H. K., Oostrum J. V, Versace R. W., Voshol H., Wood J., Zabudoff S., Phillips P. E. 2003. Proteomics-based Target Identification. Benzamides as a new class of methionine aminopeptidase inhibitors. *Journal of Biological Chemistry*. **278**: 52964-52971.
- [71] Oefner C., Douangamath A., D'Arcy A., Hafeli S., Mareque D., Sweeney A. M., Padilla J., Pierau S., Schulz H., Thormann M., Wadman S., Dale G. E. 2003. The 1.15 Å Crystal

Structure of the *Staphylococcus aureus* Methionyl-aminopeptidase and Complexes with Triazole Based Inhibitors. *Journal of Molecular Biology*. **332**: 13-21.

[72] Huang Q. Q., Huang M., Nana F. J., Ye Q. Z. 2005. Metalloform-selective inhibition: Synthesis and structure–activity analysis of Mn(II)-form-selective inhibitors of *Escherichia coli* methionine aminopeptidase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **15**: 5386-5391.

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

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

[75] Fox W. Statistiques Sociales. 3^{ème} édition. France: De Boeck. 1999. 374 p.

[76] Evdokimov A. G., Pokross M., Walter R. L., Mekel M., Barnett B. L., Amburgey J., Seibel W. L., Soper S. J., Djung J. F., Fairweather N., Diven C., Rastogi V., Grinius L., Klanke C., Siehnel R., Twinem T., Andrews R., Curnow A. 2007. Serendipitous Discovery of Novel Bacterial Methionine Aminopeptidase Inhibitors. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. **66** : 538-546.

[77] Altmeyer M. A., Marschner A., Schiffmann R., Klein C. D. 2010. Subtype-selectivity of metal-dependent methionine aminopeptidase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **20**: 4038-4044.

[78] Berman H. M. 2008. The Protein Data Bank: a historical perspective. *ActaCryst*. **A64**: 88-95.

[79] Protein Data Bank (PDB). Biological Macromolecular Resource. [En ligne]. <http://www.pdb.org/pdb/home>. Consulté le: [03/01/2011].

[80] Arrault A. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de doctorat en Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. Orléans : Université d'Orléans. France. 2007. 176p.

- [81] Hutchison G. R., Morley C., James C., Swain C., De Winter H., Vandermeersch T., O'Boyle N. M. 2011. Open Babel Documentation. [En ligne]. <http://openbabel.sourceforge.net>. Consulté le: [03/05/2011].
- [82] ViewerLite (version4.2). 2001. Accelrys Inc. <http://www.accelrys.com>.
- [83] Mark A. ArgusLab (version 4.0.1). Thompson. Planaria software LLC. Seattle. <http://www.ArgusLab.com>.
- [84] BioPharmics LLC. 2005.Surflex Manual: Docking and Similarity (version 1.3).
- [85] Miteva M. A., Violas S., Montes M., Gomez D.,and. Villoutreix B. O.2006. FAF-Drugs: free ADME/tox filtering of compound collections. *Nucleic Acids Research*. **34** : W738–W744
- [86] 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.
- [87] VeberD. F., Johnson S. R., Cheng H. Y., Smith B. R., Ward K. W., Kopple K. D. 2002. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*. **45**: 2615-2623.
- [88] WIKIPEDIA. The free encyclopedia. Mise à jour Novembre 2010. [En ligne]. <http://en.wikipedia.org/wiki/IC50>. Consulté le: [05/06/2011].
- [89] Chikhi A., Bensegueni A. 2010. In Silico Study of the Selective Inhibition of Bacterial Peptide Deformylases by Several Drugs. *Journal of Proteomics and Bioinformatics*. **3**: 061-065.
- [90] Kamel M. M., Ali H. I., Anwar M. M., Mohameda N. A., Soliman A. M.2010. Synthesis, antitumor activity and molecular docking study of novel Sulfonamide-Schiff's bases, thiazolidinones, benzothiazinones and their C-nucleoside derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **45**: 572-580.
- [91] Maouche A. T., Maouche B., Kellou S. T., El-Aoufi S., Martínez M. M., Muñoz R. G., Fourmy D., Maigret G. 2008.Exploring the binding pocket for pyridopyrimidine ligands at the CCK1 receptor by molecular docking. *Journal of MolecularModeling*. **14** : 303-314.
- [92] Molinspiration. [En ligne]. <http://www.molinspiration.com/>. Consulté le : [15/05/2011].

ANNEXES

ANNEXES

**Annexe 1 : Liste de 144 complexes utilisés pour tester les deux programmes de docking
avec le RMSD**

Numéro	Code	Surflex-dock				GOLD	
		Final-0	Crash	Self	RMSD	Fitness	RMSD
1	1B6A	2.10	-6.64	-3.25	3.917	61.96	1.17
2	1B59	-0.12	-5.37	-1.49	2.254	51.43	0.87
3	1BOA	3.58	-3.61	-2.12	1.935	57.79	0.88
4	1R5G	6.47	-4.65	-3.18	1.790	68.66	1.82
5	1R5H	9.55	-1.84	-0.86	1.565	70.36	0.76
6	1R58	6.44	-1.26	-0.98	2.566	69.36	3.19
7	1XNZ	2.52	-1.11	-0.14	2.230	61.98	1.69
8	1YVM	3.43	-0.90	-0.10	3.308	47.47	3.31
9	1YW7	2.64	-1.65	-0.51	3.018	66.79	3.60
10	1YW8	4.44	-0.34	-0.06	1.889	73.78	6.23
11	1YW9	4.69	-1.59	-0.41	0.938	71.17	2.81
12	2ADU	3.37	-0.61	0.00	2.390	44.65	2.13
13	2BB7	2.31	-1.36	-0.04	3.738	49.96	5.24
14	2EVC	2.70	-0.65	-0.03	1.623	60.86	1.64
15	2GG0	4.51	-2.07	-1.27	2.054	62.74	1.09
16	2GG8	5.25	-3.73	-1.98	2.229	74.54	1.17
17	2GG9	7.06	-4.44	-3.12	2.583	78.96	0.66
18	2GGB	4.02	-2.63	-1.15	2.991	64.89	3.70
19	2NQ6	2.00	-2.70	-1.06	3.171	52.33	0.88
20	2P98	2.91	-0.39	0.00	1.492	66.00	0.49
21	2EVO	2.59	-0.91	-0.45	2.951	43.77	2.24
22	3KED	4.28	-2.01	-0.34	1.636	70.82	2.74
23	2RIP	8.46	-0.98	-0.19	0.722	59.00	0.36
24	3CHR	10.08	-2.13	-0.72	1.550	77.58	1.17
25	3C43	9.41	-2.62	-1.60	0.613	76.52	1.23
26	3D4L	11.17	-1.13	-0.62	0.372	68.90	1.84
27	3KWF	10.02	-1.07	-0.41	0.475	70.22	0.83
28	3F8S	5.24	-2.55	-0.73	0.798	62.97	0.99
29	3B7R	7.42	-3.86	-1.39	1.269	109.00	0.60
30	3B7U	5.44	-1.17	-0.63	1.435	67.29	0.65
31	2Q92	2.34	-0.66	-0.19	3.405	60.98	1.71
32	2Q93	3.54	-0.75	-0.29	1.856	60.62	2.03
33	2Q94	1.85	-1.89	-0.16	3.903	61.50	1.66
34	2Q95	2.63	-0.72	-0.18	3.611	54.82	2.03
35	2Q96	3.28	-1.28	-0.15	2.581	60.82	0.31
36	3D27	3.11	-1.01	-0.12	3.154	74.85	0.62
37	3IU7	2.78	-0.77	-0.04	3.107	56.67	1.85
38	3IU8	2.31	-0.28	-0.10	4.023	56.04	0.32
39	3IU9	3.85	-1.94	-0.56	0.757	58.69	0.50
40	2AI7	4.09	-0.65	-0.24	1.660	44.43	1.45
41	3 ^E 3U	7.68	-2.54	-1.15	0.882	66.10	0.55
42	3FMR	3.78	-4.37	-2.46	0.736	60.11	0.78

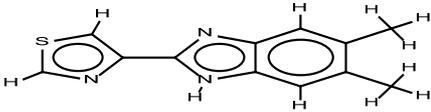
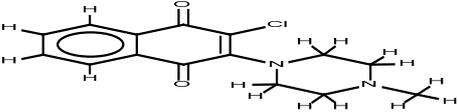
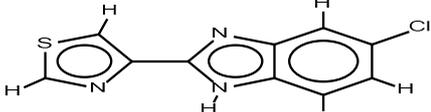
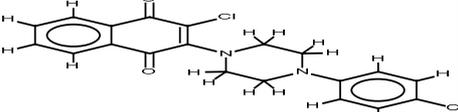
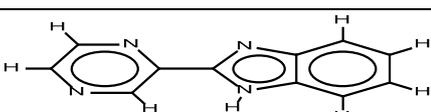
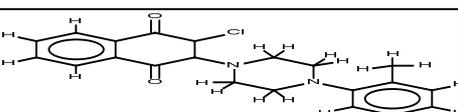
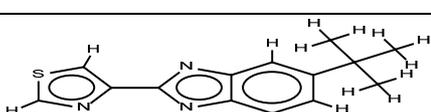
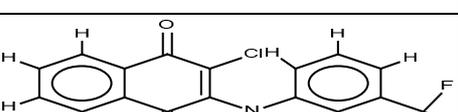
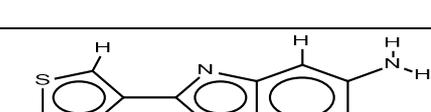
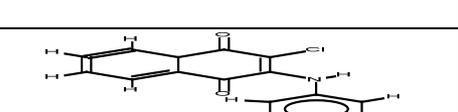
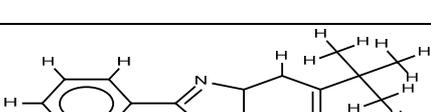
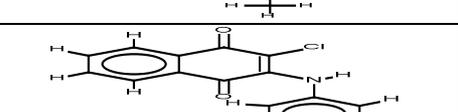
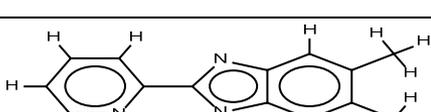
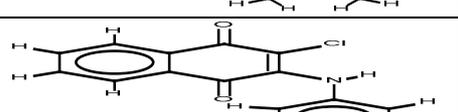
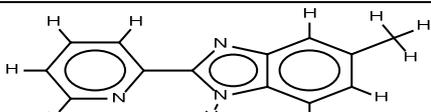
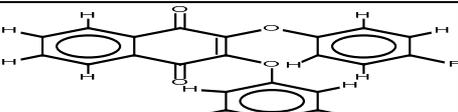
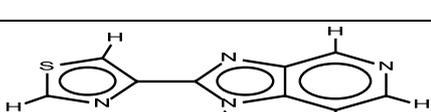
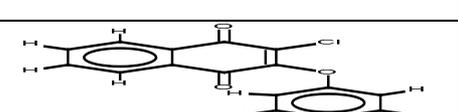
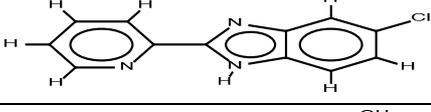
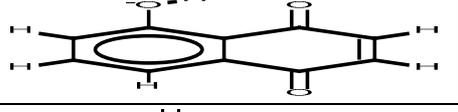
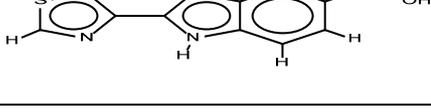
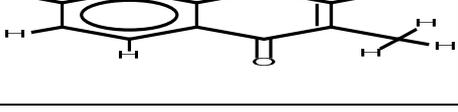
ANNEXES

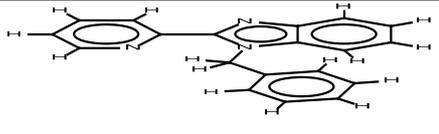
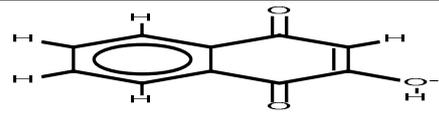
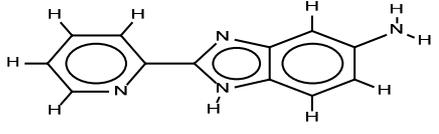
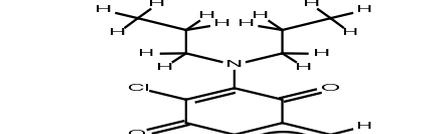
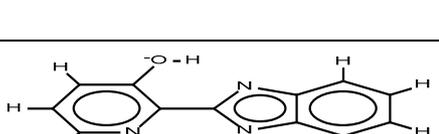
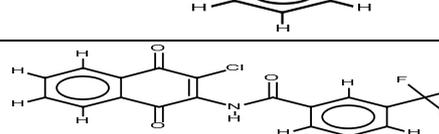
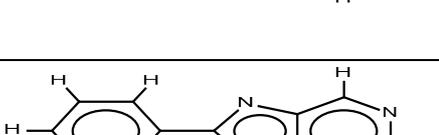
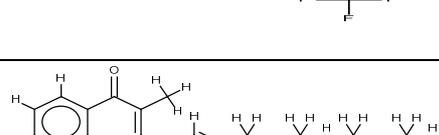
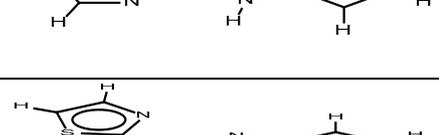
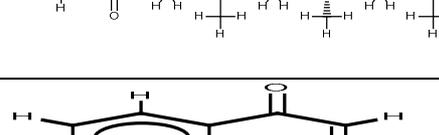
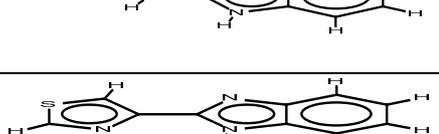
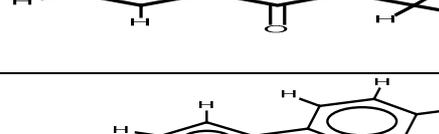
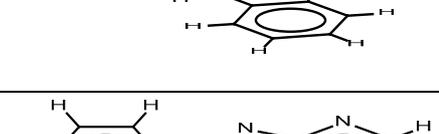
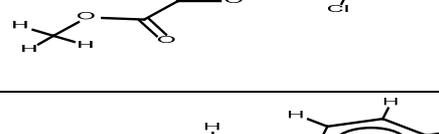
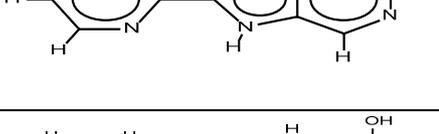
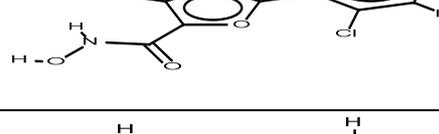
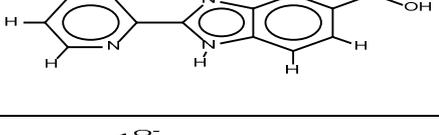
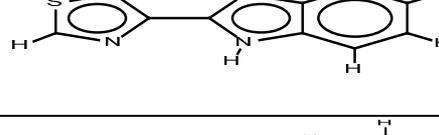
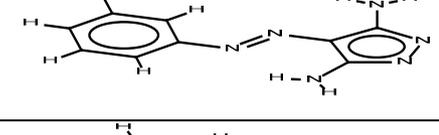
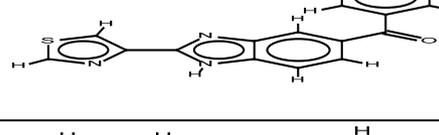
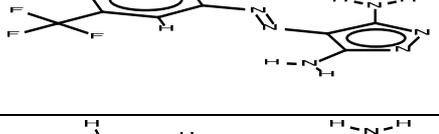
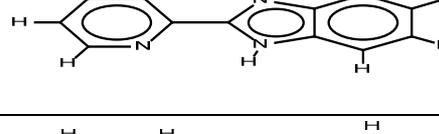
43	1BS4	1.78	-2.90	-2.45	4.069	63.89	3.33
44	1BSK	5.76	-3.18	-1.71	2.134	86.05	0.898
45	1BSZ	2.65	-2.51	-2.05	2.171	67.04	3.04
46	1G2A	5.91	-3.86	-1.93	1.385	60.24	0.68
47	1G27	2.40	-2.12	-1.45	2.655	64.42	0.47
48	1ICJ	4.25	-3.23	-2.80	2.029	60.91	3.54
49	1IX1	4.22	-3.69	-1.04	2.040	77.79	1.00
50	1RL4	6.88	-1.14	-0.49	0.999	59.86	7.67
51	1S17	2.69	-1.92	-0.58	2.173	49.49	0.68
52	2EVM	2.29	-0.83	-0.16	3.417	64.21	1.64
53	2AIE	3.42	-1.26	-0.40	2.085	47.72	1.44
54	2EW5	6.42	-1.10	-0.18	1.402	66.40	1.19
55	2EW6	6.20	-0.98	-0.45	5.015	62.22	0.39
56	2W3U	4.66	-0.15	0.00	2.095	20.51	1.03
57	2P9A	1.86	-0.24	-0.12	4.631	54.78	3.66
58	1C23	4.42	-1.26	-0.90	3.530	72.91	0.90
59	1C27	5.12	-0.94	-0.61	3.220	67.74	0.77
60	1CP6	2.82	-0.19	-0.02	2.091	47.39	2.37
61	1FT7	3.40	-1.46	-1.05	1.536	71.47	1.67
62	1KQ0	5.50	-0.58	-0.51	1.966	55.96	1.58
63	1KQ9	5.42	-1.32	-0.59	2.538	17.89	2.11
64	1LOK	4.96	-0.89	-0.59	1.623	55.84	1.01
65	1MT3	3.71	-2.37	-1.51	2.634	42.93	1.54
66	1MU0	1.90	-3.82	-0.98	0.955	44.21	1.25
67	1TKF	5.80	-0.89	-0.41	1.646	68.75	0.93
68	1TKH	3.79	-1.18	-0.18	2.332	31.83	3.50
69	2GG2	4.87	-1.43	-0.01	3.238	56.69	0.42
70	2GG3	4.33	-0.65	-0.03	3.514	43.06	2.42
71	1X2B	5.82	-0.84	-0.40	1.582	50.80	1.16
72	2GG7	3.78	-1.51	-0.12	2.966	70.06	6.50
73	1XBU	3.63	-1.66	-0.60	3.501	71.93	1.34
74	1XRL	3.26	-4.04	-1.45	2.502	37.42	0.93
75	1XRY	6.64	-2.17	-1.10	1.452	95.80	0.34
76	1YJ3	4.36	-1.07	-0.42	3.617	20.71	7.61
77	2B3H	2.22	-0.19	-0.02	1.119	26.79	5.17
78	2GG5	2.92	-0.86	-0.18	3.161	46.19	1.08
79	2B3L	3.94	-0.06	0.00	0.882	29.55	3.09
80	2DQM	9.64	-2.15	-1.11	0.767	86.39	1.11
81	2EK8	2.47	-1.15	-0.06	2.088	21.17	6.38
82	2EK9	6.46	-3.67	-2.17	0.729	93.45	1.14
83	3D44	2.66	-0.39	-0.12	1.426	24.38	1.91
84	3FMM	6.72	-0.90	-0.32	0.483	74.29	0.53
85	3FHR	7.78	-1.55	-0.15	0.339	72.06	0.52
86	2GU5	3.74	-1.02	-0.61	3.091	68.04	1.46
87	2GU6	5.59	-1.20	-1.05	1.451	62.81	1.18
88	3FDG	4.05	-0.15	-0.08	1.774	62.65	1.54
89	2HPT	9.42	-2.18	-1.23	0.936	91.00	0.99
90	2PRQ	4.25	-3.59	-1.35	1.763	54.64	2.03
91	3GC7	7.18	-2.20	-1.85	1.016	75.72	0.67
92	3GC8	7.25	-2.90	-1.34	0.651	83.87	0.57
93	2Z0Q	6.32	-0.94	-0.30	0.851	50.29	0.54
94	3B3V	2.06	-1.74	-0.94	1.952	8.60	2.94
95	2WIH	8.31	-1.24	-0.12	0.409	83.43	0.55

ANNEXES

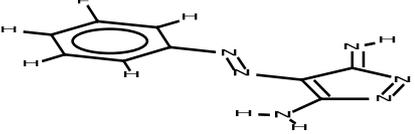
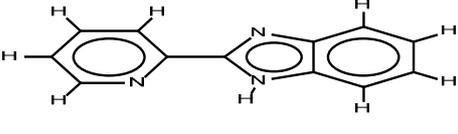
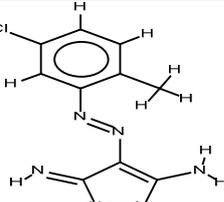
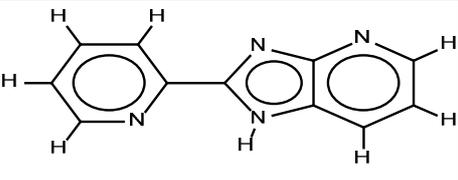
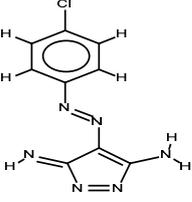
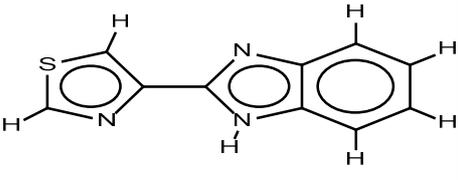
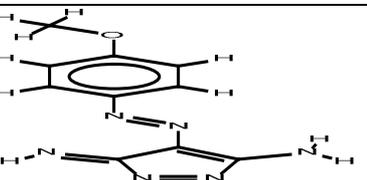
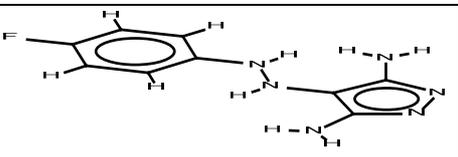
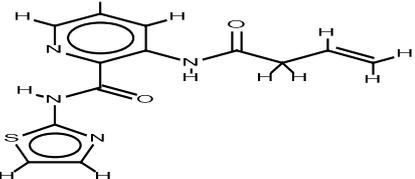
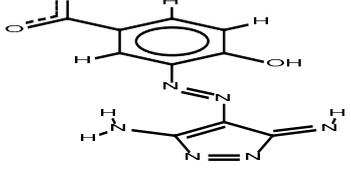
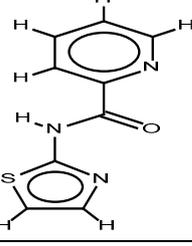
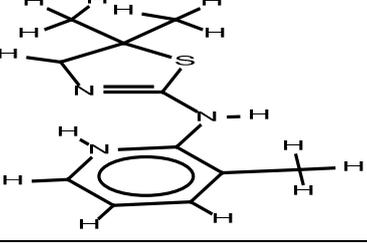
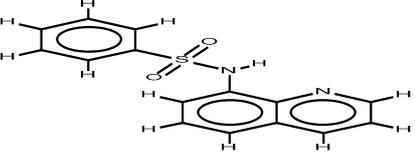
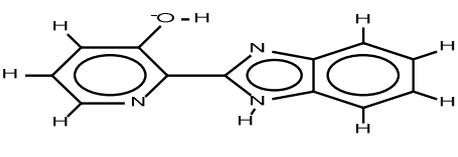
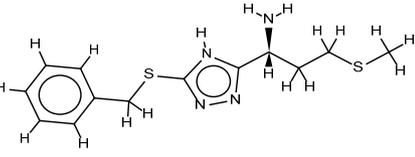
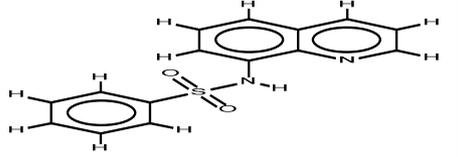
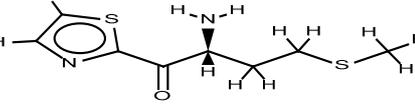
96	3HVC	6.75	-0.41	0.00	0.708	49.33	0.44
97	3EBH	10.08	-3.07	-1.54	0.807	91.35	0.46
98	3EBI	7.35	-2.60	-0.96	0.782	102.46	1.49
99	3GCQ	6.42	-4.86	-2.03	1.286	99.19	0.46
100	3FMQ	2.57	-3.64	-2.69	1.264	58.23	0.98
101	1BSJ	6.34	-3.33	-1.72	1.449	78.74	0.84
102	3GCS	6.29	-2.30	-0.56	1.822	85.15	0.27
103	3GCU	14.12	-2.47	-0.88	0.580	101.06	0.39
104	1LRY	4.07	-3.68	-1.61	0.773	81.54	1.59
105	3HL7	4.99	-1.40	-0.85	0.835	64.33	1.07
106	1LQY	4.33	-4.44	-1.59	1.179	68.60	0.57
107	1N5N	1.73	-1.08	-0.93	1.893	24.11	1.30
108	3M2W	8.12	-0.49	-0.12	0.449	78.98	0.64
109	1SZZ	4.09	-1.94	-0.80	1.099	71.54	1.37
110	1VEV	7.28	-1.23	-0.38	0.816	66.25	0.53
111	3HV6	11.02	-2.88	-2.08	0.636	84.81	0.67
112	1VEY	4.95	-3.16	-0.60	1.876	82.94	1.55
113	3MBL	4.09	-2.16	-0.53	1.123	62.87	1.13
114	3MH3	5.83	-2.14	-1.56	0.734	68.36	0.42
115	2OS3	6.12	-3.46	-1.59	1.906	59.44	1.83
116	3HRB	5.91	-1.07	-0.32	0.783	57.64	1.36
117	3G5K	4.64	-2.22	-1.37	0.452	129.43	1.72
118	3K6L	5.82	-3.60	-2.35	1.688	66.76	0.45
119	2OKL	5.35	-2.85	-1.04	1.060	79.55	1.23
120	2WAJ	5.43	-0.46	-0.06	1.372	64.01	0.31
121	3GCP	10.60	-0.68	-0.18	0.877	79.54	0.76
122	3EIO	6.02	-2.56	-1.66	0.682	57.31	1.35
123	3CCC	4.04	-2.25	-1.02	0.955	71.51	0.84
124	2Z3Z	3.85	-4.71	-2.11	1.242	50.98	1.16
125	2FJP	10.46	-1.77	-0.68	0.405	76.69	0.45
126	2QT9	7.68	-2.62	-1.56	0.895	71.71	0.37
127	2BUA	3.29	-0.84	-0.51	0.732	59.11	0.56
128	2JID	6.20	-2.38	-1.21	0.576	45.63	1.09
129	2OPH	7.10	-3.28	-2.72	0.804	64.41	1.27
130	2IIV	4.58	-1.37	-1.38	0.697	57.78	0.44
131	3L8X	8.28	-0.86	-0.18	0.898	72.68	0.51
132	3NNU	10.71	-1.71	-0.86	0.689	96.33	0.45
133	3OBJ	8.39	-1.12	-0.78	0.364	63.32	0.64
134	2BUB	7.24	-2.18	-1.04	1.871	56.92	6.58
135	2I78	6.50	-1.93	-0.78	1.297	60.80	0.89
136	3NEW	6.10	-0.98	-0.36	0.484	60.51	0.57
137	2G5T	2.84	-5.77	-0.77	1.212	63.27	1.47
138	3L03	5.26	-1.85	-0.31	1.073	70.52	0.44
139	1X70	4.59	-3.52	-2.08	0.940	56.85	0.92
140	2GBG	4.01	-6.01	-0.67	0.883	44.41	1.15
141	2GBI	4.81	-1.59	-0.59	1.009	63.23	0.66
142	2HHA	8.09	-1.72	--0.50	1.050	69.22	0.72
143	2I3Z	7.97	-0.78	-0.38	0.783	61.75	1.03
144	2QTB	8.29	-3.26	-1.71	0.851	61.90	0.54

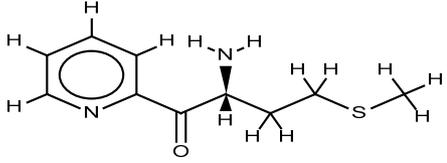
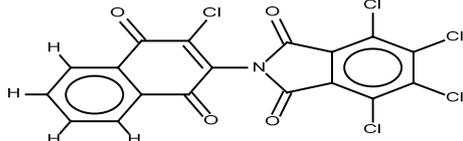
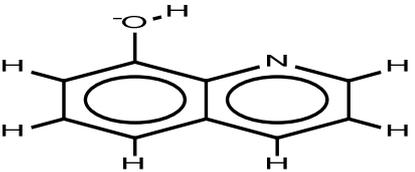
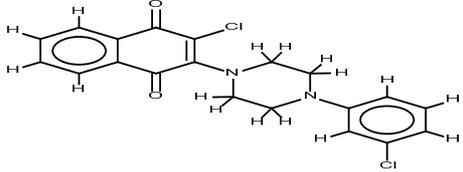
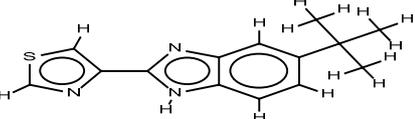
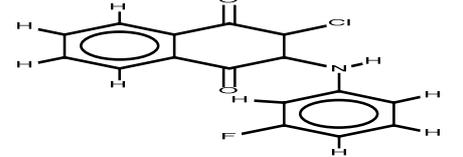
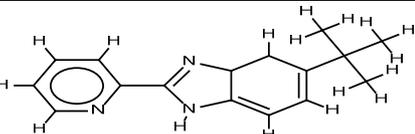
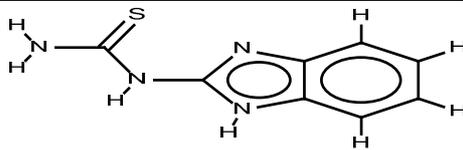
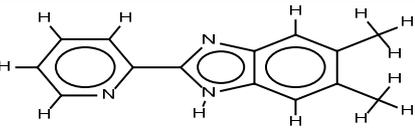
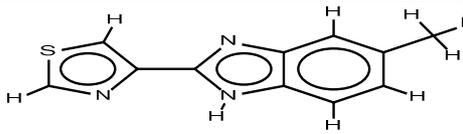
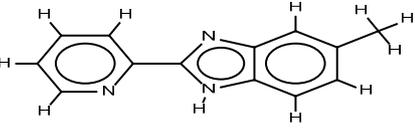
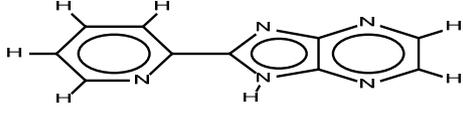
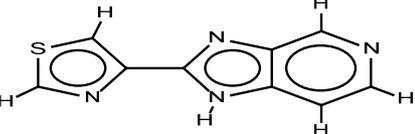
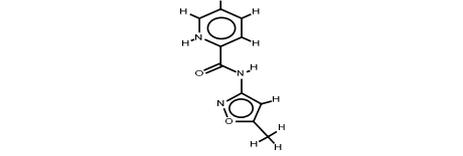
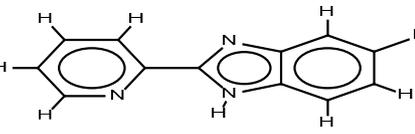
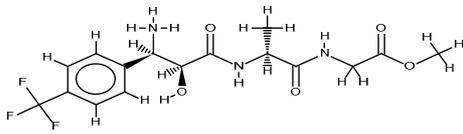
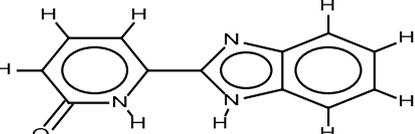
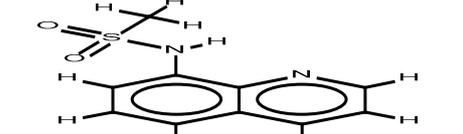
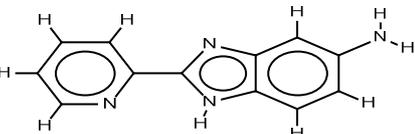
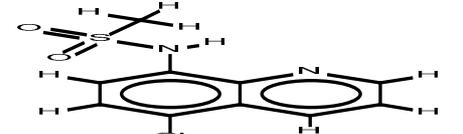
Annexe 2 : Liste des 100 inhibiteurs de la MetAP avec IC50 (μM)

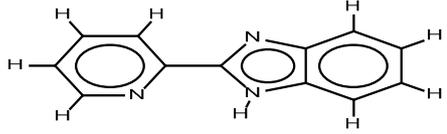
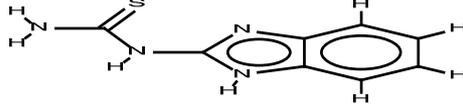
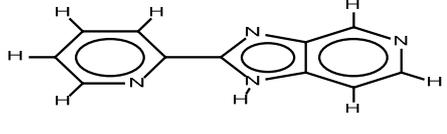
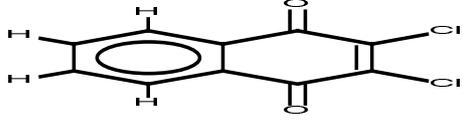
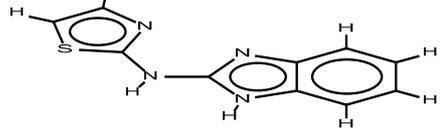
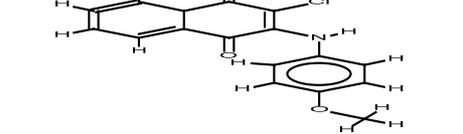
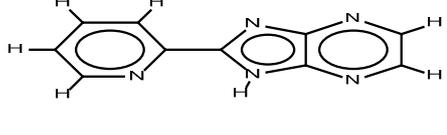
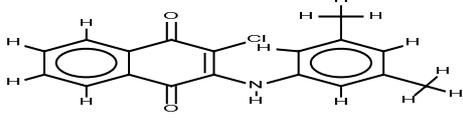
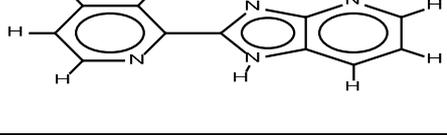
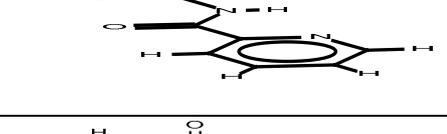
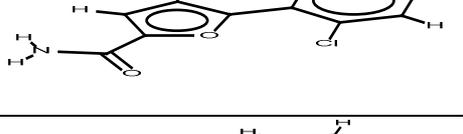
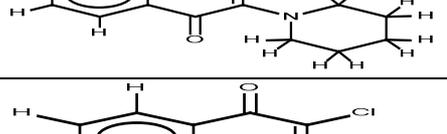
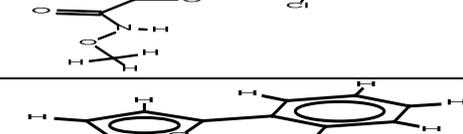
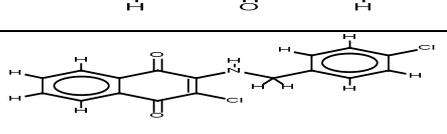
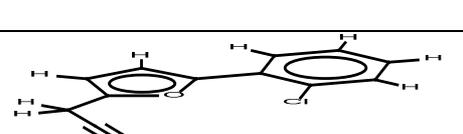
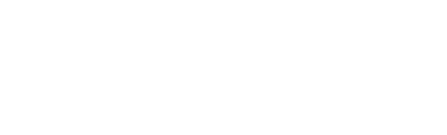
N	inhibiteur	IC50 (μM)	N	inhibiteur	IC50 (μM)
1		10	51		>100
2		5.2	52		>100
3		4.6	53		>100
4		3.9	54		>50
5		3.4	55		>50
6		2.6	56		>50
7		2.4	57		21.3
8		2.1	58		1.79
9		1.7	59		3.74
10		1.7	60		>30
11		1.2	61		>50

12		0.99	62		>50
13		0.97	63		>30
14		0.78	64		>50
15		0.55	65		>50
16		0.54	66		>50
17		0.46	67		200
18		0.38	68		4.61
19		0.16	69		4.3
20		1.75	70		2.4
21		0.25	71		1.5
22		0.25	72		1.3

ANNEXES

23		0.55	73		0.57
24		0.55	74		0.11
25		1.25	75		0.47
26		1.50	76		0.58
27		0.1	77		2.00
28		5	78		0.21
29		1.69	79		4.4
30		0.044	80		22.9
31		19	81		16.0

32		16	82		8.7
33		18.3	83		>100
34		41.7	84		>50
35		38.9	85		9
36		17.9	86		7.2
37		19.4	87		0.24
38		45.5	88		2.8
39		40.1	89		1.7
40		29.2	90		0.137
41		4.9	91		0.154

42		19.9	92		35.9
43		22.8	93		6.6
44		22.4	94		22.5
45		22.0	95		16.4
46		18.8	96		138
47		21.2	97		71.4
48		7.2	98		57.5
49		>100	99		84.2
50		>100	100		57.3

RESUME

TITLE: Theoretical study of the interactions involved in the inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* methionine aminopeptidase by several molecules

Abstract

With the development of computer tools in the past 20 years, molecular modeling and more precisely the molecular docking has quickly entered the area of biological research.

Two programs of molecular docking, Surflex and GOLD, have been developed to assist in the development of molecules with therapeutic activity. With the RMSD values lower than 2 Å and the coefficient of correlation close to 1, the performances of the Surflex and GOLD softwares are clearly proven and perfectly adapted to the different molecular structures used in this study. They have been used to study the inhibition of 3IU7, a methionine aminopeptidase belonging to *Mycobacterium tuberculosis*, by various molecules of ligands from the literature aimed to find new anti-tuberculosis drugs. The evaluation of the affinity and the energy of interaction of these molecules made it possible to release those presenting the best inhibiting effect, in accordance with IC50 values obtained from the literature. It is the compound TO7, which the values of fitness and affinity are respectively of 57.35 and 3.10 M⁻¹. The study of *Mycobacterium tuberculosis* MetAP inhibition by Bengamide derivatives allowed to identify new potential candidate with low molecular weight: The compound Y02. The values of affinity and fitness are respectively of 5.73 M⁻¹ and 77.11. The interactions responsible for the stability of the various complexes are Van der Waals and hydrogen bonds type.

Keywords: Protein-ligand interactions, molecular docking, Surflex, GOLD, RMSD, the coefficient of correlation, methionine aminopeptidase.

عنوان : دراسة نظرية للتفاعلات التي تحدث عند تثبيط الميثيونين أمينوببتيداز عند
Mycobacterium tuberculosis

بواسطة جزيئات مختلفة

الملخص

مع تطور أدوات تكنولوجيا المعلومات في السنوات الـ 20 الماضية، دخلت النمذجة الجزيئية وبشكل أكثر دقة الرس الجزيئي بسرعة في مجال البحوث البيولوجية.

برنامجي الرس الجزيئي Surflex وGOLD، طوراً للمساعدة في اكتشاف الجزيئات ذات النشاطات العلاجية. مع قيم RMSD أقل من 2 Å ومعامل الارتباط يقترب من 1، تثبت بشكل واضح أن البرنامجين Surflex وGOLD لهما فعالية عالية و بإمكانهما التكيف تماماً مع الهياكل الجزيئية المختلفة المستخدمة في هذه الدراسة. قد استعملا لدراسة تثبيط 3IU7 أي الميثيونين أمينوببتيداز الموجودة عند *Mycobacterium tuberculosis* بعدة جزيئات مختلفة من أجل اكتشاف أدوية جديدة مضادة للسلس، تحديد قيم التقارب و طاقة الارتباط بين هذه الجزيئات سمحت بتحديد أفضل مثبط ووفقاً لقيم IC50 المحصل عليها من المجالات العلمية. هذا المركب هو TO7، قيم التقارب و طاقة الارتباط هي على التوالي 3.10 M^{-1} و 57.35 . دراسة تثبيط MetAP بواسطة مشتقات Bengamide سمح بتحديد مرشح محتمل بوزن جزيئي منخفض: المركب Y02. قيم التقارب و طاقة الارتباط هي على التوالي 5.73 M^{-1} و 77.11 . التفاعلات المسؤولة عن استقرار مختلف المركبات هي عبارة عن روابط هيدروجينية و روابط Van der Waals.

الكلمات المفتاحية: التفاعل بروتين-رابط، الرس الجزيئي، Surflex، GOLD، RMSD، معامل الارتباط، الميثيونين أمينوببتيداز.

Thème : Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de *Mycobacterium tuberculosis* par diverses molécules.

Résumé

Avec le développement des outils informatiques dans les 20 dernières années, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire (arrimage moléculaire) a très vite pénétré le domaine de la recherche en biologie.

Les deux programmes d'arrimage moléculaire, Surflex et GOLD, ont été développés pour aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique. Avec des valeurs du RMSD inférieures à 2 Å et du coefficient de corrélation se rapprochant de 1, les performances des logiciels Surflex et GOLD sont nettement avérées et s'adaptent parfaitement aux différentes structures moléculaires retenues dans cette étude. Ils ont été utilisés pour étudier l'inhibition de la 3IU7, une méthionine aminopeptidase appartenant à *Mycobacterium tuberculosis*, par diverses molécules provenant de la littérature dans le but de découvrir de nouveaux antituberculeux. L'évaluation de l'affinité et de l'énergie d'interaction de ces molécules a permis de dégager celles présentant le meilleur effet inhibiteur, en accord avec les valeurs des IC50 obtenues à partir de la littérature. Il s'agit du composé TO7, dont les valeurs de la fitness et de l'affinité sont respectivement de 57.35 et 3.10 M⁻¹. L'étude de l'inhibition de la MetAP par les dérivés du Bengamide a permis d'identifier un nouveau candidat potentiel de faible poids moléculaire : le composé Y02. Les valeurs de son affinité et de fitness sont respectivement de 5.73 M⁻¹ et 77.11. Les interactions responsables de la stabilité des différents complexes sont de type Van der Waals et liaisons hydrogène.

Mots clés : Interaction protéine-ligand, docking moléculaire, Surflex, GOLD, RMSD, le coefficient de corrélation, la méthionine aminopeptidase.

Thème : Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de *Mycobacterium tuberculosis* par diverses molécules

Résumé

Avec le développement des outils informatiques dans les 20 dernières années, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire (arrimage moléculaire) a très vite pénétré le domaine de la recherche en biologie.

Les deux programmes d'arrimage moléculaire, Surflex et GOLD, ont été développés pour aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique. Avec des valeurs du RMSD inférieures à 2 Å et du coefficient de corrélation se rapprochant de 1, les performances des logiciels Surflex et GOLD sont nettement avérées et s'adaptent parfaitement aux différentes structures moléculaires retenues dans cette étude. Ils ont été utilisés pour étudier l'inhibition de la 3IU7, une méthionine aminopeptidase appartenant à *Mycobacterium tuberculosis*, par diverses molécules provenant de la littérature dans le but de découvrir de nouveaux antituberculeux. L'évaluation de l'affinité et de l'énergie d'interaction de ces molécules a permis de dégager celles présentant le meilleur effet inhibiteur, en accord avec les valeurs des IC50 obtenues à partir de la littérature. Il s'agit du composé TO7, dont les valeurs de la fitness et de l'affinité sont respectivement de 57.35 et 3.10 M⁻¹. L'étude de l'inhibition de la MetAP par les dérivés du Bengamide a permis d'identifier un nouveau candidat potentiel de faible poids moléculaire : le composé Y02. Les valeurs de son affinité et de fitness sont respectivement de 5.73 M⁻¹ et 77.11. Les interactions responsables de la stabilité des différents complexes sont de type Van der Waals et liaisons hydrogène.

Mots clés : Interaction protéine-ligand, docking moléculaire, Surflex, GOLD, RMSD, le coefficient de corrélation, la méthionine aminopeptidase.

Devant le jury :

Président :	M ^{me} . MECHAKRA A.	Professeur	Univ. Mentouri Constantine
Rapporteur :	Mr. CHIKHI A.	Maître de conférences	Univ. Mentouri Constantine
Examineurs :	Mr. BENSEGUENI A.	Maître de conférences	Univ. Mentouri Constantine
	Mr. BOUDAH A.	Maître de conférences	Univ. Mentouri Constantine