

République Algérienne Démocratique et Populaire
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MENTOURI CONSTANTINE
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

N° d'Ordre : 183/T.E/2007
N° de Série : 10/S.N/2007

THESE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DOPLÔME DE
DOCTORAT D'ETAT EN MICROBIOLOGIE

THEME

*CALCULS ET MODELISATIONS DES INTERACTIONS PEPTIDE DEFORMYLASE –
SUBSTANCES ANTIBACTERIENNES A L'AIDE DE TECHNIQUES DE "DOCKING"
(ARRIMAGE) MOLECULAIRE*

Présentée par
CHIKHI ABDELOUAHAB

Soutenue le 30 Décembre 2007

Devant le jury :

| | | |
|--------------|-----------------------|---|
| Président : | Mr DOUADI. KHELIFI | Professeur Université de Constantine |
| Rapporteur : | Mr MUSTAPHA BENCHARIF | Professeur Université de Constantine |
| Examineurs : | Mr HAMID AIT AMAR | Professeur U.S.T.H.B. Alger |
| | Mr ABDELHADI GUECHI | Professeur Université F. Abbas Sétif |
| | Mr MESBAH LAHOUEL | Maître de conférences Université de Jijel |

A MA MÈRE

A MON ÉPOUSE ET MES ENFANTS

À TOUTE MA FAMILLE

A MES AMIS

A LA MÉMOIRE DE MON REGRETTÉ PÈRE

Je tiens à remercier :

_ Monsieur le Professeur Bencharif mustapha pour avoir dirigé mes travaux, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et pour toute l'aide qu'il m'a accordée.

_ Monsieur le Professeur Boulahrouf Abderrahmane pour son aide dans ce travail, ses précieux conseils et sa grande disponibilité.

_ Monsieur le Professeur Khelifi Douadi pour avoir accepté la charge de présider mon jury.

_ Monsieur le Professeur Aït Amar Hamid qui m'a fait l'honneur de participer à mon jury.

_Monsieur le Professeur Guechi Abdelhadi qui a accepté de juger mes travaux en participant à mon jury.

_Monsieur le Docteur Lahouel Mesbah qui m'a fait l'honneur d'assister à mon jury et juger mes travaux.

_ Monsieur le Professeur David Perahia pour l'accueil qu'il m'a réservé et pour le temps qu'il m'a consacré au niveau du laboratoire de biochimie et de biophysique moléculaire et cellulaire (Université d'Orsay, Paris-sud).

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| - INTRODUCTION..... | 8 |
| - Chapitre 1 : Docking moléculaire..... | 12 |
| 1. Principes..... | 12 |
| 1.1. Approche combinatoire..... | 12 |
| 1.2. Approche stochastique..... | 12 |
| 1.3. Approche déterministe..... | 13 |
| 2. Obtention des structures..... | 14 |
| 3. Applications..... | 14 |
| 4. Programmes utilisés..... | 15 |
| 4.1. FlexX..... | 15 |
| 4.1.1. Flexibilité conformationnelle du ligand..... | 16 |
| 4.1.2. Interaction protéine-ligand | 17 |
| 4.1.2.1. La modélisation de l'interaction..... | 17 |
| 4.1.2.2. Les différentes étapes de docking..... | 19 |
| 4.1.3. Fonction de score..... | 22 |
| 4.1.3.1. Généralités..... | 22 |
| 4.1.3.2. La fonction de score..... | 23 |
| 4.2. Surflex..... | 24 |
| - Chapitre 2 : Méthodes de score ou estimation de l'enthalpie libre d'interaction..... | 26 |
| 1. Méthodes semi-empiriques..... | 26 |
| 2. Méthodes empiriques..... | 27 |
| 3. Potentiels basés sur des connaissances..... | 28 |
| 4. basé sur le premier principe de la thermodynamique..... | 29 |
| - Chapitre 3 : La peptide déformylase..... | 30 |
| 1. Généralités..... | 30 |
| 2. Sources de la PDF..... | 31 |
| 2.1. PDFs bactériennes..... | 31 |

| | |
|--|----|
| 2.2. PDFs des parasites..... | 33 |
| 3. Structure de la peptide déformylase..... | 35 |
| 4. Classification des PDFs (arbre phylogénétique des PDFs)..... | 39 |
| 4.1. Les PDFs des Eucaryotes supérieurs..... | 42 |
| 4.2. Les PDFs des Eukaryotes inférieurs..... | 42 |
| 4.3. Les PDFs orthologues des Archae..... | 42 |
| - Chapitre 4 : Les inhibiteurs de la peptide déformylase..... | 45 |
| 1. Recherche de nouveaux antibactériens..... | 45 |
| 2. Les différentes classes d'inhibiteurs..... | 46 |
| 2.1. Généralités..... | 46 |
| 2.2. Inhibiteurs à faible ou sans activité antibactérienne (Classe I)..... | 47 |
| 2.3. Inhibiteurs possédant une activité antibactérienne (Classe II)..... | 48 |
| 2.4. Inhibiteurs de la PDF actifs <u>in vivo</u> (Classe III)..... | 49 |
| 2.5. Autres inhibiteurs de la PDF..... | 49 |
| - Chapitre 5 : Matériel et méthodes..... | 52 |
| 1. Banque de données des protéines..... | 52 |
| 2. Tests d'évaluation des programmes utilisés..... | 52 |
| 2.1. Préparation des molécules à l'arrimage..... | 52 |
| 2.2. Programmes utilisés..... | 52 |
| 2.2.1. Arguslab..... | 52 |
| 2.2.2. FlexX..... | 53 |
| 2.2.3. Surflex..... | 54 |
| 3. Inhibition de la 1bsj..... | 55 |
| 3.1. Choix de la 1bsj..... | 55 |
| 3.2. Règle de Christopher A. Lipinski..... | 55 |
| 3.3. Inhibition de la 1BSJ par divers inhibiteurs connus..... | 56 |
| 4. Essais de modélisation..... | 56 |
| 4.1. Les Ligands et leurs similaires..... | 56 |
| 4.2. Les mono et bi substitutions de l'actinonin..... | 58 |
| 5. Etude comparative de l'activité inhibitrice de deux nouvelles classes de molécules non peptidiques, testées in vitro, avec l'actinonin..... | 59 |
| 5.1. Dérivés de l'acide isoxazole-3-hydroxamique..... | 59 |
| 5.2. Composés agissant spécifiquement sur les PDF bactériennes (noyau indole et ses dérivés)..... | 60 |

| | |
|--|-----|
| - Chapitre 6 : Résultats | 65 |
| 1. Fiabilité des programmes utilisés..... | 65 |
| 2. Inhibition de la 1bsj | 68 |
| 2.1. Règle de Lipinski | 68 |
| 2.2. Inhibition de la PDF par les 5 composés connus..... | 68 |
| 3. Essais de modélisation..... | 73 |
| 3.1. Ligands et similaires..... | 73 |
| 3.2. Substitutions effectuées sur l'actinonin..... | 79 |
| 3.2.1. Mono substitutions..... | 79 |
| 3.2.2. Bi substitutions..... | 83 |
| 4. Etude comparative par Surfex de l'activité inhibitrice de deux nouvelles classes de molécules non peptidiques testées « in vitro » | 88 |
| 4.1 Dérivés de l'acide isoxazole-3-hydroxamique..... | 88 |
| 4.2 Composés agissant spécifiquement sur les PDFs bactériennes..... | 90 |
| - DISCUSSION..... | 92 |
| - CONCLUSION..... | 95 |
| | |
| - REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 98 |
| | |
| - ANNEXES..... | 111 |

THEME

Calculs et Modélisations des interactions peptide déformylase-substances antibactériennes à l'aide de technique de "docking" (arrimage) moléculaire.

INTRODUCTION

La recherche en biologie ne peut, actuellement, se passer des outils informatiques pour traiter le flot de données produites et optimiser ses avancées. L'un de ces outils est la modélisation moléculaire et plus précisément l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme anglo-saxon "docking"). L'emploi initial du "docking" moléculaire a été de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand [1,2].

Les succès dans ce domaine et l'essor des techniques de chimie combinatoire ainsi que l'exploitation systématique de la diversité chimique provenant d'autres cibles ont élargi son utilisation à l'optimisation de molécule et au criblage de bases de données. Ainsi cette méthode, permettant de cribler des milliers de composés pour une protéine cible, est couramment utilisée en pharmacochimie pour l'obtention de nouveaux médicaments. Une telle approche serait difficilement réalisable en biologie traditionnelle où le récepteur est classiquement une protéine ou un oligomère de protéine et le ligand est une petite molécule.

Tous les programmes de "docking" peuvent se décomposer en deux étapes, la partie de recherche des conformations possibles du ligand et la partie d'évaluation de ces conformations ou fonction de score. Celle-ci doit permettre d'attribuer le meilleur score au complexe le plus réaliste déterminé expérimentalement. Pour effectuer ce choix la fonction de score est basée classiquement sur la complémentarité stérique des fonctions et des groupements chimiques. Il existe de nombreuses fonctions de score mais envisager tous les paramètres physico-chimiques qui entrent en jeu dans les interactions intermoléculaires est pour l'instant irréalisable.

Cependant, parmi les forces en jeu, certaines sont plus importantes que d'autres. Ainsi les liaisons hydrogène constituent une des composantes jouant un rôle primordial dans les interactions intermoléculaires. Ceci est dû principalement à l'ubiquité des groupements polaires dans les macromolécules biologiques.

Le premier objectif de ce travail est d'évaluer les programmes disponibles pour effectuer un "docking" moléculaire entre une protéine enzymatique et des ligands divers. Pour cela, trois programmes parmi les plus utilisés actuellement ont été choisis : Arguslab, FlexX et Surflex. Il s'agit là d'une approche " *in silico* " de la biologie traditionnelle qui complète les approches classiques " *in situ* " (dans le milieu naturel), " *in vivo* " (dans l'organisme vivant) et " *in vitro* " (en éprouvette).

Dans l'étude réalisée ici la protéine est la peptide déformylase (PDF), enzyme essentielle chez une grande variété de microorganismes pathogènes mais qui n'est pas requise pour la synthèse protéique cytoplasmique chez les eucaryotes et constitue ainsi une cible potentielle intéressante pour les agents antimicrobiens [3]. Les ligands sont des composés organiques divers pouvant jouer le rôle d'inhibiteur de l'enzyme.

Ces dix dernières années, une partie substantielle du programme de découverte de médicaments antimicrobiens de l'industrie pharmaceutique a été consacrée à l'identification de nouvelles classes de molécules antibactériennes, par opposition à l'amélioration du pouvoir ou du spectre d'action des classes existantes. Ce changement de stratégie a été mené en raison de l'importance du problème de la résistance et du besoin conséquent de nouveaux médicaments présentant des mécanismes différents et insensibles aux antibactériens existants [4].

En effet, Les maladies infectieuses causées par les bactéries, les moisissures et d'autres organismes parasites affectent des centaines de millions de personnes à travers le monde et entraînent des millions de décès chaque année.

Ainsi, le second objectif porte sur l'étude de l'inhibition de la peptide déformylase par une grande variété de molécules, peptidiques et non peptidiques, dans le but de découvrir de nouveaux antibiotiques.

Par cette étude, nous essayons 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 arrimage et criblage virtuel de la peptide déformylase (PDF) à l'aide de simulations sur ordinateur.

De plus, par ce travail, nous souhaitons acquérir des compétences en "docking" moléculaire de façon à pouvoir développer cette nouvelle technique à l'université de Constantine.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

- CHAPITRE I -

DOCKING MOLECULAIRE

1. PRINCIPES

Le plus important problème pour l'étape de Docking est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel. La complexité de ce problème est fonction du nombre de degrés de liberté, de translation, de rotation en plus des conformations de départ possibles du ligand. Afin d'éviter des calculs que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants, plusieurs approximations sont possibles. Les algorithmes de recherche de la flexibilité du ligand peuvent se classer en trois principes, nommés combinatoire, stochastique, et déterministe.

1.1. L'approche combinatoire

Cette approche est basée sur des grilles de valeurs pour chaque degré de liberté, et chacune de ces grilles est explorée de manière combinatoire au cours de la recherche. En raison de l'effet combinatoire, le nombre d'évaluations augmente bien plus rapidement que le nombre de degrés de liberté. Pour cela, des critères de fin sont imposés pour éviter à l'algorithme de parcourir des portions de l'espace qui ne mèneraient qu'à de mauvaises solutions.

Dans un premier temps le ligand est découpé en parties rigides et flexibles. Entre les points où des rotations sont possibles, une ou plusieurs «ancres» rigides sont définies, ensuite une première partie rigide est mise en interaction avec le récepteur puis les parties flexibles sont ajoutées de manière successive avec une exploration des angles de torsion. Le plus important est le choix des fragments de base à placer en premier dans le site car il est très difficile pour les algorithmes de compenser une mauvaise position initiale. Les différentes implémentations changent par la manière dont le premier segment rigide est placé dans le site et dans les procédures d'élimination quand le nombre d'angles de rotation augmente. Nous supposons que la position du segment rigide de départ ou ancre fait partie des n positions de plus basse énergie possible. Le nombre n détermine la largeur de l'arbre de recherche. Cette hypothèse peut s'avérer être un biais dans le cas de petits segments 'ancres' car ceux-ci sont susceptibles de s'adapter à de nombreux endroits à la surface du récepteur entraînant la construction de branches sans intérêt. Cette méthode a été incorporée dans plusieurs programmes dont Dock [5] et FlexX [6]. Le programme FlexX positionne l'ancre à partir d'une modélisation des interactions chimiques et effectue une sélection automatique des fragments de base [7,8]. Les fragments sont ajoutés de manière incrémentale. Chaque angle possible est construit et les angles qui produisent des recouvrements avec le récepteur ou des conflits internes sont rejetés. A chaque ajout, le calcul de l'énergie est pratiqué et les molécules partiellement construites sont classées. Cette procédure est répétée jusqu'à la construction complète de la molécule.

1.2. L'approche stochastique

L'approche stochastique consiste à effectuer des changements aléatoires dans la structure tridimensionnelle du ligand. Habituellement il s'agit de modifier un degré de liberté à chaque fois. L'un des points faibles de cette méthode est l'incertitude de convergence. Pour l'éviter, il faut multiplier les calculs, indépendamment les uns des autres. Un des principaux algorithmes stochastiques est la méthode de Monte Carlo [9].

Pour la méthode de Monte Carlo le ligand est considéré dans son ensemble et les changements s'effectuent aussi bien sur les translations, les rotations que sur les torsions. A chaque mouvement, la molécule est minimisée et son énergie est calculée. Pour déterminer si une structure doit être conservée les programmes se servent du critère de Metropolis [10]. Pour les systèmes macromoléculaires le critère de Metropolis peut s'exprimer ainsi : à partir d'une configuration i , on tire au hasard une configuration j . Cette nouvelle configuration est acceptée avec une probabilité α , qui est la probabilité que le système puisse aller d'un état d'équilibre i vers un état j . La différence d'énergie entre la nouvelle et l'ancienne configuration est calculée. Si la nouvelle configuration est d'énergie plus basse elle est acceptée. En revanche si elle est d'énergie plus haute, un nombre au hasard entre 0 et 1 est tiré, si ce nombre est inférieur à α la nouvelle configuration est acceptée, sinon l'ancienne configuration est gardée. Ce critère est, dans la plupart des cas, très efficace et simple à mettre en œuvre.

Pour obtenir la structure la plus stable ou quand il est raisonnable de penser que la structure de départ est très éloignée de celle de l'interaction, il est possible d'utiliser le recuit simulé. Cette méthode est une variante de la méthode de Monte Carlo qui s'applique particulièrement bien aux macromolécules. Elle consiste à effectuer plusieurs cycles de calculs avec la particularité que le premier cycle sera simulé à haute température et que dans les cycles suivants ce facteur sera progressivement diminué. Chaque nouveau cycle commence avec la meilleure structure du précédent.

Une autre modification possible de Monte Carlo moins employée est la recherche Tabou qui consiste en un critère de choix suivant la zone de l'espace conformationnel où se situe la structure, avec des zones permises et d'autres interdites (tabou), afin de limiter le calcul [11], cette technique se retrouve dans le programme PRO_LEADS.

Le programme ICM [12] utilise des probabilités partielles pour son algorithme de Monte Carlo. Les mouvements de translation et de rotation sont testés par une simulation des mouvements pseudo-brownienne, alors que les mouvements de torsion se basent sur des probabilités partielles. Après chaque cycle une minimisation locale est faite, qui est suivie par un calcul de l'énergie de solvatation et de l'entropie. Le choix se fait selon le critère de Metropolis. Les probabilités partielles sont dérivées du diagramme de Ramachandran de structures connues.

Le programme Glide [13] utilise lui aussi la méthode de Monte Carlo. Il se sert de caractéristiques chimiques pour évaluer la pertinence des structures et faire un choix à chaque cycle, mais afin de réduire l'espace à explorer par Monte Carlo il emploie préalablement plusieurs filtres qui permettent d'éliminer les mauvais contacts notamment polaires ou hydrophobes.

1.3. L'approche déterministe

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

l'état initial. Le problème des systèmes déterministes est qu'ils peuvent facilement rester piégés dans un minimum local car leurs capacités à surmonter des barrières énergétiques sont faibles. Il s'agit de l'approche la plus simple et la plus directe.

L'exemple le plus répandu est la simulation de dynamique moléculaire. Cette méthode est très rarement employée en Docking du fait des moyens qu'elle demande et de son biais pour les minima locaux.

Pour simuler les interactions protéines-ligands, nous avons choisi trois programmes de docking. Il s'agit en premier de deux programmes parmi les plus répandus, FlexX et Surflex [2], qui utilisent une méthode incrémentielle et Arguslab [14] qui utilise des méthodes mixtes.

2. OBTENTION DES STRUCTURES

La majorité des structures protéiques sont disponibles via la «Protein Data Bank » [15], un grand nombre de structures d'une même molécule avec ou sans ligand permet d'avoir une information pertinente. Quand la méthode expérimentale n'est pas possible ou n'a pas été encore réalisée, la solution à envisager en premier est une approche par modélisation comparative [16].

Il s'agit de prédire un modèle d'après d'autres molécules le plus proche possible de celle étudiée et dont les structures sont connues expérimentalement. La conformation d'une protéine étant codée par sa séquence en aminoacides, la première étape est d'effectuer un alignement de séquence pour identifier les molécules similaires. La recherche d'homologues peut s'effectuer principalement par trois voies. En premier lieu la méthode développée par Needleman et Wunsch qui utilise un algorithme de programmation dynamique pour réaliser un alignement global puis celle de Smith et Waterman, semblable à la précédente mais qui réalise des alignements locaux et enfin au moyen de recherches par heuristique, qui permettent de travailler avec un nombre de séquences beaucoup plus grand. Parmi ces méthodes, on peut citer les approches utilisées par les logiciels BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) [17] et FASTA [18].

Il est possible d'obtenir une structure secondaire uniquement à partir de la séquence de la molécule en étudiant la composition locale des séquences et en la comparant à des bases de données dans lesquelles sont identifiées les tendances qu'ont certains acides aminés à former des structures particulières. Mais pour une simulation de Docking cette structure n'est pas suffisante. Une fois l'étape d'alignement effectuée, il est possible de réaliser l'étape de modélisation comparative qui doit produire une structure représentative de la séquence fournie, à l'aide d'un modèle choisi grâce aux homologues qu'il présente avec cette séquence. Plusieurs logiciels existent, nous citons par exemple les programmes Jackal [19] et Modeller [20]. Jackal est composé d'une suite de logiciels permettant la construction d'une structure basée sur une méthode d'évolution artificielle. Modeller permet une modélisation comparative par satisfaction des contraintes spatiales. La précision de la structure obtenue dépend principalement du degré de similarité avec les séquences de référence sélectionnées, ce qui peut poser des problèmes pour la structure globale de la protéine, le taux de similarité n'étant pas constant sur toute la séquence. Ces restrictions font que ces modèles ne sont pas toujours exploitables en Docking moléculaire.

3. APPLICATIONS

Il y a deux principales applications au programme de docking. La plus ancienne est la prédiction du mode d'interaction. La seconde consiste à optimiser des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur. Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer les performances des différents programmes de docking pour chaque application. L'aptitude d'un algorithme à trouver l'emplacement correct du ligand par rapport à son récepteur est habituellement déterminée au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (root-mean-square deviation) du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure du cristal. La valeur admise est une différence maximale de 2 angströms au-delà de laquelle la prédiction est considérée comme non adéquate [21,22]. En général, les erreurs de docking sont dues à un échantillonnage insuffisant ou à une fonction de score inadéquate. Pour savoir de quel type d'erreurs il s'agit, il faut comparer l'énergie la plus basse obtenue par docking avec le score de la structure cristalline. Si le score du complexe de docking est moins favorable à celui de la structure cristalline il s'agit d'un problème de la partie chargée de parcourir l'espace conformationnel. L'échantillonnage dans ce cas est incomplet et n'a pas permis de trouver le conformère correspondant au minimum global d'énergie potentielle [23]. Dans le cas où le score de docking serait bien plus bas que celui de la structure cristalline il s'agit d'une erreur de la fonction de score. Pour remédier à ces problèmes, dans le premier cas il faut augmenter le nombre de conformères évalués, dans le deuxième il faut revoir la fonction de score. Il s'agit là de cas classiques qui supposent que l'espace conformationnel autour de la structure expérimentale est parfaitement parcouru et que la structure cristalline est bien celle correspondant au minimum global d'énergie potentielle. Il faut donc l'adapter selon son propre calcul.

Pour optimiser les molécules à activité pharmacologique, le programme doit être capable de ranger correctement des molécules semblables chimiquement. La fonction de score doit être capable de limiter les faux positifs et les faux négatifs. Pour vérifier la capacité à différencier du logiciel, il faut disposer d'une banque expérimentale de complexes. Il convient d'avoir une structure c

ristallographique pour au moins un complexe protéine-ligand proche des molécules testées.

4. PROGRAMMES UTILISES

4.1. FlexX

FlexX incorpore les concepts de quatre différents programmes appliqués dans le design des médicaments (design basé sur la structure) :

La plus importante étape est la stratégie de docking de ligands flexibles par une voie incrémentielle analogue à celle de Leach et Kuntz qui a été présentée en 1992 [24]. La sélection du fragment de base est une étape interactive durant la prédiction du complexe protéine-ligand exécutée par FlexX [6].

Le principe de la modélisation de l'interaction protéine-ligand est celui de Böhm (1992) utilisé dans son programme LUDI [25]. Les positions du ligand sont calculées selon la géométrie de l'interaction, ces positions sont guidées par les propriétés physico-chimiques du ligand.

Pour estimer l'énergie libre de la liaison et classer les solutions obtenues, une variante de la fonction de Böhm appelée « The scoring function » a été appliquée [26].

Pour manipuler la flexibilité du ligand le programme MIMUMBA, développé par Klebe et Metzner en 1994, est utilisé [27]. Les conformations sont générées par un réseau direct, la longueur de la liaison et les angles sont gardés invariants.

Les conformations retenues sont déterminées pour chaque fragment par une évaluation statistique du CSD (Cambridge Structural Database) [28]. Le récepteur est considéré rigide.

Le processus de la construction incrémentielle est basé sur une stratégie simple : après avoir mis le fragment dans toutes ses conformations possibles et dans tous les placements trouvés dans la première itération, seuls les K meilleurs placements sont pris en considération dans l'itération suivante. Cette stratégie est utilisée dans le programme Grow développé par Moon et Howe en 1991 pour le design des peptides [29].

FlexX est basé sur trois parties majeures [6] : la flexibilité conformationnelle du ligand, les interactions protéine-ligand et la fonction de score utilisée pour classer les solutions ou les résultats générés par FlexX.

4.1.1. Flexibilité conformationnelle du ligand

Le modèle qui décrit la flexibilité du ligand a été développé en 1994 par Klebe et Metzner [27] dans leur programme MIMUMBA. Le rôle de ce programme est de classer les conformations qui ont une basse énergie. Il utilise les valeurs à partir des données de la structure en ce qui concerne la longueur et l'angle de la liaison. Ce programme contient aussi une base de données de 900 fragments moléculaires qui vont être affectés automatiquement à chaque liaison simple par un algorithme appelé « a subgraph matching algorithm ».

4.1.2. Interaction protéine-ligand

Pour attacher un ligand à une protéine (docking) le problème est de prédire la conformation et l'orientation du ligand relative au site actif de la protéine cible. Le docking est la base de la reconnaissance moléculaire et du type de l'interaction. À chaque protéine cible de structure connue le docking se révèle être la clé dans le design de

nouveaux médicaments [26,30-32]. Le ligand est considéré comme une petite molécule organique. Les interactions qui peuvent exister entre cette petite molécule (le ligand) et la protéine sont : des interactions polaires (liaisons hydrogène, liaisons ioniques) et des interactions hydrophobiques (contact entre des groupes hydrophobes).

Les interactions entre la protéine et le ligand suivent le concept de la complémentarité stérique. Récemment d'autres algorithmes, se basant sur le « matching of interacting group », ont été développés [33]. Ces algorithmes sont moins performants car ils modélisent les différentes interactions de la même manière. Pour contourner cette carence la technique utilisée considère trois niveaux de types d'interaction :

- les interactions du 3^{ème} niveau concernent les liaisons hydrogène et les liaisons ioniques, elles sont les plus restrictives géométriquement à cause de leur courte distance H-accepteur ----- H-donneur = 1.9Å.

- les interactions du 2^{ème} niveau sont les interactions hydrophobiques entre le centre d'un cycle aromatique et les atomes d'un autre cycle, d'une amide ou des groupements méthyle. La géométrie de ce type d'interaction est légèrement moins restrictive, on peut alors le séparer des interactions purement hydrophobiques. Des études sur l'interaction protéine-ligand ont montré que ce type d'interaction est le plus fréquent.

- les interactions du 1^{er} niveau sont les contacts hydrophobiques non spécifiques entre les atomes de carbone aliphatique ou aromatique. Ces interactions sont généralement sphériques avec un rayon de 4Å et elles couvrent la plus grande partie du ligand [6,33].

Pour le placement du ligand dans le site actif de la protéine, les interactions du 3^{ème} niveau sont utilisées en premier, ensuite celles du 2^{ème} niveau, et enfin celles du 1^{er} niveau.

4.1.2.1. La modélisation de l'interaction

Le modèle qui décrit les interactions protéine-ligand est inspiré de celui de Böhm (1992) et Klebe (1994) [25,34]. Ce modèle est basé sur les surfaces sphériques, pour chaque groupe ou atome il y a un type d'interaction et une géométrie correspondante [6]. Le tableau 1 suivant définit les différents types d'interaction rencontrés lors de la formation d'un complexe protéine-ligand. Ces types d'interaction sont divisés en groupes et contre groupes. Si le contre groupe n'est pas défini le groupe et le contre groupe sont identiques.

Tab 1 : Différents types d'interaction d'un complexe protéine-ligand.

| Groupe | Contre-groupe | Niveau |
|---------------------|-------------------|--------|
| Carbone aliphatique | | 1 |
| Carbone aromatique | | 1 |
| Sulfure | | 3 |
| H-accepteur | H-donneur | 3 |
| Métal accepteur | Métal | 3 |
| Atome d'un cycle | | 2 |
| Aromatique | Centre d'un cycle | 2 |
| Méthyle | aromatique | 2 |
| Amide | | 2 |

La géométrie de l'interaction consiste en un centre et une surface d'interaction. La surface d'interaction est toujours une surface sphérique (Sphère, cône, rectangle sphérique, chapeau), ou une combinaison entre eux (figure 1) [6].

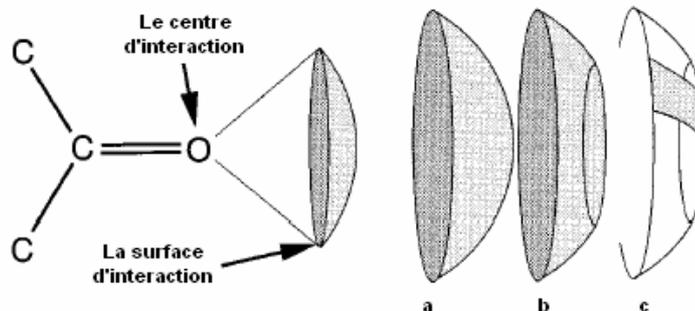


Figure 1. la géométrie de l'interaction. a : cône, b : chapeau, c : rectangle sphérique

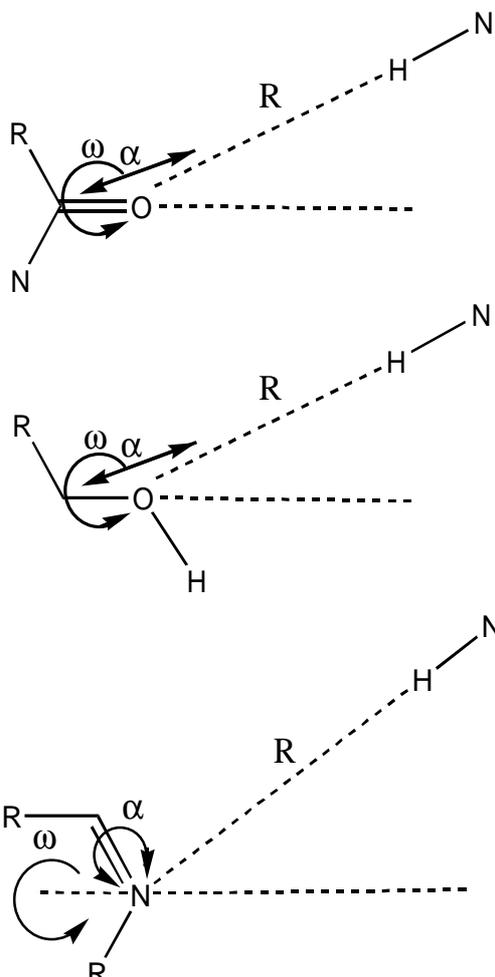
La géométrie de l'interaction est définie par les règles de Böhm, lesquelles sont prises en compte dans la technique utilisée et génèrent les positions des atomes du ligand dans le site actif de la protéine. Le tableau 2 résume quelques groupes fonctionnels avec leurs géométries.

Tab 2 : Groupes fonctionnels avec leurs géométries.

| Groupe fonctionnel | Site d'interaction | Les paramètres géométriques |
|-------------------------|--------------------|---|
| C=O | D-X | $R_{O-D} = 1,9 \text{ \AA}$ $\alpha = 110-180^\circ$ $\omega = 0-360^\circ$ |
| N-H , O-H | A-Y | $R_{H-A} = 1,9 \text{ \AA}$ $\alpha = 150-180^\circ$ $\omega = 0-360^\circ$ |
| N-H(chargé) | A-X | $R_{H-A} = 1,8 \text{ \AA}$ $\alpha = 150-180^\circ$ $\omega = 0-360^\circ$ |
| COO ⁻ | D-X | $R_{O-D} = 1,8 \text{ \AA}$ $\alpha = 100-140^\circ$ $\omega = -50^\circ-50^\circ, 130^\circ-230^\circ$ |
| =N- | D-X | $R_{N-D} = 1,9 \text{ \AA}$ $\alpha = 150-180^\circ$ $\omega 0-360^\circ$ |
| R-O-R(SP ²) | D-X | $R_{O-D} = 1,9 \text{ \AA}$ $\alpha = 100-140^\circ$ |

| | | |
|-------------------------|-----|---|
| | | $\omega = -60^{\circ}-60^{\circ}$ |
| R-O-R(SP ³) | D-X | $R_{O-D} = 1,9 \text{ \AA}$ $\alpha = 90-130^{\circ}$ $\omega = -70^{\circ}-70^{\circ}$ |

Les paramètres R, α , ω sont représentés sur les schémas 1, 2, 3 suivants :



Schémas 1, 2, 3 : définition des paramètres R, α , ω

La géométrie de l'interaction contient le centre de l'interaction, le rayon de l'interaction, et la surface de l'interaction. Les interactions considérées sont celles où :

- les types d'interaction des deux groupes A et B sont compatibles
- le centre d'interaction de A est lié approximativement à la surface d'interaction de B et vice versa (figure 2)

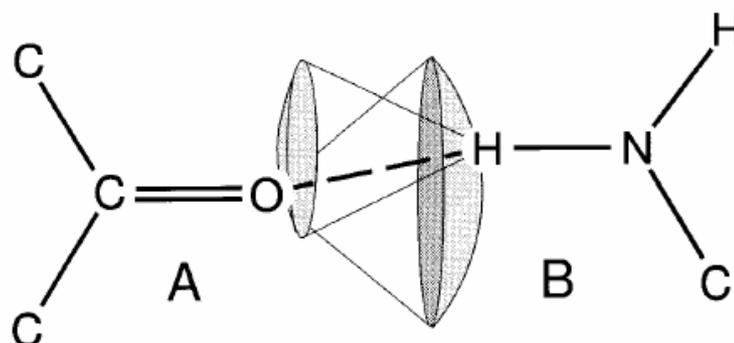


Figure 2. interaction entre A et B

4.1.2.2. Les différentes étapes de docking

L'algorithme de docking est basé sur la stratégie de la construction incrémentielle, elle consiste en trois phases essentielles :

➤ Sélection du fragment de base [6,33]

La première étape du docking est de choisir une partie du ligand qui va interagir en premier avec la protéine, cette partie est appelée « le fragment de base ». La technique de la sélection du fragment de base est la suivante :

- la première étape est la division du ligand en plusieurs composants par l'ouverture des liaisons simples acycliques non terminales. Par définition un fragment est dit valide lorsqu'il constitue la partie qui va se connecter à la protéine, et n'ayant pas plus de 30 conformations [6,15].

- la deuxième étape consiste au classement des fragments valides.

➤ Placement de base

Les algorithmes de placement sont basés sur la technique de « geometric hashing » [33,35-37]. Ces algorithmes sont le "triangle algorithm" (triplet) et le "line algorithm" (paire). Le premier algorithme est utilisé lorsqu'il y a trois interactions compatibles entre le ligand et le récepteur, il s'agit d'un triplet (sous forme de triangle) (figure 3) ; le second est utilisé lorsqu'il y a deux interactions compatibles, dans ce cas il s'agit d'une paire.

Pour des raisons géométriques les surfaces d'interactions du site actif sont présentées par des points (cette idée est similaire à celle développée par Böhm en 1992) [38].

La première étape de cette technique est de générer tous ces points d'interaction dans des cercles où la distance point-point est fixe. Sachant que la distance de la liaison hydrogène et les sels pontés est égale à 1.2 Å et que celle des interactions hydrophobiques est égale à 1.6 Å.

La technique « geometric hashing » traite toutes les paires de points qui ont une distance dans l'intervalle de 0.5 à 10 Å comme suit : le type d'interaction du 1^{er} point, le

type d'interaction du 2^{ème} point et la distance. Elle génère tous les triplets (ou paires) des centres d'interaction du fragment et définit tous les triplets compatibles. On dit que les deux triangles définis précédemment sont compatibles seulement s'ils ont les mêmes longueurs d'arêtes et que leurs sommets ont des types d'interaction compatibles [6] (figure 3).

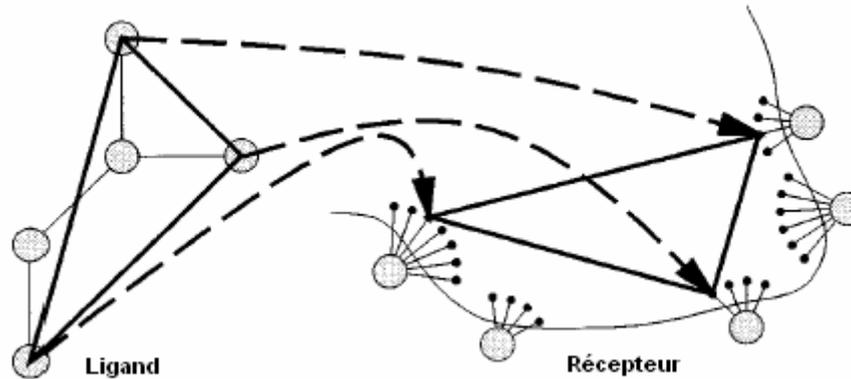


Figure 3. Technique utilisée pour placer le fragment.
Les trois centres d'interaction du ligand (en gris).
Les trois points d'interactions du site actif (en noir).

La deuxième étape est l'ajustement du placement en considérant :

- Les contraintes angulaires ou géométriques (le centre d'interaction du ligand coïncide avec la surface d'interaction du récepteur et vice-versa).
- Le ligand et la protéine (récepteur) ne doivent pas se chevaucher. La liste des placements (positions) obtenus par cette étape contient plusieurs interactions similaires pour deux raisons :
 - Changer un point par un autre proche dans la même surface d'interaction change légèrement l'interaction.
 - Le fragment peut faire plus de trois interactions simultanément.

La troisième étape sert à regrouper tous les placements qui ont un rms de déviation minimale, (rms : root mean square=0.7Å). Ces placements vont converger vers une seule solution, celle qui correspondra à l'orientation finale du ligand [6,39,40].

La dernière étape est un test de chevauchement (l'algorithme ne prend en compte que les placements qui ne se chevauchent pas).

Dans le cas d'un petit fragment de base, il se trouve que les triplets d'interactions soient très rares ou même inexistant, les paires d'interactions vont alors être prises en compte au lieu des triplets. L'interaction va être entre les paires des centres d'interactions du ligand et les paires de points d'interactions du site actif.

Le degré de liberté qui reste (la rotation autour de l'axe défini par la paire de points d'interactions) peut être fixé en tournant le ligand de telle sorte que les deux centres d'interactions du récepteur lient approximativement les deux centres d'interactions du ligand.

Pour réduire le nombre de placements ou positions générés, il suffit de différencier les interactions actives des moins actives (active veut dire qu'elle peut être utilisée par l'algorithme de placement). Pour cela le mode d'activité suivant est considéré :

Mode d'activité

| Condition | Niveau d'interaction | | |
|-----------------------------|----------------------|---|---|
| | 3 | 2 | 1 |
| $n_3 > 1$ & $n_2 > 2$ | A | 1 | i |
| $n_3 > 1$ & $n_2 \leq 2$ | A | 1 | 1 |
| $n_3 \leq 1$ & $n_2 > 2$ | A | a | 1 |
| $n_3 \leq 1$ & $n_2 \leq 2$ | A | a | A |

n_3, n_2 : nombre d'atomes interagissant du 3^{ème} et 2^{ème} niveau ;
 a : active ;
 1 : moins active ;
 i : non active.

➤ Construction du complexe

Le processus de la construction incrémentielle commence juste après avoir placé le fragment de base [6].

Cette technique est représentée par un arbre « technique arborescente » (figure 4) où chaque point représente une position ou un placement d'une partie du ligand [6]. Dans le premier niveau de cet arbre, on trouve les différentes positions du fragment de base, chaque niveau suivant contient des positions alternatives pour les autres fragments du ligand.

L'ordre selon lequel sont ajoutés les fragments reste constant durant toute la construction. S'il y a plusieurs possibilités, le fragment qui forme une liaison hydrogène ou ionique est ajouté en premier puisqu'elles sont les plus restrictives géométriquement. Le but de cette technique est de trouver toutes les positions (placements) qui ont une énergie libre favorable telle qu'elle est estimée par la fonction de score. La taille de cet arbre augmente exponentiellement avec le degré de liberté du ligand. Cette approche est utilisée car elle évite les minima locaux.

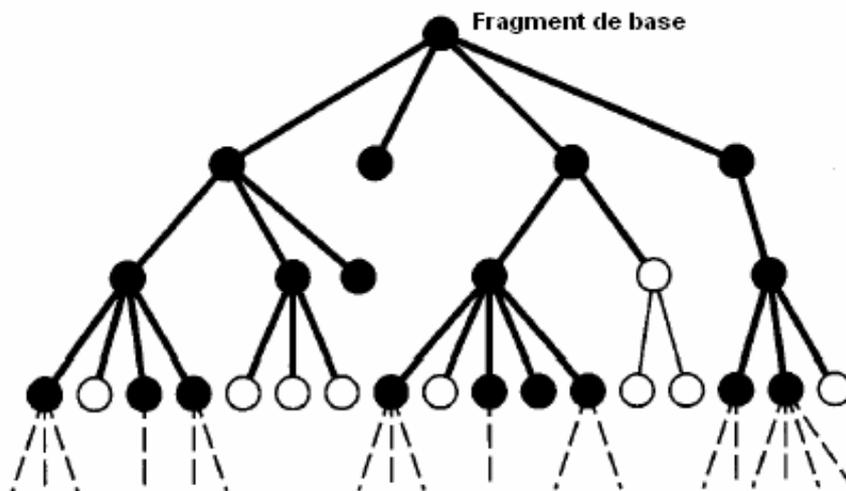


Figure 4. Construction incrémentielle du complexe protéine-ligand. Les placements qui vont être pris en considération dans la prochaine itération sont représentés en noir.

4.1.3. Fonction de score

4.1.3.1. Généralités

La prédiction de la conformation du ligand dans le site actif de la protéine est le plus grand défi du design des drogues basé sur la structure.

Le rôle des algorithmes de docking désignés à exécuter cette tâche est divisé en deux parties essentielles :

- Trouver toutes les conformations, translations, rotations du ligand dans le site actif de la protéine en un temps d'exécution très petit.

- Calculer l'énergie utilisée pour évaluer les interactions entre la protéine et le ligand, et classer les solutions [41,42,43,44].

Donc le défi est de trouver une fonction qui peut incorporer toutes les contributions de l'attachement.

Dans ce domaine plusieurs méthodes ont été développées. Les méthodes de champ de force calculent l'énergie libre ΔG d'un complexe protéine-ligand en utilisant les fonctions développées pour l'affinement de la structure 3D et les méthodes de la dynamique moléculaire.

Parmi ces méthodes :

- La méthode de perturbation de l'énergie libre (FEP) [45,46].
- L'approximation des réponses linéaires (LRA) avec FEP ou les méthodes semi microscopiques [47,48].
- Discretized continuum (DC) [49].

Toutes ces méthodes sont capables de calculer l'énergie libre avec une erreur de l'ordre de 1 à 4 $\log K_i$. Ces méthodes ne peuvent pas donner une prédiction exacte puisqu'elles dépendent de plusieurs paramètres :

- La constante diélectrique dans DC.
- Les coefficients massiques de Van Der Waals dans LRA.

C'est pour cela que des fonctions empiriques « scoring function » sont utilisées [6,38,39,50].

4.1.3.2. La fonction de score

Les fonctions de score sont basées sur le modèle qui inclue toutes les propriétés physico-chimiques de l'interaction protéine-ligand et les convertit en termes calculables pour trouver la constante d'affinité du complexe protéine-ligand (la structure du complexe 3D étant connue). La fonction utilisée dans FlexX est celle de Hans Joachim Böhm modifiée [6,38,51].

Cette fonction contient des termes additifs des énergies des liaisons hydrogène, des interactions ioniques, des contacts lipophiliques et d'entropie du ligand (la flexibilité du ligand), le score est une estimation directe du ΔG : l'énergie libre du complexe protéine-ligand [6,51,52].

Cette approche a présenté beaucoup d'avantages par rapport aux autres fonctions :

- Elle peut être appliquée même dans le cas où il y a des incertitudes dans la structure cristalline de la protéine.
 - Elle représente toutes les contributions entropiques de l'affinité de la liaison.
- L'équation utilisée est la suivante :

Equation 1 $\Delta G = \Delta G_0 + \Delta G_{\text{rot}} N_{\text{rot}} + \Delta G_{\text{hb}} \sum_{\text{liaison H}} f(\Delta R, \Delta \alpha) + \Delta G_{\text{io}} \sum_{\text{contact ionique}} f(\Delta R, \Delta \alpha) + \Delta G_{\text{aro}} \sum f(\Delta R, \Delta \alpha) + \Delta G_{\text{lipo}} \sum_{\text{cont lipo}} f^*(\Delta R)$

Le terme $f(\Delta R, \Delta \alpha)$ est une fonction de pénalité qui sert à calculer la déviation de la géométrie par rapport à la géométrie idéale.

Dans le cas de la liaison hydrogène, ΔR est la variation de la distance de la liaison H---O/N par rapport à sa valeur idéale qui est égale à 1.9 Å. $\Delta \alpha$ est la déviation de l'angle N/O-H---O/N de sa valeur qui est de 180°. En général cette déviation est ajustée par les valeurs suivantes :

$$f(\Delta R, \Delta \alpha) = f_1(\Delta R) f_2(\Delta \alpha)$$

$$f_1(\Delta R) = \begin{cases} 1 & \Delta R \leq 0.2 \text{ \AA} \\ 1 - (\Delta R - 0.2) / 0.4 & 0.2 \text{ \AA} < \Delta R \leq 0.6 \text{ \AA} \\ 0 & \Delta R > 0.6 \text{ \AA} \end{cases}$$

$$f_2(\Delta \alpha) = \begin{cases} 1 & \Delta \alpha \leq 30^\circ \\ 1 - (\Delta \alpha - 30) / 50 & 30^\circ < \Delta \alpha \leq 80^\circ \\ 0 & \Delta \alpha > 80^\circ \end{cases}$$

$f^*(\Delta R)$ est un terme en plus dans la fonction que nous avons utilisé. Il ajuste les contacts dont les distances diffèrent de la distance idéale.

$\Delta R = R - R_0$ dont R est la distance entre deux centres d'interaction.

R_0 est la distance idéale (c'est la somme des rayons de Van Der Waals des deux atomes) [6].

$$\begin{cases} 0 & \Delta R > 0.6 \text{ \AA} \\ 1 - (\Delta R - 0.2) / 0.4 & 0.2 \text{ \AA} < \Delta R \leq 0.6 \text{ \AA} \end{cases}$$

$$f^*(\Delta R) = \begin{cases} 1 & -0.2 \text{ \AA} < \Delta R \leq 0.2 \text{ \AA} \\ 1 - (-\Delta R - 0.2) / 0.4 & -0.6 \text{ \AA} < \Delta R \leq -0.2 \text{ \AA} \\ (\Delta R + 0.6) / 0.2 & \Delta R \leq -0.6 \text{ \AA} \end{cases}$$

ΔG_0 représente l'entropie conformationnelle du ligand (les translations et les rotations du ligand).

ΔG_{hb} représente la contribution de l'énergie fournie par la liaison hydrogène.

ΔG_{io} représente la contribution de l'interaction ionique.

Par rapport à l'équation de Böhm, le terme ΔG_{aro} représente les interactions des cycles aromatiques. Le terme ΔG_{lipo} représente l'énergie de contact lipophile. Dans la fonction originale, cette contribution énergétique est proportionnelle à la surface du contact lipophile. Ce terme est donc la somme de tous les contacts atome-atome.

N_{rot} est le nombre des liaisons acycliques libres du ligand (la molécule peut faire des rotations autour de ces liaisons).

Le meilleur complexe est aussi défini par l'estimation d'autres paramètres

- le nombre d'atomes qui interagissent (détermine le degré de complexité entre la protéine et le ligand) [18].
- RMSD : root mean square deviation : [6,53]

Il exprime la déviation de la structure générée de celle des rayons X.

Les meilleures conformations ont toujours une valeur de $RMSD \leq 2 \text{ \AA}$, "The root mean square deviation" est définie par la formule :

$$\text{Equation 2} \quad RMSD(m_1, m_2) = [1/a \sum_a (C_a^{m_1} - C_a^{m_2})^2]^{1/2}$$

Dont m_1, m_2 sont deux conformations pour la même molécule M , C_a^m est la coordonnée de l'atome a dans une conformation m_x .

- Le pourcentage du clash-score par rapport au total-score qui ne doit pas dépasser 10% pour un bon complexe.

4.2. Surflex

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, à condition de bénéficier d'une structure, ou bien à partir du récepteur sans aucun ligand : il utilise dans ce cas 3 types de fragments CH_4 , $C=O$ 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 [54]. 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.

Ainsi le résultat des configurations retenues pour s'apparier avec le ligand contient des molécules proches de l'alignement initial du ligand qui ont été localement modifiées par le processus de fragmentation. Les fragments de ces configurations sont évalués puis une étape de sélection et de fusion des meilleurs fragments entre configurations permet d'obtenir un « conformère » global. Cette deuxième méthode se montre beaucoup plus rapide que la méthode Hammerhead pour des résultats au moins équivalents.

Dans la version de Surflex que nous avons utilisée (version 1.3), il s'agit de la méthode par défaut.

Pour l'utilisateur, l'emploi du logiciel passe par trois étapes :

- Choisir de quelle manière définir le site actif, soit à partir d'un ligand soit à partir du récepteur.
- Construire la «pseudo-molécule » qui sera la cible de la recherche de similarité.
- Enfin lancer le processus de Docking.

Le résultat est donné sous la forme des 10 meilleurs « conformères » au format mol2. Chaque fichier possède trois scores : le premier d'affinité ; le second correspond au degré de pénétration impropre du ligand dans la protéine appelé «crash score», plus ce score est proche de 0 plus l'interaction est favorable et le troisième ou «polar score» correspond au niveau de contribution des interactions polaires. Plusieurs options, à rentrer en ligne de commande, permettent d'adapter le calcul suivant le nombre de torsions ou suivant l'espace conformationnel à représenter avec la «pseudo-molécule ».

- CHAPITRE 2 -

METHODES DE SCORE OU ESTIMATION DE L'ENTHALPIE LIBRE D'INTERACTION

Les calculs sont effectués par la méthode de perturbation de l'enthalpie libre et celle de l'intégration thermodynamique. Elles utilisent toutes les deux un concept qui consiste à perturber légèrement le complexe et à calculer la différence d'énergie pas à pas. Mais dans la réalité, ce processus est très coûteux en temps de calcul.

Le besoin au cours d'une simulation de Docking d'obtenir un résultat rapide sans trop de perte de qualité conduit à utiliser d'autres fonctions de score. Ces dernières doivent pour le moins permettre de classer les différentes configurations ou ligands les uns par rapport aux autres. Elles doivent, aussi, nous donner un aperçu du mode de fixation du ligand au récepteur.

En comparant les scores calculés dans les mêmes conditions il doit être possible de les utiliser pour comparer l'affinité du ligand pour différentes cibles [55]. Pour être rapide les fonctions de score ne peuvent calculer tous les termes entrant en jeu lors d'interactions électrostatiques. Le plus souvent ce sont les termes se rapportant à l'entropie qui sont négligés. Elles doivent, de plus, être 'tolérantes' vis-à-vis des imprécisions engendrées par le calcul. Toutes ces restrictions expliquent le nombre élevé de fonctions de score disponibles [56-60]. Il n'est pas actuellement possible de prévoir quelle fonction de score employer en fonction du travail exigé et des molécules, seule l'expérimentation permet de faire un choix [60,61].

Les fonctions de score utilisées peuvent être classées en quatre grandes catégories, nommées méthode semi-empirique, méthode empirique, potentiels basés sur des données (*knowledge-based*), méthode basée sur le premier principe de la thermodynamique [62].

1. METHODES SEMI-EMPIRIQUES

Les fonctions de score qui entrent dans cette catégorie adoptent l'idée qu'il est possible de faire une approximation de l'énergie d'interaction sous la forme d'une combinaison linéaire de termes empiriques et quantiques. Il s'agit le plus souvent d'une approximation correcte pourtant toutes les forces impliquées dans la formation du complexe ne sont pas additives.

La fonction de score du programme GOLD comporte trois termes : un terme pour les liaisons hydrogène, un autre pour les interactions de Van Der Waals, le dernier pour l'énergie interne.

A l'origine c'est un potentiel 6-12 qui a été utilisé pour les interactions de Van Der Waals et pour l'énergie interne du ligand [63].

Plus tard ce système a évolué pour attribuer un potentiel 4-8 aux interactions de Van Der Waals [64].

Le terme de liaison hydrogène est basé sur des valeurs empiriques obtenues à partir de la force des liaisons entre différents types d'atomes. Les valeurs des liaisons sont pondérées en fonction de l'angle et de la distance entre les atomes accepteurs et donneurs. L'énergie totale calculée est une pondération de ces trois termes [63].

2. METHODES EMPIRIQUES

Les méthodes empiriques essaient d'estimer l'énergie d'interaction en réunissant de manière intuitive les termes que l'expérience a défini comme fondamentaux.

Classiquement ces termes regroupent les liaisons hydrogène, les interactions ioniques, la surface de contact ligand-récepteur et les contributions entropiques. Ces fonctions doivent autant que possible équilibrer l'influence des deux forces principales que

sont les interactions ioniques et hydrophobes pour pouvoir s'appliquer au plus grand nombre.

Les différents termes sont pondérés par des valeurs obtenues par l'étude expérimentale de l'affinité de structures ligand-récepteur au sein d'un ensemble d'apprentissage. La décomposition de l'énergie en différents termes, bien que cela n'ait pas de base théorique, permet un calcul rapide sans trop de perte de précision. Néanmoins il existe plusieurs désavantages. En premier, il est difficile de savoir quel terme est à prendre en compte exactement suivant le modèle, et comprendre d'où peuvent survenir les erreurs. Deuxièmement, la prédiction de l'enthalpie libre est correcte si les molécules en jeu suivent un processus d'interaction semblable à celui de l'ensemble d'apprentissage. Il y a une dépendance vis-à-vis du modèle au niveau des valeurs de pondération. Troisièmement, le pH, la concentration en sel et la température peuvent influencer la mesure de la constante d'affinité de manière conséquente. Pourtant ces conditions sont le plus souvent ignorées lors du calcul de l'enthalpie libre à partir de données expérimentales. Ceci limite la précision des prédictions faites à partir de ces valeurs. Afin d'accélérer le calcul du score, des grilles de score sont souvent précalculées. La grille est appliquée sur le récepteur et chaque maille contient la résultante des atomes voisins.

La première fonction de score développée pour l'étude de l'enthalpie libre d'interaction a été implémentée dans LUDI [62]. Elle provient de l'étude de l'enthalpie libre d'interaction sur 45 complexes dont la constante d'affinité a été publiée. L'enthalpie libre est modélisée à partir de l'utilisation des ponts hydrogène, des ponts salin, de l'effet hydrophobe et d'un terme représentant l'entropie du soluté (Equation 3).

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_o + \Delta G_{hb} \sum_{h-bonds} f(\Delta R, \Delta\alpha) + \Delta G_{ionic} \sum_{ionic\ int.} f(\Delta R, \Delta\alpha) + \Delta G_{lipo} |A_{lipo}| + \Delta G_{rot} NROT.$$

Les termes des ponts hydrogènes et salins sont accompagnés d'une fonction de pénalité $f(\Delta R, \Delta\alpha)$ pour tenir compte des importantes déviations autour des valeurs idéales de longueurs et d'angles de ces ponts.

Les interactions hydrophobes sont basées sur la surface d'interaction hydrophobe entre le ligand et le récepteur.

Le calcul de la perte d'entropie du ligand lors de la formation du complexe est basé sur le nombre d'angles de torsion NROT.

Le terme ΔG_o prend en compte les pertes d'entropie liées aux translations et rotations. Le modèle présenté ici a été amélioré par la suite pour mieux prendre en compte les ponts hydrogènes et salins.

D'autres termes ont été ajoutés pour les répulsions électrostatiques à longue distance, les interactions π - π dans les cycles aromatiques [27]. C'est le type de fonction utilisée par FlexX.

3. POTENTIELS BASES SUR DES CONNAISSANCES

Ils dérivent de données statistiques obtenues par l'analyse expérimentale des fréquences d'interaction entre atomes au sein de complexes protéine-ligand.

Cette dérivation de fonctions d'énergie depuis des données expérimentales en utilisant les concepts de la mécanique statistique est basée sur deux principes fondamentaux.

En premier il est admis que le complexe protéine-ligand est dans un état thermodynamique d'équilibre et que cet état représente le minimum global d'enthalpie libre du complexe.

Deuxièmement, la distribution des molécules à l'état microscopique obéit à la loi de Boltzmann. Il existe donc une corrélation entre l'énergie potentielle d'un système et la probabilité de trouver une molécule ou un complexe dans un état microscopique donné. Si ces fréquences sont converties en enthalpie libre grâce à une distribution de Boltzmann, les potentiels sont nommés 'potentiels de force moyenne' (potential of mean force : PMF).

Le PMF a été en premier employé pour les simulations de repliements de protéines et ensuite pour celles d'interactions protéine-ligand [65,66]. Mais, alors que pour les processus de repliement seul un ou deux points par aminoacide sont pris en compte, les simulations d'interaction requièrent le calcul de tous les atomes.

La principale différence avec les potentiels empiriques est qu'aucune donnée d'interaction de type pont hydrogène, électrostatique ou de solvation n'est nécessaire : les forces mises en jeu sont incorporées de manière implicite. Ce type de fonction est généralement plus tolérant pour les imprécisions des complexes. Pour la construction du PMF il y a deux aspects importants. En premier lieu, la définition de l'état de référence. Celui-ci correspond à l'état dans lequel la protéine et le ligand n'interagissent pas entre eux. Des approximations sont souvent faites à ce niveau car il n'est pas toujours possible d'obtenir des structures non liées des complexes qui servent de référence. Dans ce cas l'état de référence est donné à partir d'une valeur spécifique empirique ou d'un potentiel moyen calculé à partir de toutes les données disponibles et avec une correction appropriée. Le deuxième point important est la manière dont sont collectées les statistiques d'interaction. Le plus souvent elles doivent être dépendantes de la distance et permettre de bien dissocier l'état entre deux atomes où l'interaction existe et l'état où elle n'existe pas ou plus. Il est possible de distinguer deux types d'approche pour la prise en compte des distances et des interactions. Une approche grossière, rudimentaire consiste à prendre une distance limite et à considérer qu'en dessous de cette distance il y a interaction et au-delà qu'il n'y a plus d'interaction. Une approche fine évalue le potentiel de manière continue sur la distance interatomique ; pour réduire ces calculs il peut exister une distance limite au-delà de laquelle les interactions sont considérées comme négligeables. Le fait que les forces soient incluses de manière implicite dans le potentiel rend difficile l'identification des problèmes dus à une mauvaise reproduction des valeurs expérimentales. Néanmoins pour le PMF il apparaît qu'il minimise les effets du solvant.

Comme dans le cas empirique ces fonctions sont dépendantes de leurs groupes d'apprentissage. Elles ne peuvent modéliser que les interactions qui existent dans les exemples fournis pour leur élaboration. Et pour ces interactions elles ne reconnaissent que celles qui ne dévient pas trop de leur modèle.

Les différents potentiels varient suivant les types d'atomes définis, la nature et la taille des données expérimentales utilisées, l'échelle des distances inter atomiques parcourues et la variété de celles-ci.

L'un des potentiels les plus simples est le PLP (Piecewise Linear Potential) [67]. Il est basé sur la définition de quatre types d'atomes et prend en compte les interactions stériques et les ponts hydrogène. Un potentiel de torsion calcule l'énergie interne du ligand. Le terme des ponts hydrogène a été ensuite modifié pour y inclure une valeur d'angle [68].

SМоG96 (Small Molecule Growth) est un PMF utilisé pour la conception *de novo* de ligand [69]. Il a été obtenu à partir de 126 structures issues de la PDB avec comme but un résultat rapide. De ce fait son potentiel est assez grossier. Les distances atomiques sont prises en compte en dessous de 5 angströms. L'état de référence est défini comme

un complexe entre le ligand et la protéine placés au hasard et qui n'interagissent pas. Le potentiel de référence est une moyenne des potentiels de chaque type d'atome. Une mise à jour, nommée SMOG2001 a été faite à partir de 725 complexes en modifiant la procédure de traitement des paires d'atomes. Dans la dernière version, chaque paire d'atomes conduit à deux potentiels de distance différents [70].

BLEEP (Biomolecular Ligand Energy Evaluation Protocol) comporte 2 potentiels (BLEEP-1 et BLEEP-2) [71]. BLEEP-1 est dérivé d'un ensemble de 351 structures de complexes non-homologues issus de la PDB et ne contient pas de terme pour les interactions ligand-solvant. BLEEP-2 est dérivé de 188 structures de la PDB et prend en compte les interactions avec l'eau. Dans les deux cas, il s'agit de potentiels fins dont la distance limite des interactions est de 8 angströms. De plus, des potentiels pour les paires d'atomes métalliques ont été dérivés de l'étude de 198 structures de la PDB. A l'inverse de beaucoup de potentiels basés sur des données, BLEEP ne fait pas de distinction entre les types d'atomes du ligand et de la protéine. Il faut noter que BLEEP-2 se montre plus performant que BLEEP-1 [72].

4. POTENTIELS BASES SUR LE PREMIER PRINCIPE DE LA THERMODYNAMIQUE

Dans ce cas l'entropie est considérée comme négligeable. Ces méthodes estiment la différence d'enthalpie d'interaction d'un complexe en additionnant les contributions individuelles des différents types d'interactions.

Chaque terme est dérivé de la chimie ou de la physique théorique et non pas comme précédemment d'une adaptation de données expérimentales.

Les potentiels obéissant au premier principe de la thermodynamique se basent sur les termes des fonctions des champs de forces. Dans la plupart des cas l'énergie interne du ligand n'est pas prise en compte. Ce manque conduit la plupart des fonctions à surestimer la différence d'enthalpie qu'elles calculent par rapport aux résultats expérimentaux. Le calcul des interactions solvant-soluté s'effectue à l'aide d'un solvant implicite. Dock et AutoDock possèdent des fonctions de score qui utilisent les termes de Coulomb et de Van Der Waals du champ de forces AMBER [73].

- CHAPITRE 3 -

LA PEPTIDE DEFORMYLASE

1. GENERALITES

La disponibilité des séquences du génome microbien, débutant en 1995, a joué un rôle important dans le programme de découverte de médicaments antibactériens en industrie pharmaceutique. Bien que les génomes microbiens aient révélé une abondance de cibles potentiellement intéressantes, peu ont résulté de ce grand effort. Au contraire, la plupart des agents antibactériens récemment découverts et ciblant des enzymes connues ont été identifiés par des méthodes biologiques traditionnelles. Par exemple, il y a quelques années une cible a retenu l'attention des chercheurs, c'est la peptide déformylase bactérienne (PDF, EC 3.5.1.31) [42^{ème} et 44^{ème} meetings de l'ICAAC (*Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*) aux USA].

Effectivement, les inhibiteurs de la peptide déformylase bactérienne occupent une place très importante dans la recherche de nouveaux agents antibactériens pendant trois années consécutives. Le processus de la synthèse protéique chez les bactéries et chez les mammifères est semblable. Les deux utilisent les mêmes aminoacides et codons et ont le même mécanisme pour l'élongation. L'unique différence entre la synthèse protéique bactérienne et la synthèse protéique cytoplasmique chez les mammifères est l'utilisation du N-formylmethionine comme initiateur pour le processus bactérien (figure 5) [74,75].

Tandis que la synthèse cytosolique chez les mammifères est initiée par une méthionine. Le N-formylmethionine est généré par transformylation enzymatique du methionyl-tRNA par la formylmethionine tRNA transférase (FMT) [76,77]. Le N-formylmethionine des protéines bactériennes naissantes est éliminé par la suite par l'action séquentielle de la peptide déformylase et de la méthionine aminopeptidase (MAP) pour fournir la protéine mature [76,78]. Ce cycle formylation-déformylation est retrouvé chez toutes les espèces bactériennes étudiées.

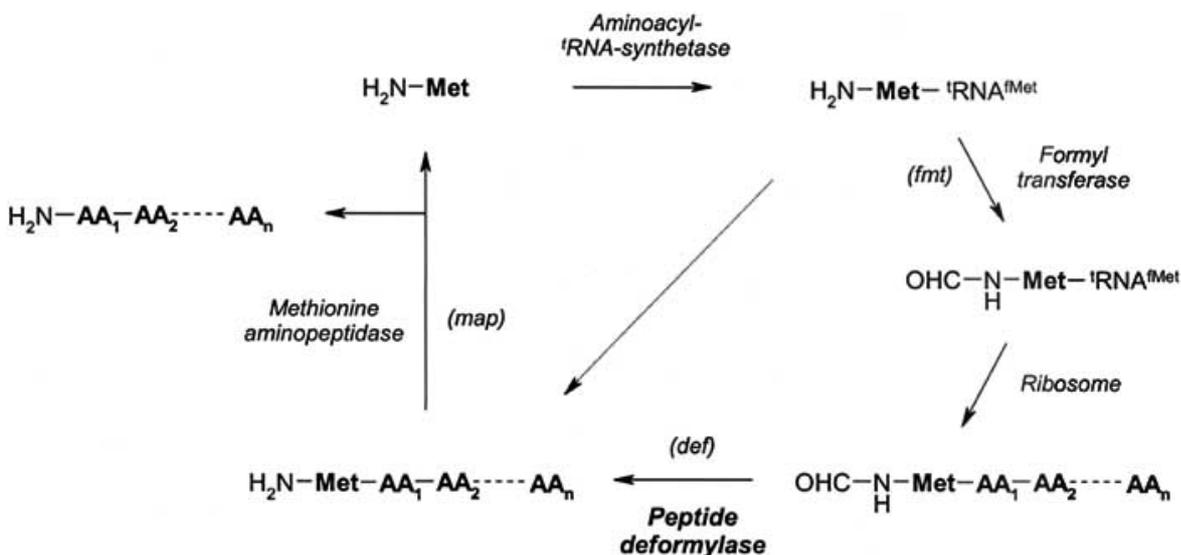


Figure 5. Synthèse protéique chez les bactéries.

Bien que des séquences homologues à la PDF bactérienne aient été identifiées chez les Eucaryotes [79-82], la fonction exacte de ces homologues n'est pas claire et les données actuelles suggèrent que l'inhibition de ce processus chez les mammifères est très faible sauf si l'inhibiteur est utilisé à des concentrations très élevées, lequel probablement guide vers d'autres actions non spécifiques en plus de l'inhibition de la PDF.

Les inhibiteurs spécifiques de la PDF n'exhibent aucune interférence avec la croissance cellulaire chez les mammifères [83]. Cet effet spécifique bactérien de l'inhibition de la PDF dans la synthèse protéique pourvoit une base rationnelle de sélectivité, faisant d'elle une cible attrayante pour la découverte de médicaments antibactériens.

L'activité de la PDF a été rapportée pour la première fois par Adams en 1968 [84]. La PDF n'a été entièrement caractérisée qu'au début des années 1990, quand le gène codant pour la PDF, le *def* a été cloné [85] et la PDF surproduite chez *Escherichia coli* [85,86]. La PDF bactérienne utilise le Fe²⁺ comme l'ion métallique catalytique [87-89]. Cependant, l'ion ferreux de la PDF est très instable et, il est rapidement et irréversiblement oxydé en ion ferrique à l'air libre, rendant ainsi l'enzyme inactive [90].

Heureusement, le fer peut être remplacé par le nickel in vitro, entraînant ainsi une très grande stabilité de l'enzyme avec une faible diminution de l'activité enzymatique [88]. Dans une synthèse bibliographique récente, Giglione *et al.* [91] et Yuan *et al.* [92] font ressortir les caractéristiques biologiques de la PDF et son aptitude comme cible pour la découverte de nouveaux médicaments antibactériens.

Clement *et al.* [93] ont passé en revue le potentiel des inhibiteurs de la PDF à constituer une nouvelle classe d'antibiotiques à large spectre.

2. SOURCES DE LA PDF

2.1. PDFs bactériennes

Bien que l'activité de la PDF bactérienne ait été décrite en premier en 1968 [84], l'incapacité de purifier cette enzyme a empêché les tentatives de sa caractérisation jusqu'au clonage du gène codant la PDF, le *def*, en 1993 [78]. Depuis, les gènes *def* de plusieurs espèces bactériennes ont été clonés et dans de nombreux cas surproduits. Le [tableau 3](#) résume les premiers travaux sur les PDF des différentes bactéries.

Tableau 3. Les PDFs des différentes bactéries d'après R. Jain et al. (2005).

| 1st Author (Year) | Bacteria | Comments |
|---------------------|----------------|--|
| Meinzel [96] (1995) | <i>E. coli</i> | Zn-PDF: First reported purified bacterial PDF with |

| | | |
|-------------------------|---|--|
| | | Zinc as catalytic metal ion |
| Rajagopalan [87] (1997) | <i>E. coli</i> | Fe-PDF: First reported purified ferrous-containing PDF, with much improved specific activity |
| Groche [88] (1998) | <i>E. coli</i> | Ni-PDF: Identification of nickel ion as the surrogate for highly active, and stable enzyme |
| Leiting [102] (1998) | <i>B. subtilis</i> | PDF overexpressed, no detailed enzyme properties Reported |
| Rajagopalan [99] (2000) | <i>E. coli</i> | Co-PDF was suggested as the surrogate for Fe ²⁺ -PDF |
| Margolis [103] (2001) | <i>S. pneumoniae</i> | Ni-PDF overexpressed, no detailed enzyme properties reported |
| Baldwin [100] (2002) | <i>S. aureus</i> | Ni-PDF overexpressed, no detailed enzyme properties reported |
| Li [104] (2002) | <i>L. interrogans</i> | Zn-PDF was purified |
| Guilloteau [101] (2002) | <i>B. stearothermophilus</i> and <i>P. Aeruginosa</i> | Ni-PDF overexpressed, no detailed enzyme properties reported |
| Smith [105] (2003) | <i>H. influenzae</i> | Ni-PDF purified |

Les méthodes pour comparer l'activité des enzymes purifiées sont quelque peu confuses, particulièrement, en termes de substrats utilisés. La méthode la plus communément utilisée est l'essai du couple enzymatique PDF/FDH [94] avec le formyl-Met-Ala-Ser (fMAS) comme substrat, le formate libéré sous l'action de la PDF est oxydé par la formate déshydrogénase (FDH). Ceci résulte de la réduction stœchiométrique d'une molécule de NAD⁺ en NADH, qui provoque successivement une augmentation de l'absorption à 340 nm. Dans de nombreux exemples, le formyl-Met-Ala (fMA) est utilisé comme substrat avec le couple PDF/FDH. Un autre substrat, le formyl-Met-Leu-p-nitroanilide est utilisé avec le couple enzymatique PDF/aminopeptidase [95].

En 1993, le gène *def* de *E. coli* a été produit en quantité suffisante pour la première fois (chez *E. coli*) et la protéine obtenue purifiée par une combinaison de méthodes chromatographiques : gel filtration, échangeuse d'anions,...[78,96]. La protéine purifiée peut facilement éliminer le groupe formyle des différents substrats. Il a été trouvé que l'activité de l'enzyme purifiée était sensible aux chélateurs du métal tels que la 1,10-phénanthroline et l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA), et que la protéine purifiée contenait un ion Zn par polypeptide.

La séquence de la PDF de *E. coli* a été déterminée et un motif de liaison au Zinc caractéristique des métallopeptidases reconnu, HEXXH. Meinel *et al* (1995) ont conclu que la PDF appartenait à la superfamille des Zinc hydrolases [96]. Cependant l'enzyme purifiée avait une activité relativement faible avec un rapport $k_{cat} / K_m = 83 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ en utilisant le fMAS comme substrat.

La PDF à Zinc de *E. coli* a été également purifiée, elle présentait une plus grande activité avec le même substrat ($k_{cat} / K_m = 294 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$) [97]. En 1997, Rajagopalan *et al*.

étaient les premiers à rapporter que la PDF de *E.coli* contenant le fer pouvait être la forme de l'enzyme physiologiquement la plus intéressante. L'enzyme à fer purifiée est instable et perd rapidement son activité au contact de l'air par l'oxydation de son fer en ion ferrique [90]. L'enzyme à fer est environ 100 fois plus active que celle à zinc. Cependant la PDF-Fe de *E.coli* s'est avérée très difficile à utiliser en routine pour la caractérisation de l'enzyme.

Plus tard le nickel a été utilisé pour remplacer le fer afin de produire une enzyme hautement active et stable [88,98]. Alternativement, la PDF à cobalt a également été utilisée comme substitut actif et stable de l'enzyme [99]. Cependant, des études récentes ont montré que la PDF à fer de *S. aureus* peut maintenir son activité pendant plusieurs mois [100].

Actuellement, la PDF à nickel est utilisée pour des études structurales et l'évaluation du potentiel de divers inhibiteurs.

Depuis la découverte que les PDF, dont le fer a été substitué par le nickel ou le cobalt, avaient une activité équivalente à celle de l'enzyme naissante, plusieurs laboratoires ont utilisé ces substitutions pour une surproduction et une purification des protéines déformylases. Actuellement, les déformylases ont été surproduites et purifiées à partir de sept différentes espèces bactériennes au moins. Sur la base des séquences publiées du génome bactérien, deux types de protéines PDF ont été définis : Type I et Type II [101]. Les gènes *def* de *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, qui codent pour les PDF de Type I, et ceux de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus stearothermophilus*, qui codent pour les PDF de Type II, ont été clonés et surexprimés pour une étude comparative de la structure des deux types de PDF.

2.2. PDFs des parasites

Peu de travaux sur les PDFs des parasites ont été effectués. Six maladies tropicales majeures, malaria, filariasis, schistosomiasis, trypanosomiasis Africaine, maladie des Chagas et leishmaniasis, entraînent ensemble plus d'un million de morts chaque année et causent d'énormes souffrances à plusieurs centaines de millions de personnes [106-108]web. La résistance aux traitements actuellement utilisés contre la plupart des agents causant ces maladies est manifestement en augmentation et de nouveaux remèdes sont requis sous peu. La PDF est indispensable chez les eubactéries mais pas chez les humains. Sachant que la plupart des organismes responsables de ces maladies possèdent la PDF, la recherche des inhibiteurs de cette enzyme constitue une voie très prometteuse pour l'avenir.

- Apicomplexa

A ce jour, *Plasmodium falciparum* est la seule espèce du groupe dont la PDF a été décrite [109]. Connaissant la grande conservation des séquences de l'apicoplaste, il existe probablement une séquence unique pour toutes les PDF des Apicomplexa. Aucune preuve directe n'a été fournie concernant la localisation de la PDF de *P. falciparum* dans l'apicoplaste. Cependant, la séquence en aminoacides de cette PDF ressemble à celle de la PDF des chloroplastes et elle est classée dans la même branche que les PDF des chloroplastes des plantes dans l'arbre phylogénétique des PDFs (Fig 2). Une démonstration récente que les PDFs des chloroplastes sont systématiquement ciblées au niveau des plastes des plantes suggère fortement que la PDF de *P. falciparum* est située au niveau de l'apicoplaste [110].

- Trypanosomes

Les trypanosomes causent de nombreuses maladies parasitaires graves. La plus célèbre est la trypanosomiase Africaine ou la maladie du sommeil, qui est transmise par la mouche Tsétsé. Cette maladie est réapparue et constitue le problème de santé majeur dans l'Afrique sub-saharienne. La maladie du sommeil recouvre actuellement deux maladies distinctes avec des signes cliniques différents chez les humains selon la région de l'épidémie. Deux trypanosomes différents en sont responsables : *Trypanosoma brucei gambiense* (nord ouest de l'Afrique) et *T. brucei rhodesiense* (sud est de l'Afrique). La maladie de Chaga est une autre maladie majeure causée par un trypanosome, *Trypanosoma cruzi*, dans le sud de l'Amérique. La Leishmaniose est causée par *Leishmania major* et transmise par les phlébotomes. L'origine, la localisation et la fonction des deux PDFs des trypanosomes sont inconnues. Il a été démontré que la N-formylation des protéines est strictement requise dans les deux types d'organites, les plastes (*Leishmania*) et les mitochondries (*L. major* and *Trypanosoma*). Certains de ces protistes sont photosynthétiques (*Euglena gracilis*) et d'autres non (*Astasia longa*) [111].

- Autres parasites

L'amibe *D. discoideum* possède une PDF qui est vraisemblablement située dans sa mitochondrie [110]. Le génome mitochondrial de cette espèce code un grand nombre de protéines (> 40). A cet égard, il ressemble étroitement au génome des mitochondries des plantes, dans lesquelles la PDF est connue pour être fonctionnelle. Le génome mitochondrial de *Acanthamoeba castellanii* [112] code un nombre similaire de gènes et, sur la base du même raisonnement décrit plus haut, possède vraisemblablement une PDF. Cette amibe est responsable de plusieurs infections opportunistes chez l'homme. Il est également possible que d'autres parasites humains étroitement apparentés, telle l'espèce *Entamoeba* (responsable de plusieurs maladies intestinales), possèdent une PDF qui serait sensible aux médicaments anti-PDF. Aucune séquence de PDF n'a été détectée dans le génome du nématode *C. elegans*. Ceci suggère que les nématodes responsables de la filariose, comme *Brugia malayi*, ne soient pas sensibles aux drogues anti-PDF. De la même façon, bien que l'on connaisse peu de choses sur le nombre de gènes des mitochondries de l'espèce *Shistosoma* [113,114], le génome mitochondrial d'un autre membre apparenté des Platyhelminthes, le turbellarié *Echinococcus multilocularis* [115]web, contient un nombre similaire de gènes que *C. elegans*. C'est pourquoi, ces parasites ne sont probablement pas sensibles aux médicaments anti-PDF.

3. STRUCTURE DE LA PEPTIDE DEFORMYLASE BACTERIENNE

La plupart des structures obtenues sont disponibles via la «Protein Data Bank » [15], le nombre de structures d'une même molécule avec ou sans ligand permet d'avoir une information pertinente. Néanmoins certains cas restent difficiles.

La structure tridimensionnelle de la PDF d'espèces bactériennes variées a été déterminée. En plus des structures de l'enzyme libre, plusieurs structures de complexes enzyme-inhibiteur ont été résolues. Nous retrouvons dans le tableau 4 la liste des différentes structures publiées ; Sans aucun doute cette liste continuera à croître.

La structure de la PDF de *E. coli* contenant du zinc a été initialement résolue par la RMN en 1996 [116] et par cristallographie aux rayons X en 1997 [117]. La réalisation que la PDF contenant du fer est la forme physiologique de l'enzyme, a dirigé l'effort à résoudre la structure 3-D de la Fe-PDF dans l'espoir d'identifier les facteurs qui font que cette forme de l'enzyme est plus active que celle contenant du zinc. La première structure cristalline de la PDF contenant du nickel (Ni-PDF) de *E. coli* a été résolue immédiatement après la découverte que le nickel peut remplacer le fer tout en maintenant intacte l'activité de l'enzyme [118].

Ultérieurement, les structures de la PDF de *E. coli* comportant divers métaux ont été résolues par RMN [119] ou par cristallographie aux rayons X [98]. Des structures de la PDF de *E. coli* cocrystallisées avec les produits de la réaction du tripeptide Met-Ala-Ser [98] et l'inhibiteur actinonin [120] ont été, également, résolues.

Plusieurs laboratoires ont publié des Ni-PDF de *E. coli* cocrystallisées avec des inhibiteurs synthétiques de la PDF tels que le *N*-alkyl hydroxamate d'urée [121], le sulfonylhydroxamique acide [122], les *N*-formyl hydroxylamine peptidiques [120] et les inhibiteurs non peptidiques de la PDF [105].

Récemment, les structures des PDFs de *S. aureus* [100,101], *B. stearothermophilus* [101], et *P. aeruginosa* [101] complexées à l'inhibiteur naturel, l'actinonin, ont été résolues. Ces structures, en même temps que la modélisation, fournissent une plateforme très utile pour la conception des inhibiteurs futurs de la PDF.

Tableau 4. Travaux réalisés sur les structures tridimensionnelles de diverses PDFs d'après R. Jain *et al.* (2005)

| 1st Author (Year) | Type of PDF Used in the study | Comments |
|-------------------------|---|---|
| Meinzel [116] (1996) | <i>E. coli</i> Zn-PDF | First attempt to solve PDF structure by solution NMR. |
| Chan [117] (1997) | <i>E. coli</i> Zn-PDF | First published 3-D PDF structure solved by X-ray crystallography. |
| Becker [118] (1998) | <i>E. coli</i> Ni-PDF, crystal structure | First Ni-PDF structure. |
| Becker [98] (1998) | <i>E. coli</i> Fe-, Ni-, and Zn-PDF or with MAS. | Defined S1' pocket |
| Dardel [119] (1998) | <i>E. coli</i> Ni-PDF. | Solution structures of Zn- and Ni-PDF, suggesting that the difference in catalytic power resulting from the nature of the metal. |
| Apfel [122] (2000) | <i>E. coli</i> Ni-PDF with beta-sulfonylhydroxamic acid | Structure of PDF-synthetic inhibitor complex |
| Clements [120] (2001) | <i>E. coli</i> Ni-PDF, with inhibitors | Structures of PDF complexes with actinonin and <i>N</i> -formyl hydroxylamine inhibitor BB-3479 |
| Hackbarth [121] (2002) | <i>E. coli</i> Ni-PDF complexed with inhibitors | Structure of PDF complexes with VRC4307, an <i>N</i> -alkyl urea hydroxamate inhibitor. |
| Guilloteau [101] (2002) | PDFs from <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. stearothermophilus</i> , and <i>P. aeruginosa</i> . | Extensive comparison of these PDFs and their complexes with actinonin. |
| Baldwin [100] (2002) | <i>S. aureus</i> His-tagged Fe-PDF | X-ray crystal structure of <i>S. aureus</i> ferrous-PDF |
| Smith [105] (2003) | PDFs from <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>H. influenzae</i> and <i>S. pneumoniae</i> . | X-ray crystal structures of PDF from these organisms. It also describes complex Structure of nonpeptidic inhibitor with PDFs from <i>E. coli</i> and <i>S. pneumoniae</i> . |

Une vue générale de la structure tridimensionnelle de la PDF de *E. coli* est présentée dans la [figure 6](#).

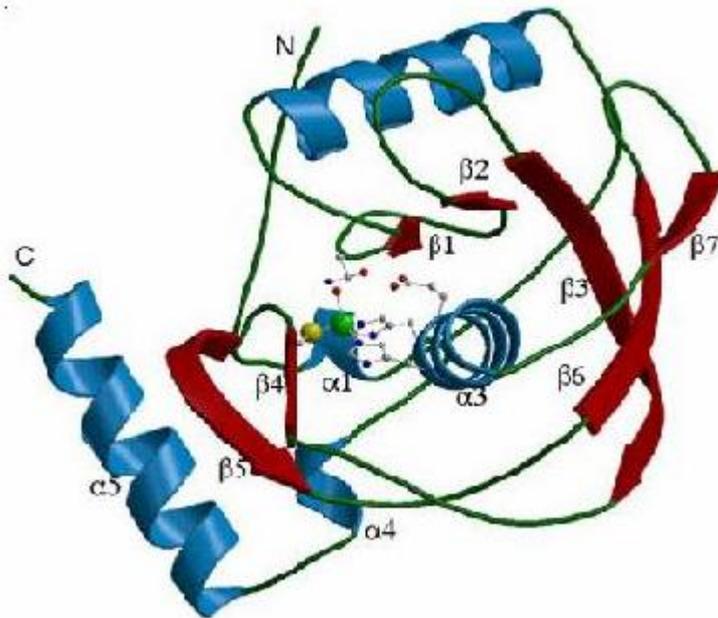


Figure 6. Figure en ruban de la structure de la peptide déformylase de *E. coli*. Les régions de l'hélice α sont montrées en bleu, les feuillets- β en rouge, et le reste en vert. Les atomes au niveau du centre du métal sont colorés par élément, avec le carbone en gris, l'azote en bleu, l'oxygène en rouge, le soufre en jaune, le phosphore en magenta et l'ion métallique en vert ; d'après M. K. Chan *et al.* (1997).

En résumé, La PDF de *E. coli* contient trois α -hélices, trois feuillets β et une hélice 3-10 critique. Le métal du site actif est lié de manière tétraédrique à Cys-90, His-132, His-136 et une molécule d'eau [116,117], mais la géométrie globale du tétraèdre n'est pas régulière [98]. L'analyse structurale des PDFs d'autres espèces révèle qu'elles adoptent, elles aussi, la même conformation [101]. L'environnement autour du métal au niveau du site actif présente de grandes similitudes chimiques et géométriques que les protéases de la famille des thermolysines [117,119]. Cependant, la PDF est manifestement différente des autres protéases à zinc qui possèdent le motif conservé de liaison au métal HEXXH. La distinction la plus saisissante est que le troisième ligand du métal est une cystéine, au lieu d'un glutamate ou d'une histidine comme dans la thermolysine et les métalloprotéases de la matrice. Le Glutamate-133, proche de la liaison métal-eau, joue probablement un rôle crucial dans la protonation et la déprotonation des intermédiaires de la réaction durant la catalyse [98,117]. Ce mécanisme catalytique est supposé ressembler à celui de la famille des thermolysines. Une autre caractéristique importante de la structure de la PDF est que l'acide aminé Gln-50, lequel est conservé dans les différentes PDFs comme résidu central dans l'hélice 3-10, est impliqué dans une liaison hydrogène avec l'eau liée au métal. Ce résidu glutamine peut également jouer un rôle important dans la protonation-déprotonation des intermédiaires de la réaction durant l'hydrolyse du groupement N-formyle [117]. La comparaison des liaisons de la PDF avec des ions métalliques variés révèle que les structures des Ni-PDF et Fe-PDF sont très similaires à celle de la Zn-PDF. Par exemple, dans la Ni-PDF, l'ion nickel du site actif est lié à His-132, His-136, Cys-90, et une molécule d'eau en formant un tétraèdre, tel qu'observé dans l'enzyme à zinc. Un ensemble de liaisons hydrogène impliquant les acides aminés conservés des PDFs est manifestement identifié et est apparemment partagé par les trois formes de l'enzyme. Malheureusement, la comparaison entre ces trois formes de PDF, l'enzyme pure [119], l'enzyme complexée avec le MAS (Met-Ala-Ser) [98] ou avec

l'actinonin [101], ne révèle pas d'explication claire concernant la différence dans l'efficacité catalytique de la fer-PDF ou de la nickel-PDF par rapport à la zinc-PDF. L'absence d'une quelconque différence structurale de ces diverses formes de PDF suggère que la différence dans l'efficacité de l'enzyme est vraisemblablement due à la nature chimique des ions métalliques [119].

Guilloteau *et al.* (2002) ont montré, tandis que toutes les structures du site actif des PDFs de différentes bactéries étaient similaires, qu'il y a quelques distinctions structurales entre les PDFs de type I et de type II [101]. En général, les PDFs de type I de *E. coli* et *P. aeruginosa* se ressemblent beaucoup entre-elles, tout comme les PDFs de type II de *S. aureus* et *B. stearothermophilus*. Cependant, le C-terminal de l'hélice α trouvé dans les PDF de type I est remplacé dans le type II par une boucle, suivie d'un petit brin β . La signification de cette différence n'est pas claire, du moment que les quatre protéines catalysent la même réaction avec une efficacité similaire, et leur liaison à l'actinonin est quasiment identique. Baldwin *et al.* ont observé que la Fe-PDF de type II (*S. aureus*) pouvait retenir son activité catalytique pendant plusieurs mois, tandis que celle de type I (*E. coli*) qui lui correspond était extrêmement instable [100]. Il n'y a pas d'explication structurale pour cette différence dans la stabilité.

La structure du complexe enzyme-MAS révèle que la chaîne du substrat, du côté de la méthionine, s'incruste soigneusement dans la poche S1', qui est une poche hydrophobe formée par Ile-44, Ile-86, Glu-88, Leu-125, Ile-128, Cys-129 et His-132 [98]. Des études de modélisation moléculaire suggèrent que la phénylalanine peut également s'ajuster dans cette poche hydrophobe S1'. La comparaison des structures des PDFs de différentes espèces bactériennes [101] suggère que la poche S1' garde la même forme dans toutes les enzymes, bien que différents résidus revêtissent la poche dans chaque cas. Les PDF de toutes les espèces bactériennes ayant besoin d'éliminer le groupement formyle, il n'y a pas de surprise à ce que toutes ces enzymes aient une poche similaire pour recevoir la chaîne latérale de la méthionine. La composition de la poche S1' a été confirmée davantage par les structures des complexes PDFs-inhibiteurs [116,123,124].

Les poches S2' et S3' ne sont pas bien définies. Toutes les PDFs ont en commun les résidus Glu-88 et Gly-89 au niveau du site S2' [101], mais dans les structures 3-D, la poche S2' des PDF de type I est légèrement plus vaste que celle des PDF de type II. Les résidus d'acides aminés formant le revêtement de la cavité S2' diffèrent selon les espèces, mais la nature chimique de la totalité de la cavité demeure la même pour toutes les PDFs. Au contraire, les cavités S3' des PDF de différentes espèces, présentent une grande variation avec des différences qui altèrent la forme et la nature chimique de la poche [101]. Le degré variable de conservation de la structure au niveau des poches de liaison avec le substrat peut permettre la différenciation entre les inhibiteurs spécifiques et les inhibiteurs à large spectre. Il est probable que les inhibiteurs à large spectre pourraient être désignés à condition que l'énergie de liaison provienne principalement des interactions avec des sites invariables des poches de liaison, tandis que les inhibiteurs spécifiques à certaines espèces pourraient résulter d'une focalisation sur les interactions avec des domaines variables. Une autre considération dans la conception des inhibiteurs de la PDF est le problème de résistance.

Les structures 3-D des PDFs complexées avec des inhibiteurs synthétiques fournissent d'importants renseignements. Comme prévu, l'ion métallique du site actif forme cinq liaisons avec les inhibiteurs [120-122]. Le groupement hydroxamate forme des liaisons hydrogène avec les chaînes latérales de Glu-133 et Gln-50, confirmant l'hypothèse que ces deux acides aminés sont impliqués dans la catalyse [117]. La fonction NH de l'Ile-44 forme une liaison H avec le carbonyle P2' des inhibiteurs [120,121]. Pour les inhibiteurs peptidiques de la PDF, la chaîne latérale du résidu P2' est principalement

exposée au solvant mais réalise également des interactions de Van Der Waals avec les chaînes latérales des aminoacides de la cavité S2'. La partie P3' de l'inhibiteur est principalement accessible au solvant [120].

Le centre actif de la PDF est plutôt similaire à celui des matrices des métalloprotéines (MMPs) [119]. Cette similarité est davantage confirmée par le manque de sélectivité de certains inhibiteurs de la PDF [122]. Les acides β -sulfonylhydroxamiques, composés possédant une inhibition appréciable de la déformylase, inhibent également les MMPs avec la même puissance. Au contraire, certains inhibiteurs n'ont aucune action sur plusieurs autres types de métalloprotéases, telles que les endopeptidases neutres. Cette similitude structurale avec les MMPs implique une toxicité potentielle due à une inhibition indésirable de MMPs lors de l'utilisation des inhibiteurs de la PDF comme médicaments antibactériens.

Cependant, depuis peu des différences significatives entre les MMPs et les PDFs ont été démontrées, il serait donc possible de concevoir des inhibiteurs de la PDF n'ayant aucun effet sur les MMPs [121].

Finalement, les structures tridimensionnelles des PDFs seules et de PDFs en complexes avec des inhibiteurs nous apprennent que la conception des inhibiteurs de la PDF nécessite une maximisation de la formation d'un chélate avec le métal du site actif et des interactions de Van Der Waals au niveau de la cavité S1'. Les poches S2' et S3' de l'enzyme sont relativement flexibles. Bien que ces sites puissent encore fournir une énergie de liaison additionnelle, il n'est pas judicieux de fonder la majeure partie de l'énergie à autant de sites, car ils sont sujets à des mutations qui n'entraînent pas forcément une diminution de l'activité enzymatique, laquelle pourrait résulter d'une fréquence de résistance élevée. Cependant, les ensembles occupant les cavités S2' et S3' pourraient être de bons endroits pour générer des propriétés physico-chimiques convenables dans les inhibiteurs afin d'accroître leur pénétration à travers la membrane des cellules bactériennes, pour fournir des propriétés pharmacocinétiques correctes *in vivo* et réduire les problèmes potentiels de toxicité.

Les inhibiteurs de la PDF, tels l'actinonin, sont de puissants inhibiteurs avec des valeurs de K_i de l'ordre du nanomolaire. Néanmoins, la liaison de ces inhibiteurs avec la PDF ne provoque pas un changement appréciable de la conformation dans la structure de la protéine [101,120].

4. CLASSIFICATION DES PDFS (ARBRE PHYLOGENETIQUE DES PDFs)

A partir des données de séquences obtenues chez les bactéries et à partir des analyses des ensembles de délétions et d'insertions (appelées I1 et I2 dans la figure 7) localisées entre des éléments de structures secondaires identifiés, il a été conclu que les PDFs peuvent être divisées en deux classes majeures [93].

La classe I est représentée par l'enzyme de *E. coli* et systématiquement par les PDFs de toutes les bactéries Gram-négatives (figure 8).

La classe II est représentée par la PDF de *Bacillus stearothermophilus* et contient les PDFs des *Mycoplasma* et des bactéries Gram-positives avec un faible taux de G+C (GC %) (figure 8).

Cependant, si deux PDFs apparaissent dans une bactérie Gram-positive, la seconde est souvent une enzyme appartenant à la classe I. Des PDFs homologues significativement différentes de ces deux classes ont été trouvées chez les bactéries Gram-positives, ainsi que chez des bactéries Gram-positives à faible GC %, tel que

Clostridium beijerinckii. Finalement, la séquence complète du génome de l'actinomycète *Streptomyces coelicolor* a révélé la présence de quatre gènes def. Ceci correspond au plus grand nombre de gènes de PDF détecté chez le genre *Eubactérium* à ce jour. Il est intéressant de remarquer qu'une des quatre PDFs de cet actinomycète (*S. coelicolor* 1/4 dans la [figure 8](#)) diverge de toutes les autres PDFs connues.

Il a été rapporté que les actinomycètes produisent naturellement une molécule avec une activité anti-PDF, l'actinonin. Néanmoins, les actinomycètes sont eux-mêmes résistants à l'actinonin, probablement due à l'acquisition d'une PDF résistante à l'actinonin. Ce qui pourrait expliquer la présence de ces diverses PDFs chez les actinomycètes. Alternativement, une fonction autre que la déformylation classique des polypeptides naissants peut expliquer l'existence d'une PDF peu ordinaire et la duplication des gènes def chez *S. coelicolor*.

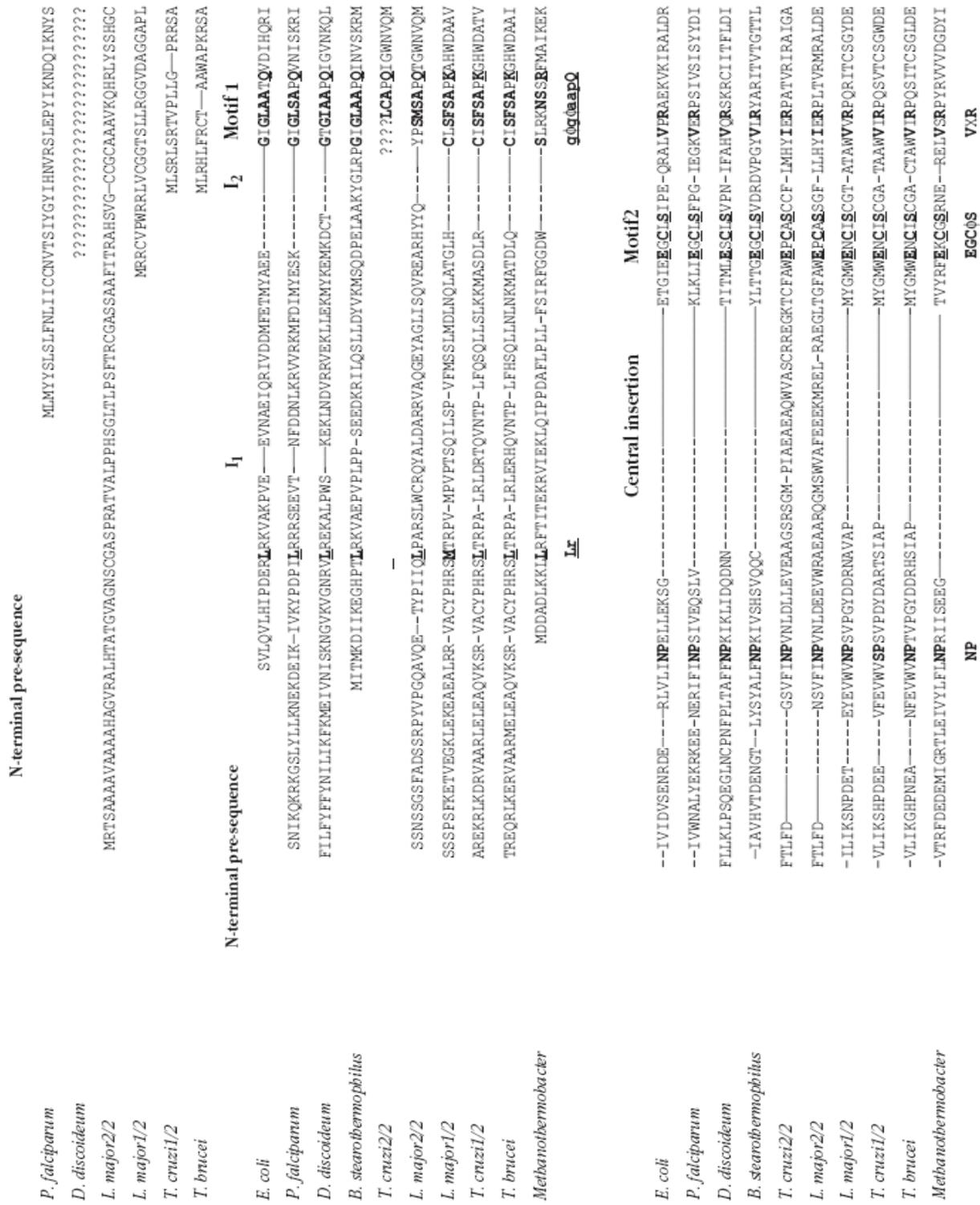


Figure 7. Alignement des PDFs des protistes eucaryotes.

4.1. Les PDFs des Eucaryotes supérieurs

L'analyse des séquences produites, récemment, de génomes complets de plusieurs eucaryotes a étonnement révélé la présence de PDFs orthologues [93]. Par exemple, deux PDFs de la classe I ont été identifiées dans le génome nucléaire de deux plantes monocotylédones et dicotylédones en pleine floraison [110].

Une séquence de la PDF a été également identifiée dans le génome de liverwort *Marchantia polymorpha*. Ceci indique que les PDFs sont présentes dans toutes les plantes supérieures (Embryophyta). Ces enzymes diffèrent des enzymes eubactériennes car elles possèdent des pré-séquences N-terminales qui ciblent des domaines catalytiques correspondant à divers compartiments de la cellule. Par conséquent, les PDFs mitochondriales des plantes (mPDFs) sont prises pour cibles au niveau des mitochondries seulement, tandis que les PDFs des chloroplastes (cpPDFs) sont les seules PDFs trouvées dans les plastes (figure 8) [110]. Les cpPDFs sont étroitement apparentées aux PDFs des cyanobactéries (figure 8). Des orthologues des mPDFs ont été identifiées chez les insectes et dans les tissus de divers vertébrés [110]. Tous les orthologues des PDFs d'animaux ont des séquences très similaires à celles des mPDFs et dérivent manifestement de la même branche de l'arbre phylogénétique des PDFs (figure 8). La séquence bactérienne qui ressemble le plus à celles des diverses mPDFs est la PDF divergente de *S.coelicolor* (figure8).

4.2. Les PDFs des Eukaryotes inférieurs

Des PDFs ont été également trouvées dans les génomes de protistes variés. Une cpPDF (PDF des plastes) a été identifiée chez l'agent de la malaria *Plasmodium falciparum* et semble être présente au niveau de l'apicoplaste [109,110]. Une PDF a été également retrouvée chez l'amibe *Dictyostelium discoideum* [110]. Cette PDF, probablement située au niveau de la mitochondrie, présente beaucoup de ressemblance aux PDFs de la classe II (Figure 8). Enfin, deux orthologues de PDFs différents ont été trouvés chez les kinetoplastes, *Trypanosoma* sp. et *Leishmania major* (Figure 8) [109]. Ces PDFs sont manifestement différentes des PDFs de classe I et II et sont proposées pour être classées dans une nouvelle classe, **la classe III**.

4.3. Les PDFs orthologues des Archae

PSI-BLAST [125] est actuellement reconnu pour être un outil puissant pour l'identification de séquences biologiquement similaires. Ce programme a permis récemment d'identifier pour la première fois deux nouvelles séquences chez les Archaea présentant une grande similitude aux PDFs (figure7 et 8).

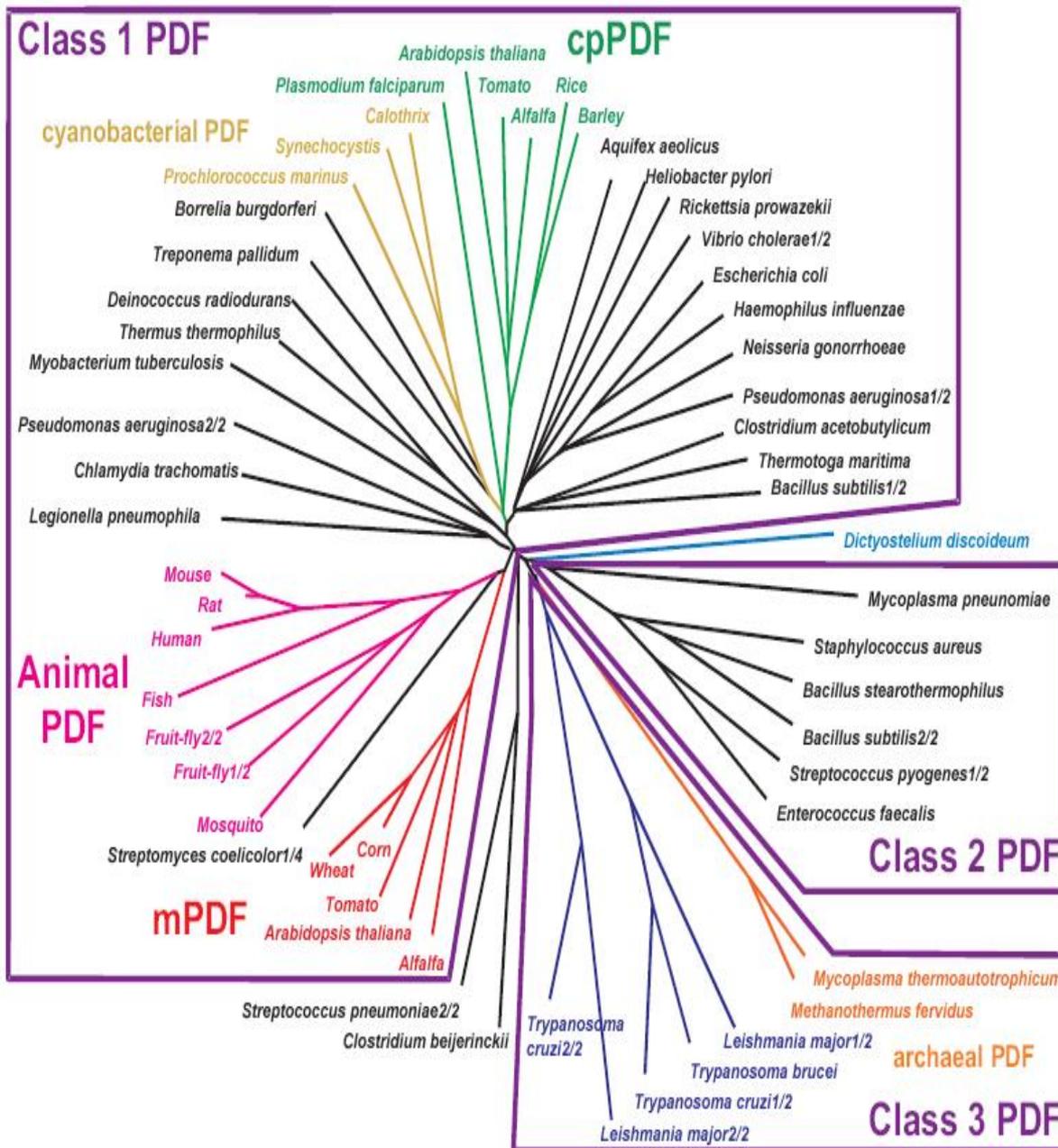


Figure 8. Arbre phylogénétique des PDF d'après Giglione et Meinell (2001)

Ces PDFs des Archaea ont été trouvées chez les euryarchaeota *Methanothermobacter thermoautotrophicus* (Genbank numéro d'accèsion AE000809) et *Methanothermus fervidus* (Genbank numéro d'accèsion CAA70987). Ces deux séquences s'apparentent étroitement aux séquences trouvées dans les kinetoplastes (les PDFs de la Classe III). Une caractéristique spécifique des PDFs des Archeae est l'apparition d'une insertion distale entre les motifs 2 et 3 (Figure 8). Etant donnée l'alternance des résidus hydrophobiques et polaires dans cette insertion, son seul effet est probablement une faible extension du feuillet antiparallèle loin du site actif. Néanmoins, il faut souligner que le motif 1 est le seul faiblement conservé chez cette espèce.

Ainsi, il est clair que, contrairement à ce qui est cru jusqu'à très récemment, les orthologues des PDFs ne sont pas spécifiques aux Eubactéries, mais au contraire

apparaissent dans la plupart des branches de l'arbre phylogénétique des organismes vivants. Cependant certains organismes, tels que les nématodes, les moisissures et certaines Archeae, ne possèdent pas d'orthologues de PDFs. Bien entendu, il est possible que ces organismes aient une PDF avec un taux d'homologie en dessous du seuil toléré par le programme BLAST, mais il est peu probable. En effet, des recherches dans des bases de données diverses ont été accomplies sans succès. Depuis, de nouvelles séquences de génomes entiers seront disponibles dans les toutes prochaines années, et il serait intéressant d'identifier ces organismes qui ne contiennent pas de PDF.

A partir de plus de 120 séquences d'orthologues de PDFs disponibles dans les bases de données, 56 séquences de PDFs ont été sélectionnées pour représenter la diversité des séquences de cette enzyme. Les séquences ont été alignées à l'aide du logiciel "ClustalX" et l'arbre généalogique construit par "Tree-View1.6". Le nombre (1,2 ou 4) indique que la séquence est une des deux (ou des quatre) espèces de PDF de cet organisme.

cpPDF = pdf des plastes , mPDF = PDF des mitochondries.

- CHAPITRE 4 -

INHIBITEURS DE LA PDF BACTERIENNE

1. RECHERCHE DE NOUVEAUX ANTIBACTERIENS

Bien que le nombre d'antibiotiques soit très grand, la diversité des classes chimiques qu'il représente est, cependant, limitée et les mécanismes de résistance sont le plus souvent liés à chaque classe d'antibiotique. Les nouvelles approches à l'égard de la recherche de nouveaux antibiotiques prennent avantage pour de nouvelles cibles impliquées dans de nouveaux mécanismes déjà explorés dans la découverte de nouveaux médicaments et pour lesquels les mécanismes de résistance ne se sont pas largement développés parmi les populations bactériennes.

Ainsi, parmi la pléthore de nouvelles cibles potentielles, plusieurs semblent mieux convenir au processus de découverte de médicaments, dans lequel elles répondent à des critères bien définis, telle leur capacité à des essais d'activité *in vitro*. Aujourd'hui, la recherche pharmaceutique de nouveaux antibiotiques implique une purification préliminaire de la cible *in vitro*, l'isolement d'inhibiteurs de plus ou moins faible affinité et l'amélioration davantage de cette affinité pour obtenir des médicaments biodisponibles oralement. Apfel *et al*, (2001) [3] ont validé une cible très prometteuse, la PDF [93]. Des médicaments spécifiques anti-PDF, qui ont plus ou moins la même structure, ont été récemment décrits comme ayant des activités antibactériennes à large spectre [124-127]. Apfel *et al* (2001) évaluent l'action des inhibiteurs de la PDF qui ont été sélectionnées auparavant *in vitro* comme suit :

- ils interfèrent avec l'activité de la PDF *in vivo*
- ils provoquent l'arrêt de la croissance des cellules bactériennes ou leur mort
- ils entraînent un développement de la résistance.

Les nouvelles informations sur le mécanisme de la réaction catalysée par la PDF, la disponibilité des structures tridimensionnelle de l'enzyme, combinées à une approche empirique par la chimie médicinale, ont permis une conception rationnelle d'inhibiteurs avec des activités antibactériennes, des propriétés pharmacocinétiques et une sélectivité améliorées. Par conséquent, les inhibiteurs de la peptide déformylase avec une activité *in vivo* ont été identifiés pour le traitement de certaines infections bactériennes. Cette efficacité *in vivo* valide, encore une nouvelle fois, la PDF en tant que cible appropriée pour la découverte de médicaments antibactériens. Tous les inhibiteurs de la PDF identifiés jusqu'ici contiennent une partie qui se lie à l'ion métallique au niveau du site actif de l'enzyme. Les futurs inhibiteurs doivent garder le groupement hydrophobe flexible en position P1', lequel imite la chaîne latérale de la méthionine, afin d'occuper la cavité S1' de l'enzyme et contribuer à l'affinité de la liaison. Au contraire, il y a plus d'opportunité à faire varier les domaines destinés à occuper les cavités S2' et S3'. Les inhibiteurs actuels de la PDF se distinguent, en effet, par des différences au niveau de ces régions qui resteront les parties critiques dans la détermination de la sélectivité et de la pharmacocinétique des futurs inhibiteurs.

Depuis la première validation de la PDF comme cible des médicaments antibactériens tels VRC3375 et BB-3497, des progrès immenses ont été réalisés dans l'optimisation de ces modèles précoces. Des études précliniques plus amples ont été réalisées pour ces classes de composés, et les profils biologiques de deux candidats en clinique, le BB-83698 (découvert par British Biotech, en collaboration avec Genesoft) et le VIC-104959 (découvert par Vicuron Pharmaceuticals, en collaboration avec Novartis, et

également appelé LBM415 ou NVP-PDF-713) ont été présentés respectivement aux 42^{ème} et 44^{ème} meetings de l'ICAAC aux USA. Les résultats récents des études précliniques et cliniques de ces inhibiteurs sont très encourageants dans le domaine de la recherche antibactérienne et renforcent davantage le potentiel de cette nouvelle classe d'antibiotiques. La promesse d'antibiotiques à large spectre avec un nouveau mécanisme d'action augmente l'attrait des inhibiteurs de la PDF comme médicaments antibactériens.

2. LES DIFFERENTES CLASSES D'INHIBITEURS

2.1. Généralités

Le fait que la PDF soit une métalloprotéase la rend plus attrayante comme cible pour la découverte de médicaments, elle permet ainsi une conception rationnelle des inhibiteurs. Une approche rationnelle basée sur ce mécanisme a été appliquée avec succès pour la conception d'inhibiteurs de plusieurs métalloprotéases thérapeutiquement importantes [92] telles l'enzyme convertissant l'angiotensine (ACE) et les métalloprotéases de la matrice (MMPs) [128]. La déformylase étant une métallohydrolase avec une structure similaire aux MMPs, il paraissait raisonnable d'adopter la même stratégie pour les inhibiteurs de la PDF.

Récemment, l'actinonin, un antibiotique naturel formé du groupement hydroxamate qui se lie au métal et d'un tripeptide, a été reconnu comme puissant inhibiteur de la PDF [131]. Les études tridimensionnelles du complexe PDF-actinonin montrent clairement que l'hydroxamate de l'inhibiteur se lie à l'ion métallique au niveau du site actif, tandis que le tripeptide se place dans les cavités S1' – S3' de l'enzyme [101].

Se basant sur le mécanisme de la réaction catalysée par la PDF et comprenant les principes généraux de l'inhibition des métalloprotéases, une structure générique d'un inhibiteur de la PDF (figure 9) a été proposée [92].

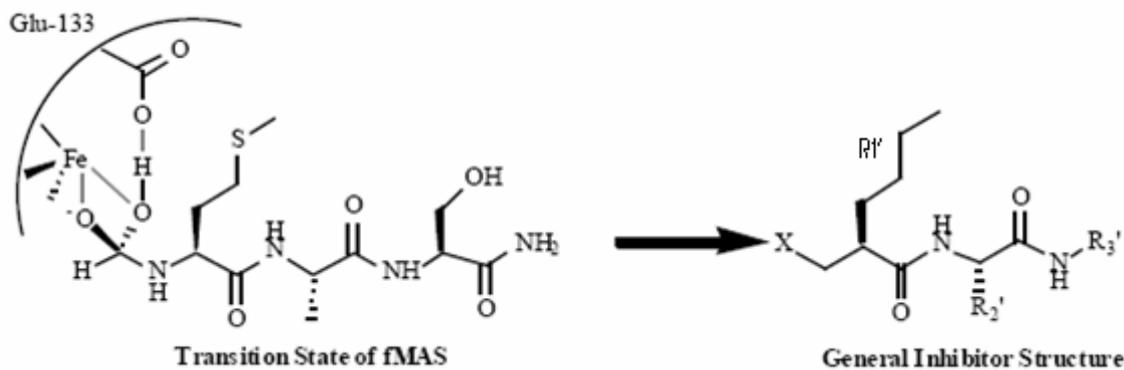


Figure 9 : structure générale proposée pour les inhibiteurs de la PDF avec X comme le chélateur de l'ion métallique et R₂' et R₃' représentant les chaînes latérales en position P2' et P3' du motif peptidomimétique proposé.

Dans cette structure,

- X représente le groupement chélateur qui sera le composant crucial à pourvoir l'énergie de liaison.

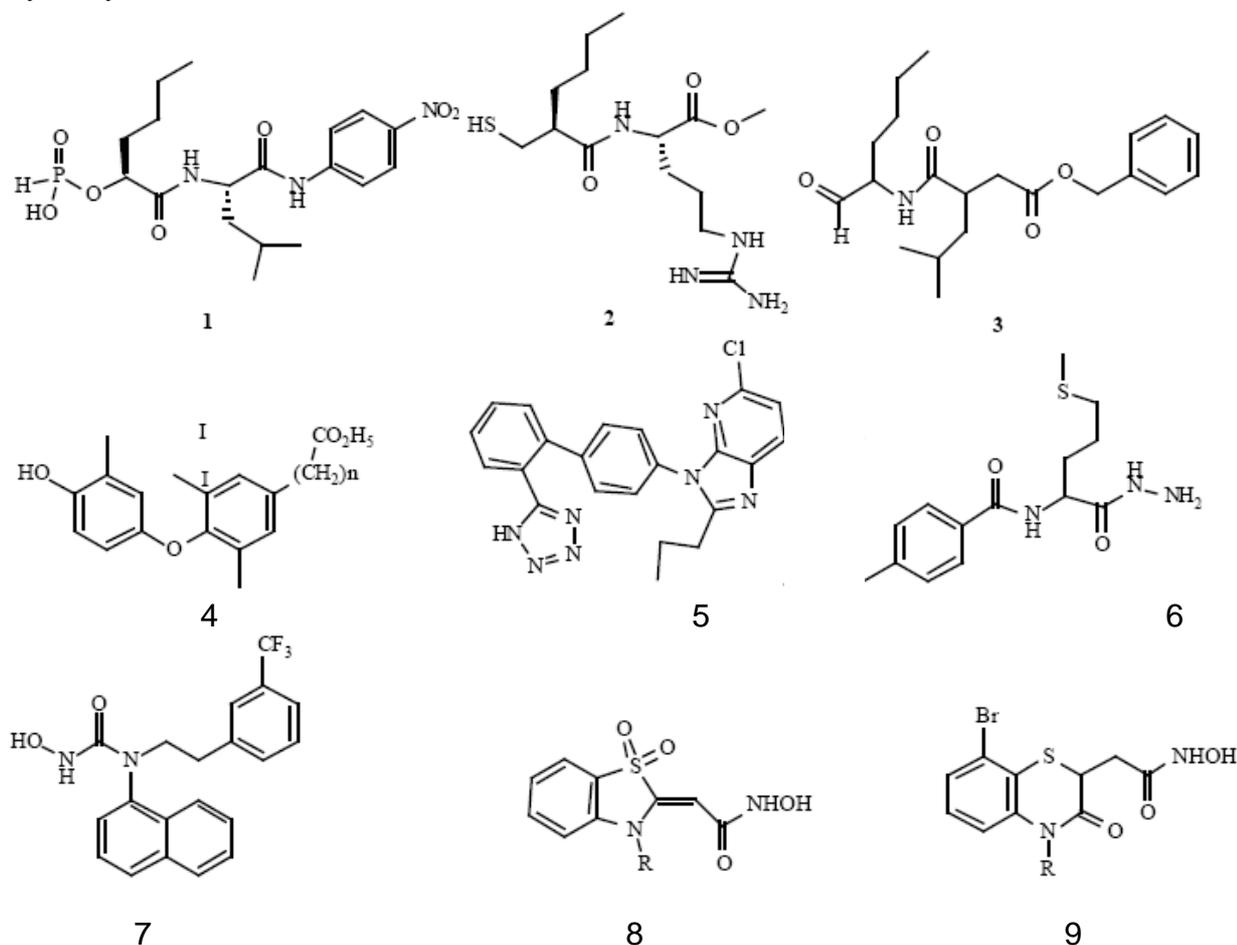
- Le groupement n-butyle est utilisé pour reproduire la chaîne latérale de la méthionine du substrat

- R₂' et R₃' sont les régions de l'inhibiteur qui peuvent fournir une énergie de liaison additionnelle, une sélectivité, et des propriétés pharmacocinétiques favorables.

Depuis la production, en quantité suffisante, de la PDF de *E.coli*, en 1996, les structures d'au moins 32 types d'inhibiteurs de la PDF ont été rapportées. Ces inhibiteurs ont été identifiés par un design rationnel, un criblage aléatoire ou un criblage dirigé rationnellement et focalisé sur la présence d'un groupement chélateur. Tous les inhibiteurs de la PDF, publiés à ce jour, possèdent une fonction à une des extrémités de leur molécule qui peut se lier à l'ion métallique de l'enzyme pour former un chélate. Parmi ces inhibiteurs, certains adoptent strictement le motif combiné "chélateur + peptidomimétique" comme dans la [figure 10](#). D'autres prennent comme modèle les meilleurs substrats identifiés [129-131], d'autres encore dérivent d'un criblage à partir d'une chimiothèque [120,123, 124,132-136, 137] et les structures restantes ont été identifiées par criblage à partir de chimiothèques spécifiquement désignées pour tenir compte du mécanisme de réaction de la PDF [83,121,138]. Ces inhibiteurs sont subdivisés en trois classes majeures en fonction de leur activité biologique.

2.2. Inhibiteurs à faible ou sans activité antibactérienne (Classe I)

Tandis que tous les composés rapportés inhibent la déformylase, certains inhibiteurs de la PDF sont essentiellement dénués d'une activité antibactérienne significative ([figure 10](#)), probablement due à leur impuissance envers la PDF et/ou à leur incapacité de pénétrer dans la cellule bactérienne. Il est intéressant de noter que tous les composés avec des valeurs de l' IC_{50} (ou K_i) supérieures à $1\mu M$ contre l'enzyme n'ont pas d'activité antibactérienne. Une caractéristique commune à cette classe d'inhibiteurs de la PDF est qu'ils utilisent des chélateurs autres que l'hydroxamate ou la N-formyle hydroxylamine.



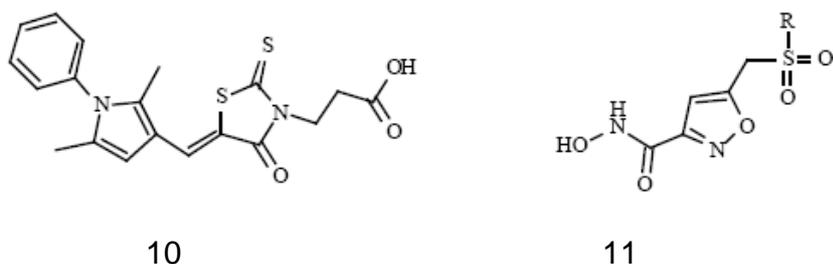


Figure 10 : structures chimiques des inhibiteurs de la PDF sans ou avec une faible activité antibactérienne (Classe I). Pour le Composé 4: n = 1; le Composé 8: R = C1 to C5 alkyl; le Composé 9: R = C1 to C5 alkyl or cyclo alkyl; le Composé 11: R = aryl substitué.

2.3. Inhibiteurs possédant une activité antibactérienne (Classe II)

En plus d'être de puissants inhibiteurs de la PDF, cette classe de composés ([figure 12](#)) possède également une activité antibactérienne *in vitro*. Les membres de cette classe exhibent une vaste activité antibactérienne avec l'actinonin [129] comme étant le plus actif. Cependant, cette puissante activité antibactérienne ne se traduit pas *in vivo* et cela est vraisemblablement dû à de mauvaises propriétés pharmacocinétiques. Tous les inhibiteurs non peptidiques rapportés à ce jour appartiennent à la classe I ou à cette classe. Du moment que la plupart des composés de cette classe utilisent les mêmes chélateurs et les mêmes substituants au niveau P1' comme les composés de la classe III (lesquels sont efficaces *in vivo*), il est raisonnable de faire l'hypothèse que c'est le choix de P2' et P3' qui impose les propriétés *in vivo*.

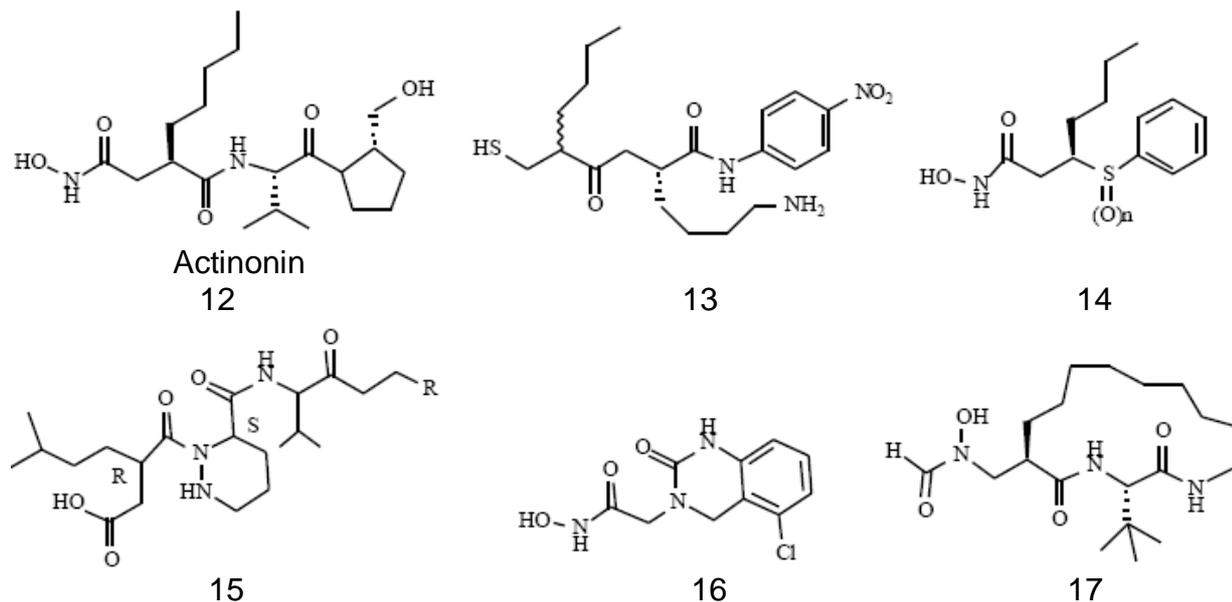


Figure 11 : structures Chimiques des inhibiteurs de la PDF possédant une activité antibactérienne (Class II). Pour le Composé 13: n =1 ou 2; Composé 14: R = H ou SCH3.

2.4. Inhibiteurs de la PDF actifs *in vivo* (Classe III)

Un faible nombre d'inhibiteurs de la PDF ayant une activité antibactérienne significative *in vivo* a été rapporté à ce jour (figure 13). Une caractéristique structurale commune de ces composés est la nature du groupement chélateur qui a été confinée à l'acide hydroxamique ou au groupement N-formyle hydroxylamine, tandis que les substituants peptidomimétiques au niveau P2' et P3' sont restés très divers [83,120,1231138]. Il a été proposé que la grande activité *in vivo* du BB-3497 et du VRC3375 (en comparaison à l'actinonin) était due au remplacement de la valine par le tertio-butyle-leucine ou la proline respectivement en position P2' [83,120].

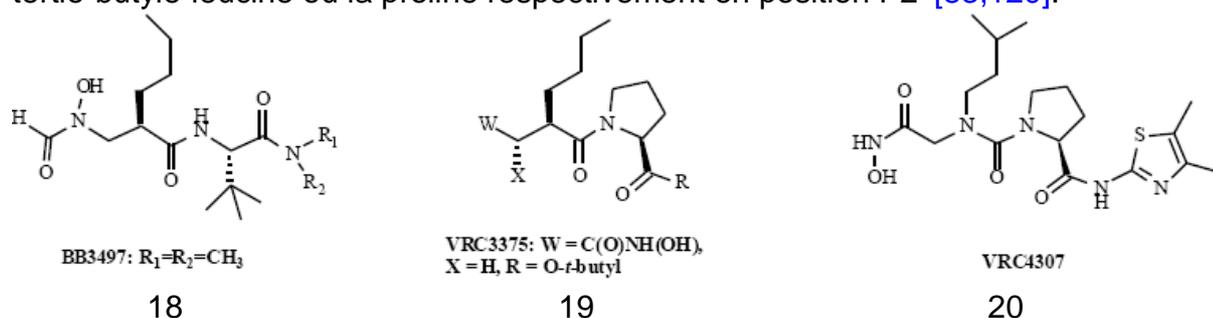
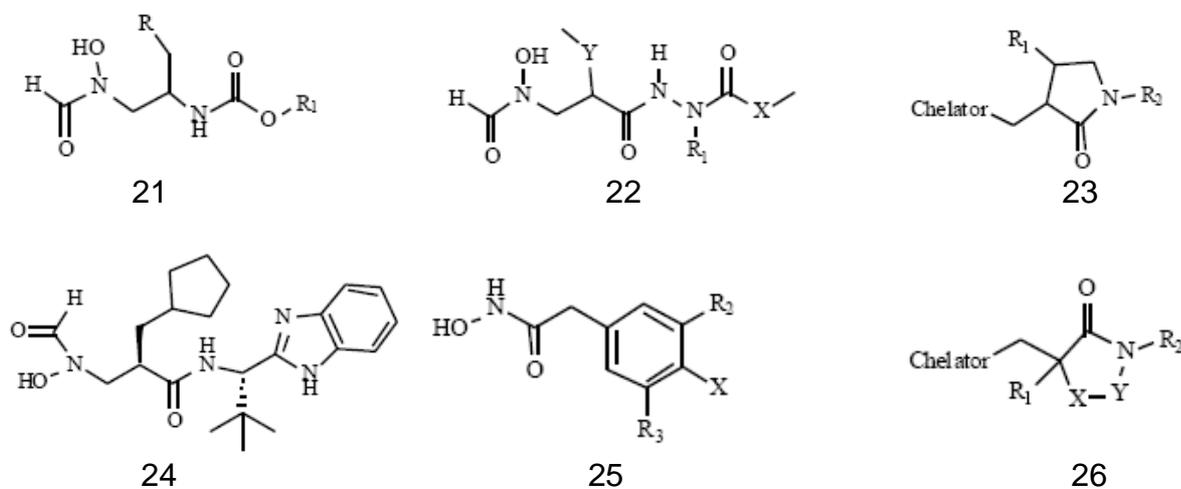


Figure 12 : structures chimiques des inhibiteurs de la PDF actifs *in vivo* (Class III). Pour le Composé 18: X = H, OH, ou F, R = C1 à C5 alkyl, aryl ou heteroaryl.

2.5. Autres inhibiteurs de la PDF

Les inhibiteurs avec une structure autre que la structure de base peptidomimétique/non peptidique (carbamate, hydrazide, lactame, benzimidazole, aryle, et hydantoïne) et ceux porteurs d'un hydroxamate ou d'une N-formyle hydroxylamine comme chélateur (figure 13) ont été, seulement, citées ; leur activité biologique n'a pas été décrite. Ainsi, il est difficile d'évaluer leur importance. Etant donné l'effort intense qui sera mis pour synthétiser des inhibiteurs améliorés de la PDF, il est vraisemblable que de meilleurs composés ont déjà été préparés mais sont en attente d'être brevetés et publiés. Il faut s'attendre à ce que la prochaine génération des inhibiteurs de la PDF soit améliorée au niveau de leur activité antibactérienne *in vivo*.



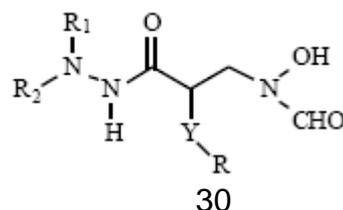
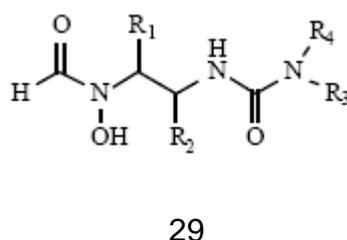
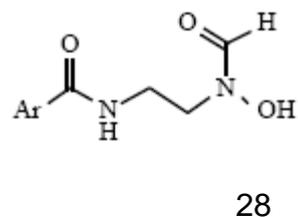
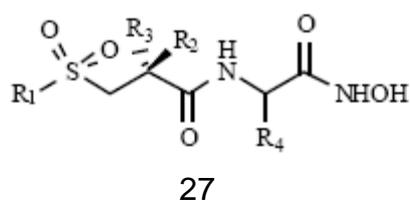


Figure 13: structures of PDF inhibitors publicly disclosed through patent literature without disclosing biological data

Pour le Composé 21: R = C1-6 alkyl, -CH₂-aryl, ou aryl, R1 = C1-6 alkyl, C1-4 alkyl-aryl, ou aryl; le Composé 22 : R = C1-6 alkyl, -CH₂-aryl, ou aryl, R1 = C1-6 alkyl, C1-4 alkyl-aryl, alkyl-heteroaryl, X = O or N, Y = O ou CH₂; le Composé 23 : R1 = C1-6 alkyl, C1-2 alkyl -aryl, ou aryl, R2 = C1-6 alkyl, alkyl-aryl, alkyl-heteroaryl, amide, sulfonamide, ou carbamate; le Composé 25 : X= -C(O)O-C1-3 alkyl, -O-alkyl, -N-alkyl, amide, ou ketone; R2 et R3 = halogens, isopropyl ou tert-butyl ; le Composé 26: R1 = C1-9 alkyl, -CH₂-aryl, ou aryl, R2 = H, C1-9 alkyl, ou C1-4 alkyl-aryl, X = NH ou CH₂, Y = CO ou CH₂; Compound 27: R1 = C6-10 alkyl, cycloalkyl, , alkylaryl, ou alkyl-heteroaryl, R2, R3, et R4,= C1-4 alkyl ou cycloalkyl; le Composé 28 : Ar = phenyl substitué ou heteroaryl; le Composé 29 : R1 = H, CH₃, ou CF₃, R2, R3, et R4 = alkyl, alkenyl, cycloalkyl, aryl, alkyl-aryl, ou heteroaryl; le Compound 30 : R, R1, et R2 = alkyl, alkenyl, cycloalkyl, aryl, alkyl-aryl, ou heteroaryl, Y = O ou CH₂.

PARTIE EXPERIMENTALE

- CHAPITRE 5 -

MATERIEL ET METHODES

1. BANQUE DE DONNEES DES PROTEINES

Il existe environ une cinquantaine de structures cristallographiques de peptides déformylases bactériennes dans la "Protein Data Bank" (PDB) dont la moitié sous forme de complexes (PDF-ligands). Ces derniers se différencient par :

- la source bactérienne de la PDF : *E. coli*, *S. aureus*,....
- le métal présent au niveau du site actif : fer, cobalt, nickel,....
- la nature du ligand intervenant dans le complexe : mln, bb1, bb2,....

Avant d'aborder l'étude de l'inhibition de la PDF par diverses molécules, nous avons tenté d'évaluer la fiabilité des différents logiciels de docking disponibles.

2. TESTS D'EVALUATION DES PROGRAMMES UTILISES

Trois programmes d'arrimage moléculaire ont été testés, FlexX (version 1.11.0, 2001), Surfex (v 1.3, 2005), et Arguslab (v 4.0.1 2003). Ces tests ont été réalisés sur 126 complexes protéines-ligands tirés de la PDB et leurs RMSD déterminés.

La prédiction du mode d'interaction consiste à déterminer le positionnement correct du ligand par rapport à son récepteur.

La capacité d'un programme à réussir ce travail est habituellement jugée au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (root-mean-square deviation) du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure du cristal. La prédiction est acceptable si sa valeur ne dépasse pas 2 angströms.

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

2.1. Préparation des molécules à l'arrimage

Le complexe protéine-ligand est téléchargé dans le format .pdb à partir de la banque de données en introduisant son code ID. A l'exception du programme Arguslab, les deux molécules du complexe sont séparées à l'aide du logiciel Viewerlite.

Arguslab utilise le format .pdb et n'a pas besoin d'une préparation préalable. Par contre, FlexX et Surfex exigent le format .mol2. Les protéines sont donc protonées, chargées et transformées dans le format .mol2 par deux logiciels : "Sybyl ou OpenBabel".

Les molécules de ligands sont reproduites et leurs géométries optimisées par le logiciel "Spartan". Elles sont enregistrées dans le format .pdb et ensuite transformées dans le format .mol2.

Arguslab donne, par défaut, les dix meilleures énergies d'interactions en Kcal/mol, FlexX les dix meilleures énergies d'interactions en Kj/mol et Surfex les dix meilleures affinités en M^{-1} .

2.2. Programmes utilisés

2.2.1. Arguslab

L'arrimage se fait complètement en mode interactif.

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

➤ Préparation du ligand :

- Sélectionner le ligand et éliminer tout le reste : la protéine, le métal ...
- Ajouter les hydrogènes
- Faire une copie de ce ligand
- Le 1^{er} ligand va servir de référence tandis que le 2^{ème} sera celui qui va être utilisé pour le docking.

➤ Création du site actif :

En sélectionnant le ligand de référence et en cliquant sur l'option appropriée, les divers acides aminés du site actif de l'enzyme apparaissent sur l'écran.

➤ Arrimage du ligand dans le site actif :

Le choix de l'option "Calculation/dock a ligand in the binding site" dans le menu permet de lancer les calculs.

➤ Lecture des résultats :

Après quelques secondes à quelques minutes, selon la taille du ligand, nous pouvons observer sur l'écran le ligand qui vient se placer dans le site actif de l'enzyme. La meilleure énergie d'interaction est alors donnée directement sur l'écran ainsi que le temps de calcul. Le RMSD est déterminé en sélectionnant en même temps le ligand de référence et le ligand arrimé et en choisissant l'option "calcul du RMSD".

2.2.2. FlexX

Les principales commandes d'un docking simple et entièrement automatique sont les suivantes :

```
PROJECT >>          bin / FlexX
FLEXX >             ligand
FLEXX / LIGAND >    Read ligand_min.mol2
FLEXX / LIGAND >    Read ref ligand_cryst.mol2
FLEXX / LIGAND >    End
FLEXX >             Receptor
FLEXX / RECEPTOR > Read protein.rdf
FLEXX / RECEPTOR > End
FLEXX >             Docking
FLEXX / DOCKING >   Selbas  a
FLEXX / DOCKING >   Placebas 3
FLEXX / DOCKING >   Complex all
FLEXX / DOCKING >   Listsol 10 (energy)
FLEXX / DOCKING >   Listsol 10 (rms)
FLEXX / DOCKING >   Info      Y (energy, rms...)
```

Pour visualiser le complexe obtenu, le programme dispose d'un autre logiciel appelé FlexV qui apparaît dans une nouvelle fenêtre en appliquant les commandes suivantes :

```
FLEXX / DOCKING > Draw      1
FLEXX / DOCKING > Display
FLEXX / DOCKING > End
FLEXX >           Quit
PROJECT >>
```

2.2.3. Surflex

Le docking est réalisé en 3 étapes :

- Choix de la manière d'identifier le site actif et génération d'une pseudo-molécule (protomol) qui va servir de cible aux différents ligands.
- Arrimage d'un ou de plusieurs ligands.
- Traitement des résultats

Chacune de ces tâches fondamentales est contrôlée par une série de paramètres, ceux utilisés par défaut sont suffisamment efficaces pour les différentes paires protéine/ligand. Les fichiers d'entrée des différentes molécules doivent être de préférence au format .mol2. Les fichiers de sortie seront également fournis dans le même format. Toutes les molécules doivent être protonées.

Les différentes commandes utilisées dans le docking sont :

Usage (v 1.3) : surflex-dock <command> args

| | |
|------------|--|
| dock | ligand protomol protein |
| dock_list | liglist protomol protein log |
| Score_List | liglist protomol protein log |
| opt | ligand protein |
| proto | sitemol protein protomol |
| resproto | reslist protein protomol |
| logprocess | logfile polar_thresh crash_thresh rot_thresh |

| | |
|---------|---------------------------------------|
| search | mol1 mol2... |
| random | mol1 mol2... |
| rms | mol1 mol2 |
| optrms | mol1 mol2 |
| prot | mol1 mol2... |
| reorder | mol2archive proportion outputarchive |
| get | mol2archive molname outmolname |
| mget | mol2archive molnamelist outmolarchive |
| info | mol |

| | |
|---------------|--|
| -proto_thresh | (0.5) |
| -proto_bloat | (0) (number of voxels to bloat protomol) |
| -no_mark_lig | (turns of ligand voxel marking, default on) |
| -whole | (toggles whole molecule docking, default on) |
| -multistart | (0) (number of additional starting confs per mol) |
| -old_score | (turns on old version of scoring function) |
| -fixcrash | (turns on modification to self-crash computation) |
| -maxrot | (100) (max number of rotatable bonds to dock in dock_list) |
| -nt_mul | (2000) |
| -nt_min | (200) |
| -frag_polish | (toggles fragment polishing in docking, default on) |
| -min_root | (20) |
| -nbest_heads | (5) |
| -nbest_aligns | (20) |

-nbest_frgs (10)
-ndock_final (10)

-maxconfs (20) (max number of confs per fragment)
-frag (toggles fragmentation, default on)
-rigid (toggles flexing and searching, default flexible)

-multiproc nproc procnum
indicates nproc processor run, current processor is procnum)

3. INHIBITION DE LA 1BSJ

3.1. Choix de la 1bsj

Dans cette première partie du travail la 1bsj de *Escherichia coli* a été choisie parmi une grande variété de peptides déformylases, *E. coli* étant la bactérie la mieux étudiée. C'est une métalloenzyme comportant environ 166 aminoacides et 1329 atomes (non H) [139,140].

3.2. Règle de Christopher A. Lipinski (1997)

Chaque médicament éventuel doit de se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible coût de production, être soluble, stable, brevetable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité. La liste des aspects à inclure est très longue mais on admet communément que les molécules validant au moins deux conditions de la règle de Lipinski sont des candidats potentiels. Ces règles sont :

- Un poids moléculaire maximum de 500g/mol
- Un maximum de 5 liaisons H-donneurs
- Un coefficient de partition (logP) ou une lipophilie ≤ 5 .
- Un maximum de 10 liaisons H-accepteurs

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

Diverses études statistiques ont mis en évidence les valeurs optimales de logP pour qu'un composé (typiquement un médicament) soit absorbé par le corps humain :

- Pénétration au cerveau : 2,0
- Absorption orale : 1,8
- Absorption sub-linguale : 5
- Absorption percutanée : 2,6

En se basant sur cette simple règle de Lipinski, le vHTS pourra, par exemple, exclure d'une banque de composés initiaux de 1 milliard d'éléments, 900 000 éléments qui ne possèdent pas les propriétés communes aux médicaments administrables oralement.

C'est la raison pour laquelle nous avons évalué ces paramètres pour les différents inhibiteurs étudiés.

Un autre aspect de sélection très important dans le domaine pharmacologique est l'élimination des drogues manifestant des propriétés toxiques in-vivo. Indice d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion (ADME) et de toxicité sont généralement appliqués aux ensembles de tests utilisés pour caractériser les composés selon leur absorption par les intestins, distribution dans l'organisme, métabolisme par le foie,

excrétion par les reins et profil de toxicité. Le criblage ADME/Tox dans la conception et le développement de médicament joue un rôle important dans le processus étant donné le nombre important de composés "lead" (modèles) et de drogues qui détiennent des propriétés toxiques.

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

- nombre de fonctions rotatives ≤ 15
- nombre d'halogènes ≤ 7
- chaînes alkyles $\leq -(CH_2)_6-CH_3$
- 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 1BSJ par divers inhibiteurs connus

Les cinq molécules de ligands testées sont : MLN ou PCLNA [139], BB3497 ou BB1 [122,141], BBS [3], BBS2 [3] et 1BB2 [3,103,131] dont les structures sont représentées dans la figure 14.

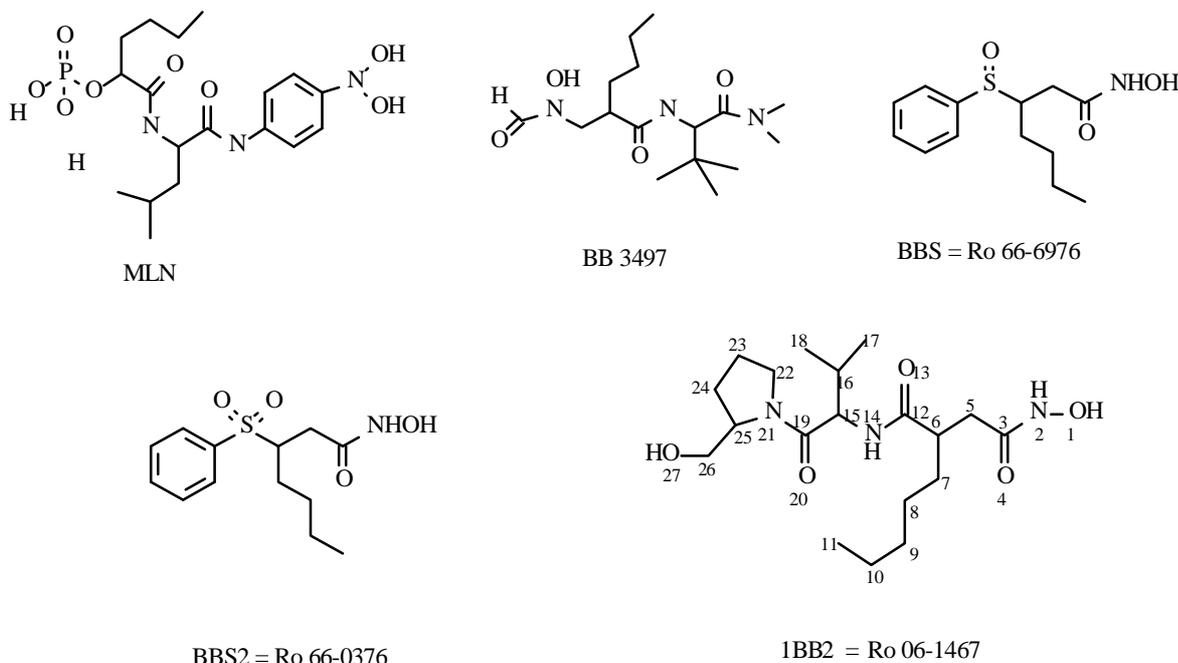


Figure 14. Structures des ligands.

4. ESSAIS DE MODÉLISATION

Ces essais se divisent en 2 parties :

4.1. Les Ligands et leurs similaires

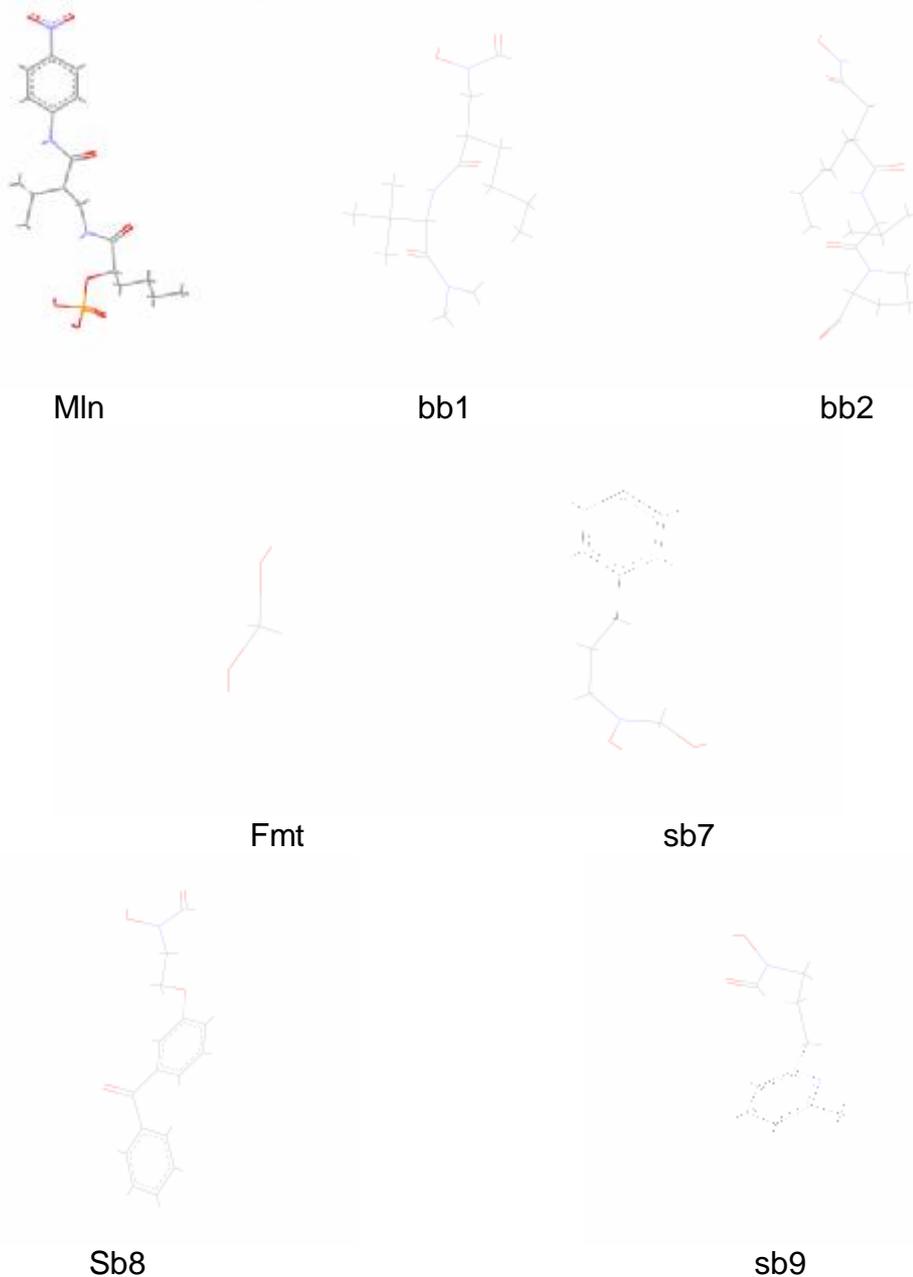
La première étude en modélisation a porté sur 7 différents complexes de peptide déformylase. Dans chacun d'eux, la PDF est liée à un ligand donné (tableau ci-dessous).

Tableau 5. Différents complexes de PDF étudiés.

| Complexe | 1bsj | 1g27 | 1g2a | 1xeo | 2ai7 | 2aia | 2aie |
|----------|------|------|------|------|------|------|------|
| Ligand | mIn | bb1 | bb2 | fmt | sb7 | sb8 | sb9 |

La PDB propose une trentaine de similaires pour chaque ligand, avec un pourcentage de similarité généralement supérieur à 50. Nous avons jugé intéressant de tester ces similaires, de comparer leur affinité à la cible par rapport au ligand initial et de trouver ainsi le meilleur inhibiteur de l'enzyme. Tous ces ligands, qui sont dans le format .mol, sont transformés préalablement dans le format .mol2.

La [figure 15](#) regroupe les structures des différents ligands.



[Figure 15](#) . Structures des 7 ligands.

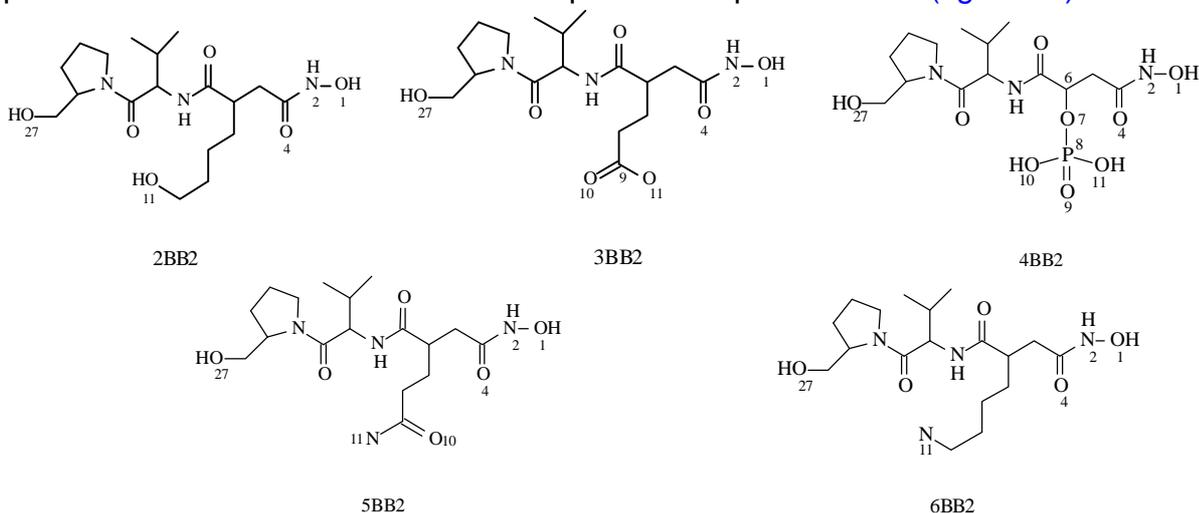
La structure des similaires, 200 environ, sera retrouvée dans l'annexe 2.

4.2. Les mono et bi substitutions de l'actinonin

Ces substitutions ont été réalisées dans le but de découvrir de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de la 1bsj. Nous avons pris comme structure de base le meilleur inhibiteur des deux études précédentes, l'actinonin (1BB2), sur lequel nous avons effectué 2 types de substitution : 5 mono substitutions rassemblées dans la [figure 16](#) et 5 bi substitutions dans la [figure 17](#).

Le nombre d'atomes autres que les H a été maintenu constant et nous avons remplacé certains atomes, au niveau de la position P1', n'ayant pas établi de liaisons avec les différents ligands par des groupements pouvant réaliser des liaisons H (C₇, C₈.....).

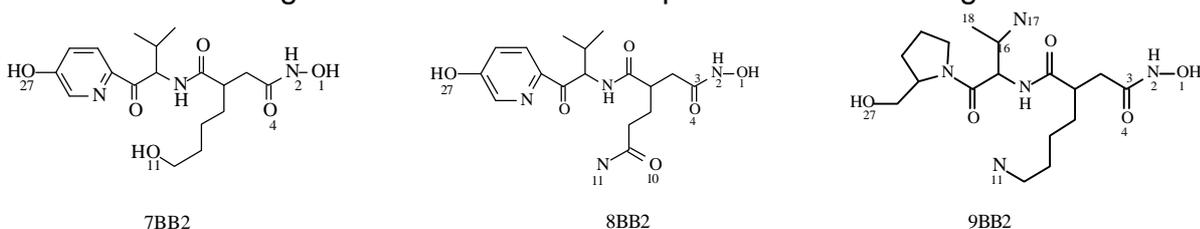
Les mono substitutions ont été obtenues de la manière suivante : Sur le composé 1BB2 ou actinonin nous avons introduit un groupement hydroxyle en position 11 pour obtenir le composé 2BB2, une fonction carboxylique en position 9 pour le composé 3BB2, un groupement phosphate en position 7 pour le 4BB2, un groupement amide en position 9 pour le 5BB2 ou une fonction amine en position 11 pour le 6BB2 ([figure 16](#)).



[Figure 16](#). Structures des ligands mono substitués.

Nous avons réalisé les bi substitutions comme suit ; nous avons introduit : au niveau du 2BB2 un noyau phényle à la place du cycle pentyle pour obtenir le 7BB2, sur le 5BB2 un noyau phényle à la place du cycle pentyle pour obtenir le 8BB2, sur le 6BB2 une fonction amine en position 17 pour le 9BB2, sur le 6BB2 un noyau phényle à la place du cycle pentyle pour obtenir le 10BB2 et sur le 6BB2 un groupement hydroxyle en position 18 pour le 11BB2 ([figure 17](#)).

Les structures des ligands bi substitués sont représentées dans la figure suivante :



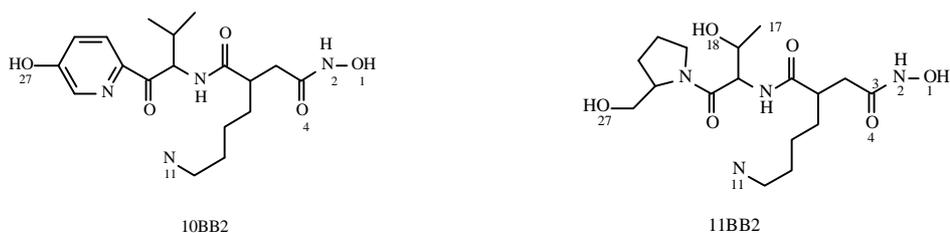


Figure 17. Structures des ligands bi substitués.

5. ETUDE COMPARATIVE DE L'ACTIVITE INHIBITRICE DE DEUX NOUVELLES CLASSES DE MOLECULES NON PEPTIDIQUES, TESTEES IN VITRO, AVEC L'ACTINONIN.

5.1. Dérivés de l'acide isoxazole-3-hydroxamique

Nous avons reproduit par le docking les interactions de certains dérivés de l'acide Isoxazole-3-hydroxamique testés «in vitro» et comparé leur activité inhibitrice à celle de l'actinonin et d'autres inhibiteurs de la PDF.

Patrizia Cali *et al.* (2004) ont, en effet, identifié une nouvelle classe d'inhibiteurs de la PDF de nature non peptidique et de faible poids moléculaire (tableau 6). Les structures de l'actinonin (1) [3, 103,131] et les structures de base des dérivés de l'acide isoxazole-3-hydroxamique se retrouvent dans la figure 18.

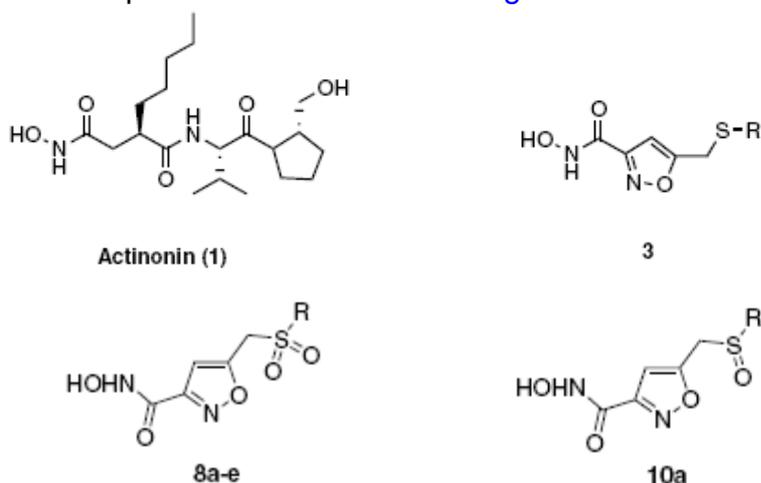


Figure 18. Structure de l'actinonin (1) et structures de base des dérivés de l'acide isoxazole-3-hydroxamique.

Tableau 6. Activité inhibitrice de l'actinonin et de certains dérivés de l'acide Isoxazole-3-hydroxamique sur la PDF de *E.coli* et *S.aureus* d'après Patrizia Cali *et al.* (2004).

| Composés | R | <i>E. coli</i> IC ₅₀ , (μM) ^a | <i>S. aureus</i> IC ₅₀ (μM) ^a |
|----------|-----------------------------|--|--|
| 1 | | 0.0007 | 0.002 |
| 3a | 4-(CH ₃)Ph | 20.0 | 4.0 |
| 3b | 3-(Cl)Ph | 9.8 | 2.3 |
| 3c | 4-(Cl)Ph | 14.5 | 1.3 |
| 3d | 3-(OCH ₃)Ph | 6.5 | 2.2 |
| 3e | 2-(<i>i</i> -Pr)Ph | 14.0 | 7.6 |
| 3f | 4-(OCH ₃)Ph | 31.3 | 24.0 |
| 3g | 2,4,6-(CH ₃)Ph | 29.5 | 37.7 |
| 3h | 2-(Cl)Ph | 62.5 | 3.8 |
| 3i | 3,4-(Cl)Ph | 4.4 | 2.0 |
| 3j | 2-(Br)Ph | 60.0 | 4.9 |
| 3k | 3-(Br)Ph | 7.0 | 2.0 |
| 3l | 4-(F)Ph | 20.7 | 1.5 |
| 3m | 2-(CF ₃)Ph | 25.3 | 9.3 |
| 3n | 4-(CF ₃)Ph | 22.0 | 8.7 |
| 3o | 4-(NHCOCH ₃)Ph | 20.3 | 42.0 |
| 3p | Benzothiophen-2-ylmethyl | 3.4 | 12.7 |
| 3q | 3-(CF ₃)-benzyl | 7.6 | 2.2 |
| 8a | 4-(CH ₃)Ph | 11.5 | 1.4 |
| 8b | 3-(Cl)Ph | 6.8 | 1.7 |
| 8c | 4-(Cl)Ph | 7.5 | 0.8 |
| 8d | 3-(OCH ₃)Ph | 26.3 | 6.5 |
| 8e | 2-(<i>i</i> -Pr)Ph | 10.8 | 3.4 |
| 10a | 4-(CH ₃)Ph | 12.0 | 0.9 |

^a Les valeurs sont les moyennes de 3 essais.

5.2 Noyau indole et ses dérivés (composés agissant spécifiquement sur les PDF bactériennes)

La démonstration récente de l'existence d'une PDF homologue (PDF mitochondriale ou mPDF) chez les humains [81, 82, 142] a fait surgir des objections majeures quant à l'utilisation de cette cible très prometteuse [93,143]. En effet, il a été prouvé que cette PDF était :

- fonctionnelle, donc exprimant une activité de déformylation dans les mitochondries humaines,
- impliquée selon la même voie essentielle que chez les bactéries,
- inhibée in vitro par l'actinonin, antibiotique naturel utilisé dans le design de composés actuellement en phase clinique et
- inhibée in vivo par l'actinonin dans certaines lignées cellulaires [144-146].

Une étude expérimentale réalisée par une équipe de chercheurs, A. Boularot *et al.* 2007 [147], a permis d'identifier de nouveaux composés capables d'inhiber les 2 types de PDF bactériennes mais sans effet significatif sur la PDF humaine. Ces composés sont le noyau indole et ses dérivés (figure 19).

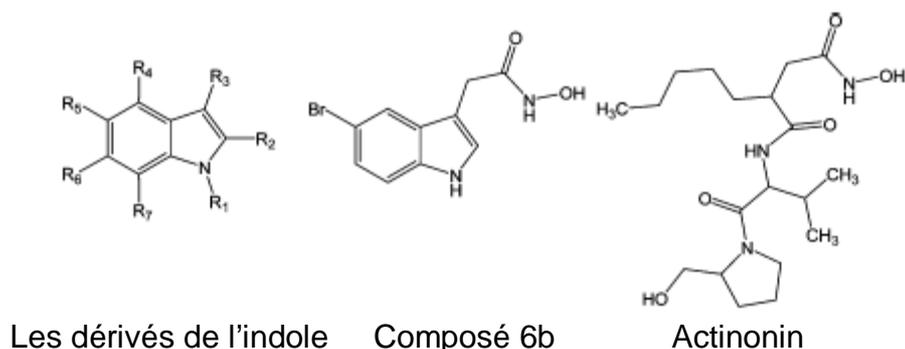
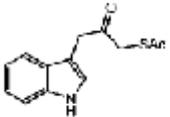
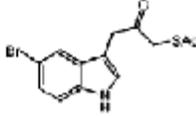
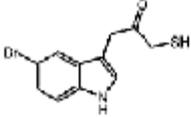
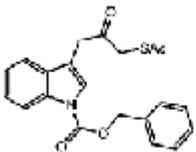
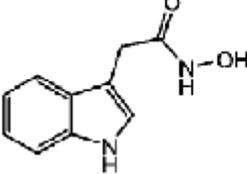
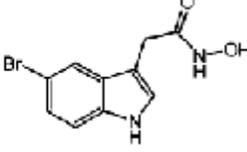
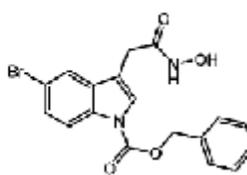
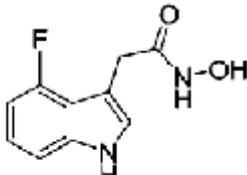
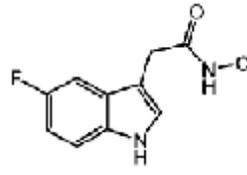
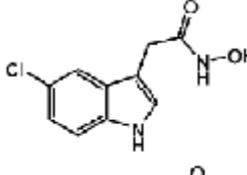
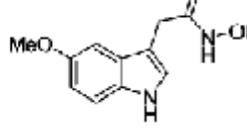


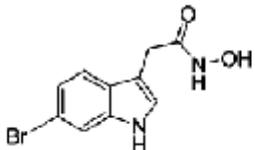
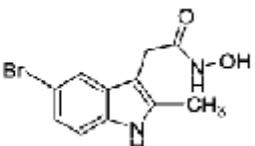
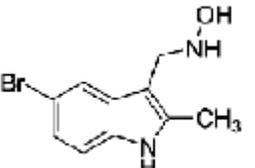
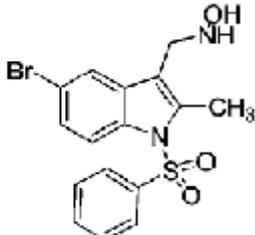
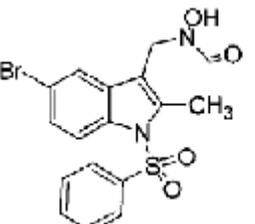
Figure 19. Structures des dérivés de l'indole, du composé 6b et de l'actinonin.

Nous avons choisi, parmi les composés qui figurent dans le [tableau 7](#) ceux qui présentent une activité inhibitrice non négligeable sur les deux PDFs bactériennes, PDF1B et PDF2. Ces composés sont : 6a-6j, 11, 15 et 16.

Tableau 7. Structures et valeurs IC₅₀ associées aux divers types de PDFs d'après A. Boularot *et al.* (2007).

| Composé | Structure chimique | IC ₅₀ (μM) mPDF (human) | IC ₅₀ (μM) AtPDF1A ^a | IC ₅₀ (μM) PDF1B | IC ₅₀ (μM) PDF2 | MIC (μg/mL) <i>E. coli</i> JM101Tr | MIC (μg/mL) <i>B. subtilis</i> |
|-----------|--------------------|------------------------------------|--|-----------------------------|----------------------------|------------------------------------|--------------------------------|
| Actinonin | | 0.6 | 0.027 | 0.01 | 0.01 | 34 | 1.3 |
| 1a | | ND | > 1000 | > 1000 | > 1000 | ND | ND |
| 1b | | ND | > 1000 | 380 | 60 | ND | ND |
| 1c | | ND | > 1000 | 300 | 280 | ND | ND |
| 2 | | ND | 790 | 560 | 250 | ND | ND |

| | | | | | | | |
|------------|---|-----|--------|-------|-------|-------|-----|
| 5a |  | ND | > 1000 | 200 | 200 | ND | ND |
| 5b |  | ND | 170 | 120 | 120 | ND | ND |
| 5'b |  | ND | 200 | 80 | 300 | ND | ND |
| 5c |  | ND | 500 | 350 | 100 | ND | ND |
| 6a |  | ND | > 1000 | 1.4 | 0.3 | 115 | 160 |
| 6b |  | 360 | 130 | 0.035 | 0.013 | 6 | 3.1 |
| 6d |  | ND | 14 | 0.027 | 0.018 | 120 | 16 |
| 6e |  | 700 | > 1000 | 2 | 0.1 | ND | ND |
| 6f |  | ND | 700 | 0.16 | 0.02 | 40 | 27 |
| 6g |  | 600 | 250 | 0.08 | 0.015 | 25 | 13 |
| 6h |  | ND | > 1000 | 9 | 0.33 | > 300 | 155 |

| | | | | | | | |
|----|---|-----|-------|------|-------|-------|-----|
| 6i |  | 250 | 250 | 0.21 | 0.03 | ND | ND |
| 6j |  | 450 | 450 | 3 | 0.1 | > 300 | 220 |
| 11 |  | ND | > 250 | 50 | 1 | ND | ND |
| 15 |  | ND | 500 | 6 | 0.4 | ND | ND |
| 16 |  | 200 | 35 | 0.03 | 0.025 | 65 | 35 |

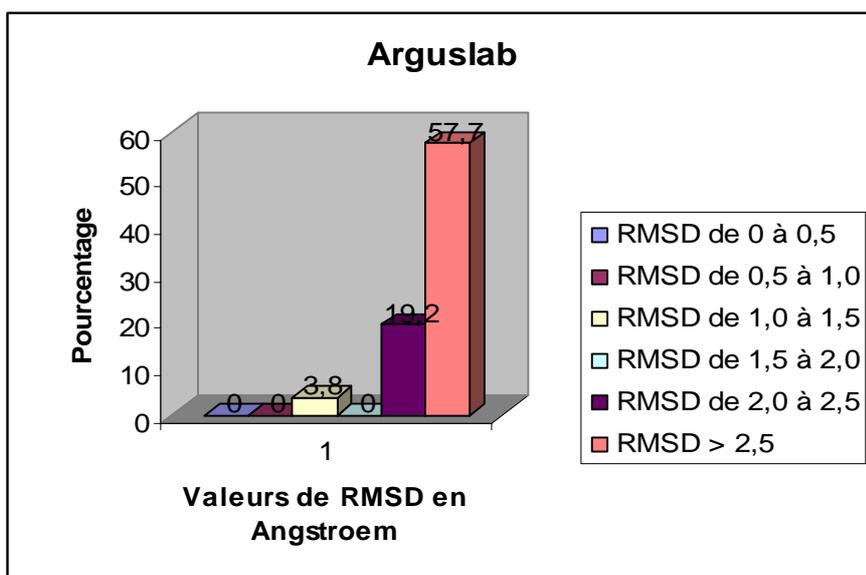
RESULTATS

- CHAPITRE 6 -

1. FIABILITE DES PROGRAMMES UTILISES

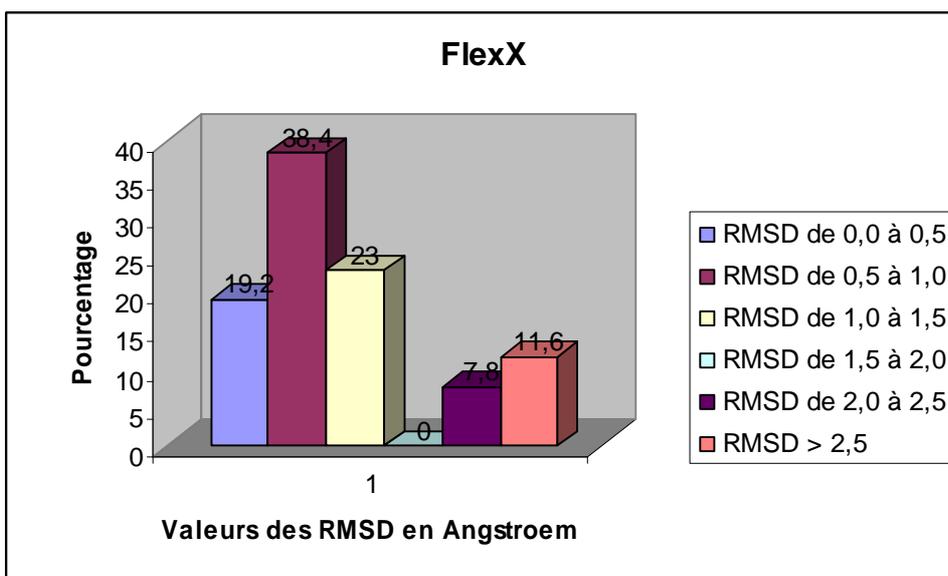
Les tests sur la fiabilité des trois logiciels ont été réalisés sur 126 complexes. Toutes les valeurs de RMSD $\leq 2 \text{ \AA}$ sont considérées comme positives. Dans les graphes suivants, les résultats sont donnés en pourcent (%), à divers intervalles de RMSD, pour les trois programmes : Arguslab, FlexX et Surfex.

Graph 1 : Résultats en % obtenus par Arguslab à divers intervalles de RMSD (\AA).

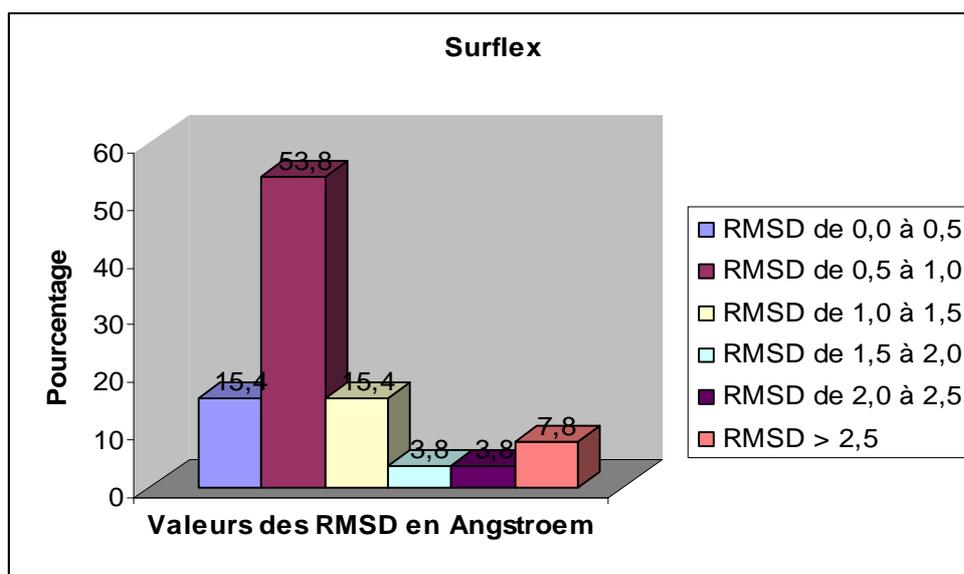


Arguslab présente le plus faible pourcentage de résultats positifs (3,8 %). Il faut également noter que 19,3 % des complexes n'ont pu être reproduit par ce programme.

Graph 2 : Résultats en % obtenus par FLeX à divers intervalles de RMSD (\AA).

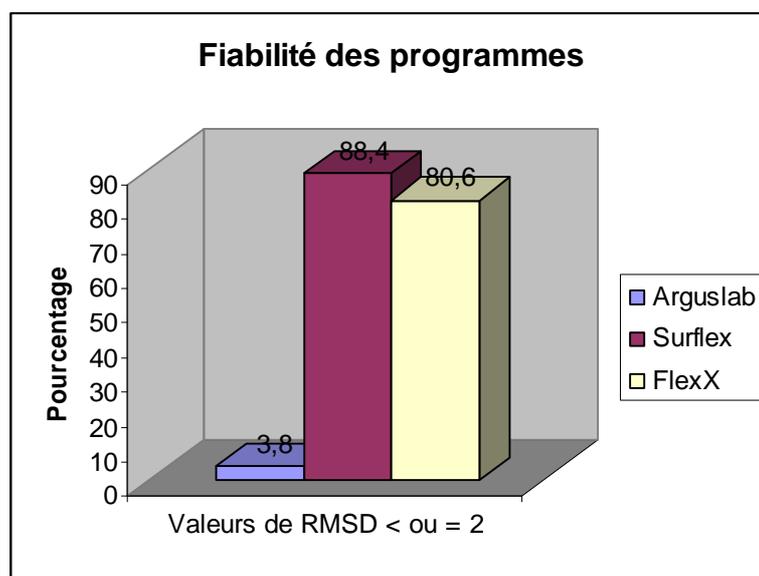


Graphe 3 : Résultats en % obtenus par Surfex à divers intervalles de RMSD (Å).



La majorité des résultats positifs se situe dans l'intervalle 0,5 – 1,0 Å pour FlexX et Surfex.

Graphe 4 : Comparaison des trois programmes.



1.1. Nous remarquons d'après ces résultats que le programme Surfex reproduit bien les données expérimentales, et à un degré moindre FlexX. En effet, 88,4 % des valeurs de RMSD sont inférieures à 2Å pour le premier, 80,6 % pour le second. Par contre, Arguslab ne peut pas être utilisé pour le docking car il donne des valeurs de RMSD qui ne correspondent pas aux normes, avec seulement 3,8 % de résultats positifs.

Les résultats de docking des trois complexes, le 2ew6 (le meilleur), le 1icj (l'intermédiaire) et le 1rl4 (le plus mauvais), sont montrés dans les figures suivantes. La meilleure conformation du ligand générée par le docking (mauve) est superposée à la pose expérimentale du ligand naturel (vert).

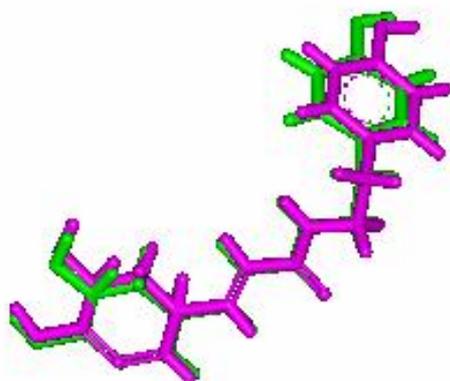


Figure 20 : 2ew6

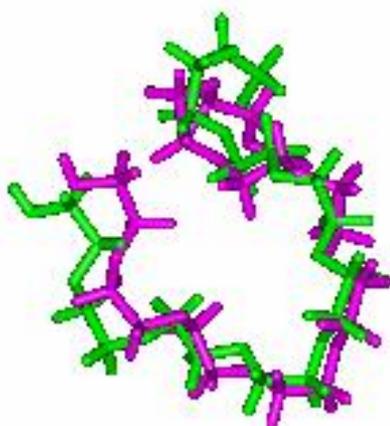


Figure 21 : 1icj

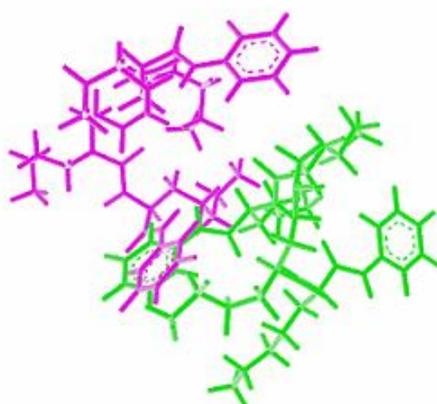


Figure 22 : 1rl4

Dans le premier cas, avec un RMSD de 0.316 Å, la superposition est presque parfaite; dans le deuxième cas, avec un RMSD de 3.267 Å, elle l'est moins; alors que dans le troisième cas, avec un RMSD de 10.945 Å elle ne l'est pas du tout.

1.2. 28 liaisons rotatives (liaisons simples ou liaisons sigma pouvant tourner librement) présentes dans le composé bl5 (ligand du complexe 1rl4) est probablement la raison pour laquelle il donne un mauvais RMSD par les 3 programmes. 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.

2. INHIBITION DE LA 1BSJ

2.1. Règle de Lipinski

Avant d'entamer le calcul des interactions entre l'enzyme et les cinq composés, il est nécessaire d'évaluer les paramètres permettant leur validation comme antibiotiques (Tableau 8).

Tab 8. Critères de la règle de Lipinski pour les 5 composés.

| Composés | PM | nOH,NH | nO,N | ClogP | nrotb |
|----------|-----|--------|------|-------|-------|
| MLN | 429 | 3 | 10 | 0.68 | 14 |
| BB-3497 | 330 | 2 | 7 | 0.94 | 13 |
| BBS | 269 | 2 | 4 | 1.36 | 9 |
| BBS2 | 285 | 2 | 5 | 2.16 | 9 |
| 1BB2 | 384 | 3 | 8 | 1.33 | 15 |

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 remarquons que les 5 composés utilisés dans cette étude répondent à la règle de 5 de Lipinski.

2.2. Inhibition de la PDF par les 5 composés connus:

2.2.1. Complexe I : 1bsj-MLN

Pour les différents complexes, nous avons retenu le meilleur résultat uniquement.

► Résultats obtenus par FlexX :

Tab 9. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -26.427 | -28.958 | -12.372 | -12.051 | 4.754 | 16.800 | 10 | 1 |

-Total-score = Match-score + Lipo-score + Ambig-score + Clash-score + Rot-Score + ΔG_0

- Match-score = énergie des interactions de niveau 3 et de niveau 2 entre les différents groupes d'atomes.

- Lipo-score = énergie des contacts lipophiliques.

- Ambig-score = énergie des contacts lipo-hydrophiliques.
- Clash-score = énergie d'encombrement stérique.
- Rot-score = énergie d'immobilisation des liaisons rotatives du ligand.
- ΔG_0 = énergie constante représentant l'entropie conformationnelle du ligand.
- #Match = nombre d'interactions entre le ligand et les acides aminés du site actif.
- Frag No. = numéro de la fragmentation du ligand.
- Le rapport clash-score/total-score ne doit pas dépasser 10% pour un bon complexe.

Tab 10. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. Fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | O3 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -0.70 | 0.18 | 1.00 | -1.12 |
| 1 | C22 | phenyl_center | CD1 | ILE | A | 86 | ch3_phe | -0.70 | 0.47 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | C22 | phenyl_center | CD1 | ILE | A | 44 | ch3_phe | -0.70 | 0.22 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | C22 | phenyl_center | CD1 | LEU | A | 125 | ch3_phe | -0.70 | 0.36 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | O21 | h_acc | N | GLY | A | 89 | h_don | -4.70 | 0.07 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | N13 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.09 | 1.00 | -3.84 |
| 1 | O12 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.30 | 0.99 | -4.66 |
| 1 | O3 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.16 | 1.00 | -3.54 |
| 1 | O4 | h_don | O | GLY | A | 45 | h_acc | -4.70 | 0.08 | 1.00 | -4.50 |
| 1 | O5 | h_don | OE2 | GLU | A | 133 | h_acc | -4.70 | 0.23 | 1.00 | -4.49 |

Sur les dix interactions, trois ont lieu entre le carbone CD1 de trois résidus d'acides aminés (Ile44, Ile86 et Leu125) et le centre du noyau phényle du ligand et sept sont des liaisons H dont une seule possède une énergie optimale de -4,70 Kj (dernière colonne du tableau 10). En effet, toutes les autres dévient d'une façon plus ou moins importante de la position idéale et leurs énergies varient de -1,12 à -4,66 Kj.

➤ Résultats obtenus par Surflex :

- Ligand\mln: 58 atoms, 12 rot: [log-0: 5.31 crash -1.31 polar 3.36]
 - log-0 est la première et la meilleure solution parmi les dix qui sont données, par défaut, par le programme.
 - La première valeur, 5.31, représente l'affinité ou $-\log K_D$ ou encore pK_D .
 - La 2^{ème} valeur ou crash, -1.31, correspond au degré de pénétration inappropriée du ligand dans la protéine. Des valeurs de crash se rapprochant de 0.0 sont favorables.
 - La dernière valeur, désignée par polar, 3.36, correspond au niveau de contribution des interactions polaires.

Malgré un nombre assez important d'interactions (10) et de résidus d'acides aminés (8) qui interviennent, l'énergie de liaison (total-score) reste assez faible (-26,427 Kj/mol), ainsi que l'affinité (5.31).

2.2.2. Complexe II : 1bsj-BB3497

➤ FlexX :

Tab 11. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -19.040 | -25.032 | -8.965 | -8.365 | 5.322 | 12.600 | 7 | 2 |

Tab 12. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | O4 | h_don | O | GLY | A | 45 | h_acc | -4.70 | 0.02 | 1.00 | -4.45 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.67 | 0.08 | -0.04 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 136 | h_don | -4.70 | 0.23 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 132 | h_don | -4.70 | 0.08 | 1.00 | -3.24 |
| 1 | O12 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.09 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | N13 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.23 | 1.00 | -4.53 |
| 1 | O17 | h_acc | N | GLY | A | 89 | h_don | -4.70 | 0.41 | 0.72 | -3.36 |

➤ Surflex :

- Ligand\bb3497: 54 atoms, 9 rot: [log-0: 4.18 crash -1.13 polar 3.61]

Le BB3497 est le ligand qui présente l'énergie de liaison (-19,040 Kj/mol) et l'affinité (4,18 M⁻¹) les plus basses. Cela est probablement dû au nombre le plus faible d'interactions, qui est de sept seulement.

2.2.3. Complexe III : 1bsj-BBS

➤ FlexX :

Tab 13. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -27.811 | -25.167 | -11.241 | -9.666 | 3.063 | 9.800 | 9 | 1 |

Tab 14. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | C13 | phenyl_center | CD1 | LEU | A | 91 | ch3_phe | -0.70 | 0.88 | 0.31 | -0.04 |
| 1 | C13 | phenyl_center | C | CYS | A | 90 | Amide | -0.70 | 0.26 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | C13 | phenyl_center | CD2 | LEU | A | 91 | ch3_phe | -0.70 | 0.12 | 1.00 | -0.22 |
| 1 | C13 | phenyl_center | C | GLY | A | 89 | Amide | -0.70 | 0.49 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | O12 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.01 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O1 | h_don | OE1 | GLN | A | 50 | h_acc | -4.70 | 0.04 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.03 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | OE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.24 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | N2 | h_don | O | GLY | A | 45 | h_acc | -4.70 | 0.18 | 1.00 | -4.70 |

➤ Surflex :

- Ligand\bbs: 37 atoms, 7 rot: [log-0: 6.16 crash -0.98 polar 2.82]

Avec seulement cinq liaisons H mais en position idéale, le BBS possède une énergie d'interaction assez élevée -27.811 Kj/mol et surtout une bonne affinité (6.16 M⁻¹).

2.2.4. Complexe IV : 1bsj-BBS2

➤ FlexX :

Tab 15. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -28.076 | -29.406 | -10.720 | -8.452 | 5.302 | 9.800 | 11 | 2 |

Tab 16. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | C14 | phenyl_center | C | CYS | A | 90 | amide | -0.70 | 0.18 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | C14 | phenyl_center | CD1 | LEU | A | 91 | ch3_phe | -0.70 | 0.53 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | C14 | phenyl_center | CD2 | LEU | A | 91 | ch3_phe | -0.70 | 0.32 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | C14 | phenyl_center | C | GLY | A | 89 | amide | -0.70 | 0.18 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | O12 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.35 | 0.87 | -2.03 |
| 1 | O13 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.15 | 1.00 | -1.08 |
| 1 | O13 | h_acc | N | GLY | A | 45 | h_don | -4.70 | 0.14 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O1 | h_don | OE1 | GLN | A | 50 | h_acc | -4.70 | 0.17 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.05 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.11 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | N2 | h_don | O | GLY | A | 45 | h_acc | -4.70 | 0.12 | 1.00 | -4.70 |

➤ Surflex :

- Ligand\ **bbs2**: 38 atoms, 7 rot: [log-0: 4.25 crash -1.36 polar 1.76]

Totalisant un nombre de onze interactions dont sept liaisons H, le BBS2 possède la meilleure énergie après l'actinonin, cependant son affinité est bien inférieure à celles du MLN ou du BBS.

2.2.5. Complexe V : 1bsj-1BB2

➤ FlexX :

Pour le meilleur complexe, 1bsj - 1BB2, nous avons retenu les 5 meilleurs résultats.

Tab 17. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -31.880 | -36.407 | -13.439 | -11.572 | 3.138 | 21.000 | 9 | 0 |
| 2 | -31.728 | -36.407 | -13.529 | -11.530 | 3.338 | 21.000 | 9 | 0 |
| 3 | -30.782 | -36.407 | -12.960 | -11.152 | 3.338 | 21.000 | 9 | 0 |
| 4 | -30.713 | -36.407 | -13.054 | -11.250 | 3.598 | 21.000 | 9 | 0 |
| 5 | -30.701 | -36.407 | -13.555 | -11.555 | 4.417 | 21.000 | 9 | 0 |

Tab 18. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Lig. ANo. | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | O27 | 27 | h_acc | NH1 | ARG | A | 97 | h_don | -4.70 | 0.46 | 0.60 | -0.71 |
| 1 | O20 | 20 | h_acc | N | GLY | A | 89 | h_don | -4.70 | 0.16 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | N14 | 14 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.11 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O13 | 13 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.17 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | 4 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.12 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | 4 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.24 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O1 | 1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 136 | h_don | -4.70 | 0.13 | 1.00 | -3.94 |
| 1 | N2 | 2 | h_don | OE2 | GLU | A | 133 | h_acc | -4.70 | 0.37 | 0.83 | -3.90 |
| 1 | O1 | 1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 132 | h_don | -4.70 | 0.29 | 1.00 | -4.37 |

Name : 1BB2_min

SMILES : ONC(CC(C(NC(C(N1C(CCC1)CO)=O)C(C)C)=O)CCCC)=O

atoms (non-H) : 27

rot. bonds : 15

ring systems : 1

Conformations :

components : 17
star components : 2
conformations : 2.2e+13

Name : 1bsj

atoms (non-H) : 1329
atoms (active site) : 211
atoms (interacting) : 206
GLN A 4; VAL A 5; HIS A 7; ILE A 8; PRO A 9; ASP A 10;
LEU A 13; ARG A 14; VAL A 20; GLU A 21; GLU A 22; VAL A 23;
GLN A 28; VAL A 31; GLU A 41; GLU A 42; GLY A 43; ILE A 44;
GLY A 45; LEU A 46; THR A 49; GLN A 50; ARG A 56; ILE A 73;
LEU A 77; GLU A 79; LYS A 80; THR A 84; ILE A 86; GLU A 87;
GLU A 88; GLY A 89; CYS A 90; LEU A 91; ILE A 93; PRO A 94;
GLU A 95; GLN A 96; ARG A 97; ALA A 98; PRO A 101; ARG A 102;
ALA A 103; GLU A 104; LYS A 105; VAL A 106; LYS A 107; ILE A 108;
ARG A 109; LEU A 111; ARG A 113; PHE A 118; GLU A 119; LEU A 120;
GLU A 121; GLY A 124; LEU A 125; ILE A 128; CYS A 129; ILE A 130;
GLN A 131; HIS A 132; GLU A 133; MET A 134; ASP A 135; HIS A 136;
LEU A 137; VAL A 138; GLY A 139; LYS A 140; LEU A 141; PHE A 142;
MET A 143; TYR A 145; LEU A 146; LYS A 150; ARG A 153; ILE A 154;
ARG A 155; LYS A 157; LEU A 161; ASP A 162; LYS A 165; ALA A 166;

N.B : Un critère fondamental dont il faut tenir compte dans les résultats de FlexX c'est le pourcentage du clash score par rapport au total score ; en effet celui-ci ne doit pas dépasser la valeur de 10% pour un bon complexe. Dans le cas du 1BB2 il est égal à 9.8.

➤ Surflex :

- Ligand\1bb2: 62 atoms, 15 rot: [log-0: 6.97 crash -0.88 polar 4.64]

Les énergies de liaisons calculées entre la PDF et les cinq ligands, ainsi que leurs affinités sont présentées dans le tableau19.

Tab 19. Energies des interactions et affinités des cinq composés.

| Composés | MLN | BB3497 | BBS | BBS2 | 1BB2 |
|----------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| E _{tot} en KJ/mol | -26.427 | -19.040 | -27.811 | -28.076 | -31.880 |
| Affinités | 5.31 | 4.18 | 6.16 | 4.25 | 6.97 |

Les énergies de liaisons sont calculées par le programme FlexX et les affinités par le programme Surflex.

Le meilleur résultat, pour les 2 programmes, est obtenu par le composé 1BB2 (actinonin) qui présente la plus basse énergie de liaison, $\Delta G = -31,880$ Kj/mole et la plus forte affinité (6.97). En effet il établit le plus grand nombre de liaisons H (9) avec la PDF, impliquant les acides aminés suivants : Ile44, Gln50, Gly89, Leu91, Arg97, His132, Glu133 et His136 (figure 23).

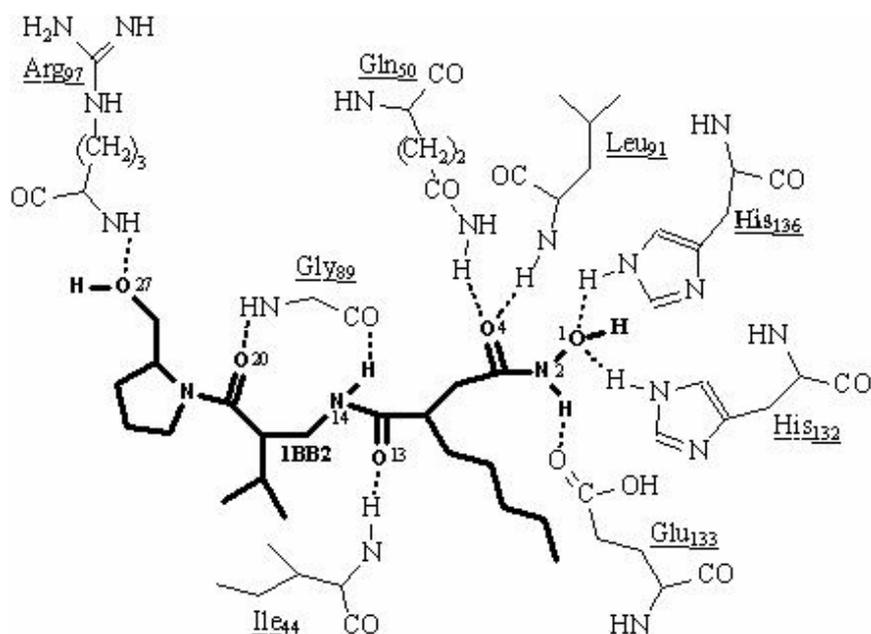


Figure 23 : Complexe 1bsj-1bb2

3. ESSAIS DE MODÉLISATION

3.1. Ligands et similaires

7 PDFs, dont la 1bsj, complexées à 7 composés différents, dont l'actinonin ou le 1bb2, ont été choisies pour cette étude.

La PDB propose un grand nombre de similaires (30) pour chaque ligand, nous avons jugé intéressant de les tester, cependant les molécules les plus volumineuses ont été écartées.

Il s'agit de calculer les interactions entre les différentes PDFs et leurs différents ligands et similaires, en utilisant le programme Surflex, et proposer le ou les meilleurs inhibiteurs de l'enzyme. Les meilleures affinités, pour chaque enzyme, sont notées en caractère gras. Le premier résultat est celui du ligand initial et les autres correspondent à ses similaires. Nous citons ici les deux ou trois meilleurs résultats uniquement, les autres sont dans l'annexe 3.

3.1.1. La 1bsj

- 1bsj-mln-sim\lig\bortezomib: 53 atoms, 13 rot: [log-30: **6.29** crash -1.41 polar 4.07]
- 1bsj-mln-sim\lig\spaglucacid: 37 atoms, 14 rot: [log-220: **5.58** crash -1.54 polar 5.53]

Les résultats montrent que seuls deux similaires, parmi les 24, présentent une meilleure affinité à l'enzyme que le mln ou ligand naturel. Ce sont : le bortezomib et le spaglucacid (tableau 20). Le bortezomib, avec une affinité de 6.29, semble être le meilleur inhibiteur de l'enzyme (figure 24).

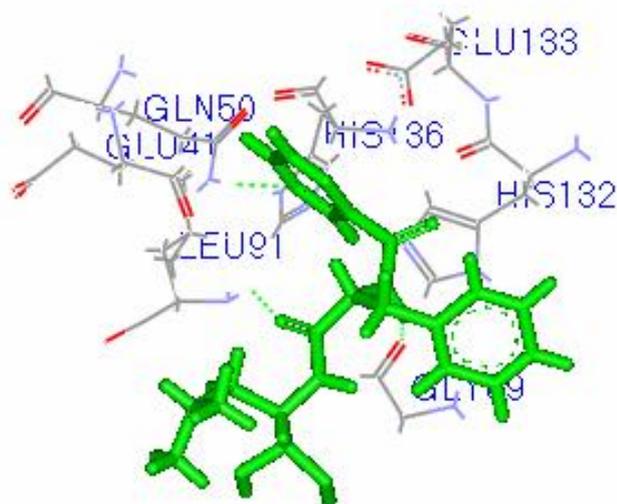


Figure 24 : Complexe 1bsj-bortezomib

C'est également le seul composé à répondre à tous les critères de la règle de Lipinski.

Tab 20. Paramètres de Lipinski pour les deux composés

| Composés | PM | nOH,NH | nO,N | ClogP | nrotb |
|-------------|-----|--------|------|-------|-------|
| Bortezomib | 384 | 4 | 8 | 1.16 | 9 |
| Spaglucacid | 304 | 5 | 10 | -2.09 | 9 |

Pour le spaglucacid, la lipophilie n'est pas correcte.

3.1.2. La 1g2a

- 1g2a-bb2-sim\lig\1bb2: 60 atoms, 15 rot: [log-0: **7.04** crash -1.72 polar 5.95]
- 1g2a-bb2-sim\lig\ornipressin: 135 atoms, 22 rot: [log-100: **6.51** crash -5.06 polar 6.69]
- 1g2a-bb2-sim\lig\ximelagatran: 69 atoms, 16 rot: [log-180: **6.90** crash -3.74 polar 4.12]

Parmi les 18 similaires testés, seuls le ximelagatran et l'ornipressin possèdent des affinités (6.90 et 6.51 respectivement) proches de celle de l'actinonin (1bb2), qui reste, cependant, le meilleur inhibiteur de la 1g2a avec une affinité de 7.04 et un ensemble de 9 liaisons H établies avec l'enzyme (figure 25).

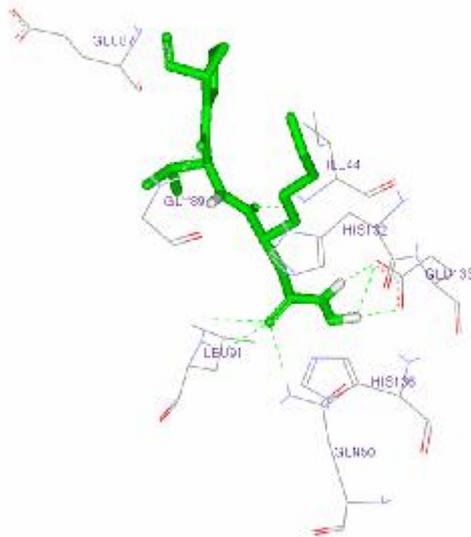
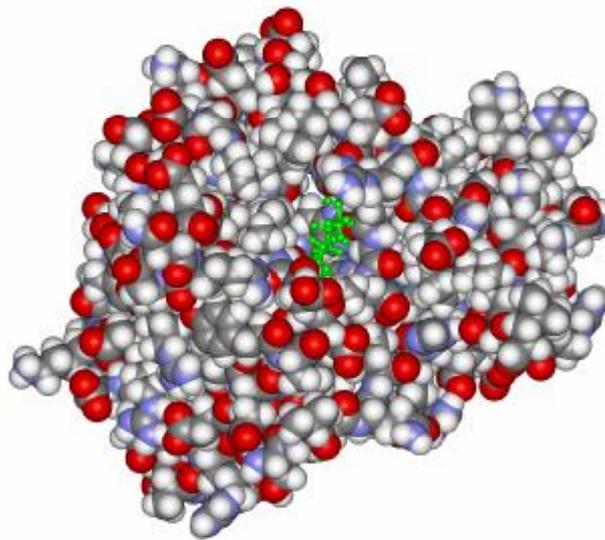


Figure 25 : Complexe 1g2a-1bb2

3.1.3. La 1g27

- 1g27-bb1-sim\lig\1bb1: 53 atoms, 10 rot: [log-0: **6.23** crash -1.77 polar 4.99]
- 1g27-bb1-sim\lig\alanylglutamine: 30 atoms, 8 rot:[log-10: **6.50** crash -1.80 polar 6.44]
- 1g27-bb1-sim\lig\ibandronicacid: 42 atoms, 14 rot: [log-70: **6.04** crash -3.32 polar 6.99]
- 1g27-bb1-sim\lig\spaglumericacid: 37 atoms, 14 rot: [log-210: **6.05** crash -2.47 polar 6.27]
- 1g27-bb1-sim\lig\ximelagatran: 69 atoms, 16 rot: [log-250: **6.01** crash -4.35 polar 2.84]

25 similaires du BB1 ou BB-3497 ont été testés et un seul parmi eux montre une affinité supérieure à celle du ligand naturel (6.23). Il s'agit de l'alanylglutamine dont le pK_D est de 6.50. Cependant, il faut également noter que trois autres similaires présentent de bonnes affinités, l'ibandronicacid (6.04), le spaglumericacid (6.05) et le ximelagatran (6.01) (figure 26).



[Figure 26](#) : Complexe 1q27-alanylglutamine.

Une des critères de la règle de Lipinski n'est pas respecté, c'est le logP qui est égal à -2.21 ([tableau 21](#)).

Tab 21. Paramètres de Lipinski pour l'alanylglutamine

| Composé | PM | nOH,NH | nO,N | ClogP | nrotb |
|-----------------|-----|--------|------|-------|-------|
| Alanylglutamine | 217 | 6 | 7 | -2.21 | 6 |

La lipophilie, dans ce cas, n'est pas dans les normes.

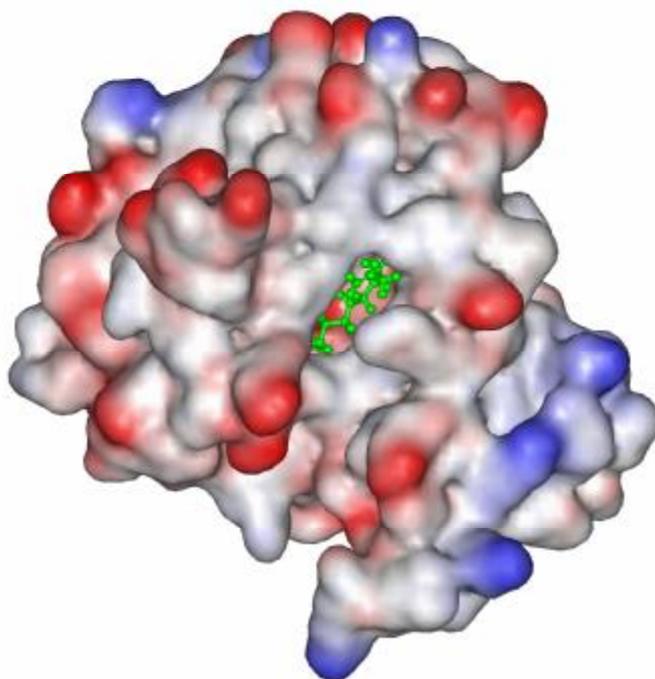
314. 1xeo

- 1xeo-fmt-sim\lig\undecylenic: 33 atoms, 10 rot: [log-230: **6.08** crash -2.00 polar 3.18]

Le ligand naturel, le fmt, est le composé qui a la plus faible affinité (2.16) dans le cas de la 1xeo. En effet, tous les similaires ont une affinité supérieure et la plus élevée est celle de l'acide undecylenique (6.08) ([figure 27](#)), il répond parfaitement à la règle de Lipinski ([tableau 22](#)).

Tab 22. Critères de Lipinski pour l'acide undecylenique.

| Composé | PM | nOH,NH | nO,N | ClogP | nrotb |
|---------------------|-----|--------|------|-------|-------|
| Acide undecylenique | 184 | 1 | 2 | 4.36 | 9 |

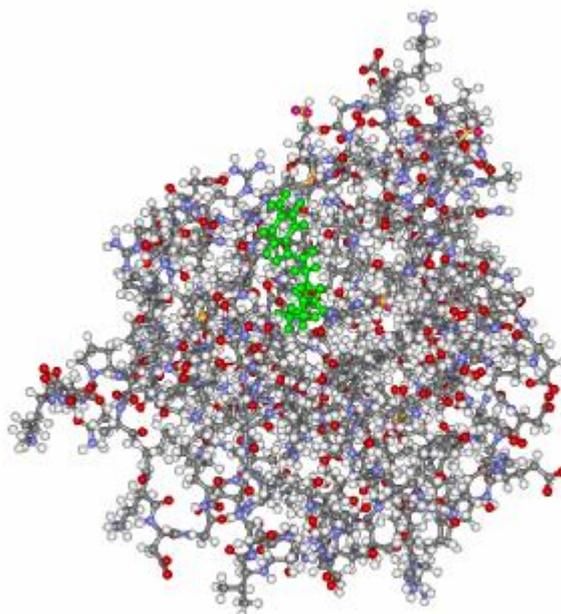


[Figure 27](#) : 1xeo-acide undecylènique.

3.1.5. La 2ai7

- 2ai7-sb7-sim\lig\bufexamac: 33 atoms, 7 rot: [log-80: **6.91** crash -1.64 polar 4.99]
- 2ai7-sb7-sim\lig\phenprobamate: 26 atoms, 5 rot: [log-240: **6.96** crash -1.55 polar 4.97]

Parmi les 28 similaires utilisés, un nombre non négligeable possède une affinité plus élevée que celle du ligand naturel, le sb7 (4.89), et surtout pour deux d'entre eux avec des valeurs très largement supérieures : phenprobamate (6.96) ([figure 28](#)) et bufexamac (6.91).



[Figure 28](#) : 2ai7-phenprobamate.

Les deux composés répondent à la règle de Lipinski.

Tab 23. Règle de Lipinski pour le phenprobamate et le bufexamac

| Composés | PM | nOH,NH | nO,N | ClogP | nrotb |
|---------------|-----|--------|------|-------|-------|
| Phenprobamate | 179 | 2 | 3 | 2.21 | 5 |
| Bufexamac | 223 | 2 | 4 | 2.40 | 6 |

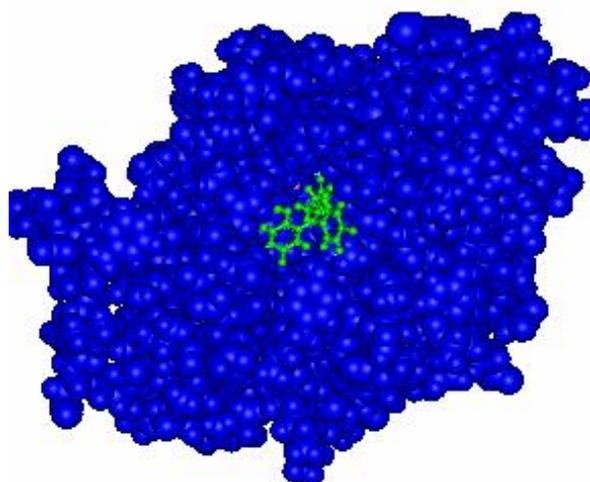
3.1.6. La 2aia

- 2aia-sb8-sim\lig\adrafinit: 37 atoms, 7 rot: [log-10: **6.10** crash -2.61 polar 5.86]
- 2aia-sb8-sim\lig\progabide: 39 atoms, 8 rot: [log-210: **6.19** crash -0.91 polar 5.01]

Avec des valeurs de pK_D de 6.19 et 6.10, bien supérieures à celle du ligand naturel, le sb8 (4.25), le progabide (figure 29) et l'adrafinit sont les meilleurs inhibiteurs de la 2aia et respectent parfaitement la règle de Lipinski (tableau 24).

Tab 24. Règle de Lipinski pour le progabide et l'adrafinit

| Composés | PM | nOH,NH | nO,N | ClogP | Nrotb |
|-----------|-----|--------|------|-------|-------|
| Progabide | 335 | 3 | 4 | 3.38 | 6 |
| Adrafinit | 291 | 2 | 4 | 0.55 | 5 |

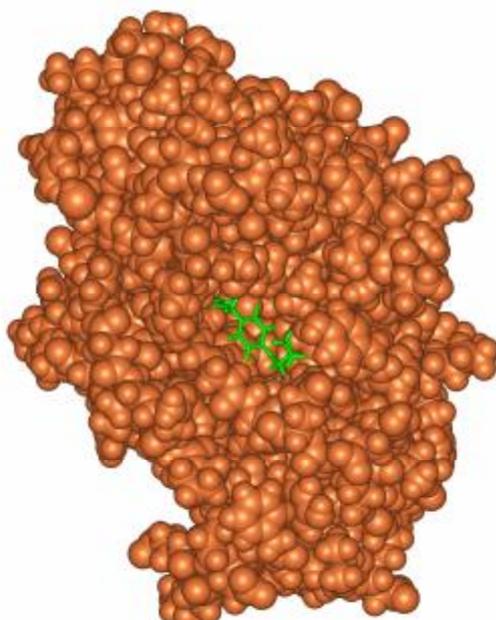


[Figure 29](#) : 2aia-progabide.

3.1.7. La 2aie

- 2aie-sb9-sim\lig\bufexamac: 33 atoms, 8 rot: [log-30: **6.85** crash -1.02 polar 4.91]
- 2aie-sb9-sim\lig\phenprobamate: 26 atoms, 5 rot: [log-180: **6.67** crash -1.60 polar 5.15]

Le bufexamac (figure 30) et le phenprobamate constituent les principaux inhibiteurs de la 2aie, avec des valeurs de pK_D de 6.85 et 6.67, valeurs largement supérieures à 4.82 pour le sb9.



[Figure 30 : 2aie-bufexamac.](#)

- La majorité des similaires proposés par la PDB possède une affinité supérieure à celle des ligands naturels.
 - Dans le cas de la 1g2a, le seul, aucun des similaires ne présente une affinité meilleure que celle du ligand naturel, le 1BB2 ou l'actinonin.
 - Nous remarquons que les deux programmes, FlexX et Surflex, sont plus efficaces en présence de petites molécules de ligand.
- Les deux études précédentes montrent que, parmi tous les ligands testés, l'actinonin (1BB2) constitue le meilleur inhibiteur de la peptide déformylase. Nous avons, donc, tenté d'améliorer son affinité à l'enzyme en procédant à diverses substitutions.

3.2. SUBSTITUTIONS EFFECTUEES SUR L'ACTINONIN

3.2.1 Mono substitutions

L'énergie d'interaction a augmenté et notamment pour le composé 2BB2 (-34.006 Kj/mol), le 5BB2 (-33.847 Kj/mol) et le 6BB2 (-35.316 Kj/mol), suite à une augmentation du nombre d'interactions, dix pour le 2BB2 et le 5BB2 et onze pour le 6BB2. De même, l'affinité a été améliorée, de manière significative, pour les composés suivants : le 2BB2 (6.60), le 5BB2 (7.09) et le 6BB2 (7.59).

➤ Complexe I : 1bsj-2BB2.

● FlexX

Tab 25. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -34.006 | -41.108 | -12.869 | -11.618 | 5.190 | 21.000 | 10 | 0 |

Tab 26. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | O11 | h_don | O | GLU | A | 41 | h_acc | -4.70 | 0.28 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O27 | h_acc | NH1 | ARG | A | 97 | h_don | -4.70 | 0.46 | 0.60 | -0.71 |
| 1 | O20 | h_acc | N | GLY | A | 89 | h_don | -4.70 | 0.16 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | N14 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.11 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O13 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.17 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.12 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.24 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 136 | h_don | -4.70 | 0.13 | 1.00 | -3.94 |
| 1 | N2 | h_don | OE2 | GLU | A | 133 | h_acc | -4.70 | 0.37 | 0.83 | -3.90 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 132 | h_don | -4.70 | 0.29 | 1.00 | -4.37 |

- **Surflex**

- Ligand\2BB2: 60 atoms, 15 rot: [log-0: 6.60 crash -2.15 polar 4.28]

Cette première substitution a permis d'augmenter le nombre de liaisons H qui est passé à dix, entraînant ainsi une augmentation de l'énergie d'interaction, par contre l'affinité a légèrement baissé.

➤ **Complexe II : 1bsj-3BB2.**

- **FlexX**

Tab 27. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -31.056 | -36.408 | -12.034 | -11.123 | 4.908 | 18.200 | 9 | 0 |

Tab 28. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | O27 | h_acc | NH1 | ARG | A | 97 | h_don | -4.70 | 0.46 | 0.60 | -0.71 |
| 1 | O20 | h_acc | N | GLY | A | 89 | h_don | -4.70 | 0.16 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | N14 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.11 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O13 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.17 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.12 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.24 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 136 | h_don | -4.70 | 0.13 | 1.00 | -3.94 |
| 1 | N2 | h_don | OE2 | GLU | A | 133 | h_acc | -4.70 | 0.37 | 0.83 | -3.90 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 132 | h_don | -4.70 | 0.29 | 1.00 | -4.37 |

- **Surflex**

- Ligand\3BB2: 55 atoms, 13 rot: [log-0: 4.35 crash -3.43 polar 3.18]

C'est le seul cas où le nombre de liaisons n'a pas changé. Cependant l'énergie de liaison a baissé, ainsi que l'affinité.

➤ **Complexe III : 1bsj-4BB2.**

- **FlexX**

Tab 29. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -30.101 | -38.204 | -8.683 | -11.751 | 3.037 | 19.600 | 10 | 0 |

Tab 30. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. Fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | O27 | h_don | O | ILE | A | 93 | h_acc | -4.70 | 0.04 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O27 | h_acc | N | GLU | A | 95 | h_don | -4.70 | 0.43 | 0.68 | -0.32 |
| 1 | O11 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.07 | 1.00 | -3.73 |
| 1 | O10 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.03 | 1.00 | -4.48 |
| 1 | O9 | h_acc | N | GLY | A | 89 | h_don | -4.70 | 0.05 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.44 | 0.65 | -3.04 |
| 1 | O4 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.19 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 136 | h_don | -4.70 | 0.13 | 1.00 | -4.42 |
| 1 | N2 | h_don | OE2 | GLU | A | 133 | h_acc | -4.70 | 0.36 | 0.86 | -4.04 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 132 | h_don | -4.70 | 0.25 | 1.00 | -4.07 |

- **Surflex**

- Lig\4BB2: 53 atoms, 14 rot: [log-0: 4.50 crash -3.82 polar 3.84]

Bien que le nombre de liaisons ait augmenté, l'énergie d'interaction a baissé, de même que l'affinité. Cela peut s'expliquer par une des liaisons H, celle qui a lieu entre l'oxygène O27 du ligand et l'azote de Glu 95, qui est loin de sa géométrie idéale (-0.32 Kj/mol seulement au lieu de -4.70 Kj/mol).

➤ **Complexe IV : 1bsj-5BB2.**

- **FlexX**

Tab 31. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -33.847 | -42.125 | -11.030 | -7.521 | 3.229 | 18.200 | 10 | 1 |

Tab 32. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | O10 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.44 | 0.66 | -1.75 |
| 1 | N11 | h_don | O | GLU | A | 42 | h_acc | -4.70 | 0.01 | 1.00 | -4.04 |
| 1 | O27 | h_don | O | GLU | A | 87 | h_acc | -4.70 | 0.22 | 1.00 | -4.66 |
| 1 | O20 | h_acc | N | GLY | A | 89 | h_don | -4.70 | 0.11 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O13 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.14 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.19 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.11 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 136 | h_don | -4.70 | 0.18 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | N2 | h_don | OE2 | GLU | A | 133 | h_acc | -4.70 | 0.36 | 0.85 | -3.99 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 132 | h_don | -4.70 | 0.23 | 1.00 | -4.18 |

- **Surflex**

Ligand\5BB2: 57 atoms, 13 rot: [log-0: 7.09 crash -1.42 polar 3.93]

- Bien que son énergie de liaison (-33.847 Kj/mol) soit inférieure à celle du 2BB2 (-34.006 Kj/mol) mais une affinité de 7.09, le 5BB2 est le meilleur inhibiteur après le 6BB2.

- Le rapport clash score / total score = 9.53 %.

► **Complexe V : 1bsj-6BB2.**

• **FlexX**

Tab 33. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -35.316 | -43.104 | -11.869 | -11.307 | 3.164 | 22.400 | 11 | 1 |
| 2 | -32.379 | -40.050 | -11.387 | -11.080 | 3.338 | 22.400 | 10 | 1 |
| 3 | -32.212 | -40.618 | -11.392 | -11.340 | 4.337 | 22.400 | 10 | 1 |
| 4 | -31.657 | -39.144 | -11.465 | -11.438 | 3.591 | 22.400 | 10 | 1 |
| 5 | -31.480 | -39.144 | -11.839 | -11.755 | 3.457 | 22.400 | 10 | 1 |

Tab 34. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Lig. ANo. | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | N11 | 11 | h_don | OE2 | GLU | A | 42 | h_acc | -4.70 | 0.32 | 0.94 | -2.00 |
| 1 | N11 | 11 | h_don | OE2 | GLU | A | 41 | h_acc | -4.70 | 0.20 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O27 | 27 | h_acc | NH1 | ARG | A | 97 | h_don | -4.70 | 0.46 | 0.60 | -0.71 |
| 1 | O20 | 20 | h_acc | N | GLY | A | 89 | h_don | -4.70 | 0.16 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | N14 | 14 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.11 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O13 | 13 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.17 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | 4 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.12 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | 4 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.24 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O1 | 1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 136 | h_don | -4.70 | 0.13 | 1.00 | -3.94 |
| 1 | N2 | 2 | h_don | OE2 | GLU | A | 133 | h_acc | -4.70 | 0.37 | 0.83 | -3.90 |
| 1 | O1 | 1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 132 | h_don | -4.70 | 0.29 | 1.00 | -4.37 |

Receptor : 1bsj
 Ligand : 6BB2_min
 Ligand SMILES : ONC(CC(C(NC(C(N1C(CCC1)CO)=O)C(C)C)=O)CCCCN)=O

Score contributions

dG_0 : 5.400 kJ/mol
 dG_rot : 22.400 kJ/mol
 dG_match : -43.104 kJ/mol
 dG_lipo : -11.869 kJ/mol
 dG_ambig : -11.307 kJ/mol
 dG_clash : 3.164 kJ/mol
 dG_total : -35.316 kJ/mol

- Le rapport clash score / total score = 8.9%

• **Surflex**

- Ligand\6BB2: 56 atoms, 16 rot: [log-0: 7.15 crash -1.23 polar 5.56]

Dans trois cas l'énergie de liaison des complexes PDF-inhibiteur a augmenté et la meilleure interaction a lieu avec le composé 6BB2 dont $\Delta G = -35,316$ Kj/mole (tableau 2) et dont l'affinité a atteint 7.15.

Cette amélioration de l'interaction entre la PDF et le 6BB2 peut être attribuée à la formation de 2 nouvelles liaisons H entre l'atome N11 de la fonction amine, en remplacement du groupement méthyle, et les oxygènes OE2 de Glu41 et OE2 de Glu42 de l'enzyme. Nous remarquons également que pour les trois premiers ligands, 2BB2,

3BB2 et 4BB2 c'est la fragmentation 0 qui a donné le meilleur résultat, alors que pour les deux autres, 5BB2 et 6BB2, c'est la fragmentation 1.

Tab 35. Energies d'interaction (KJ/mol) et affinités calculées entre la PDF et les cinq composés mono substitués : 2BB2, 3BB2, 4BB2, 5BB2, 6BB2.

| Composés | 2BB2 | 3BB2 | 4BB2 | 5BB2 | 6BB2 |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| E_{tot} en KJ/mol | -34,006 | -31,056 | -30,101 | -33,847 | -35,316 |
| Affinités | 6.60 | 4.35 | 4.50 | 7.09 | 7.15 |

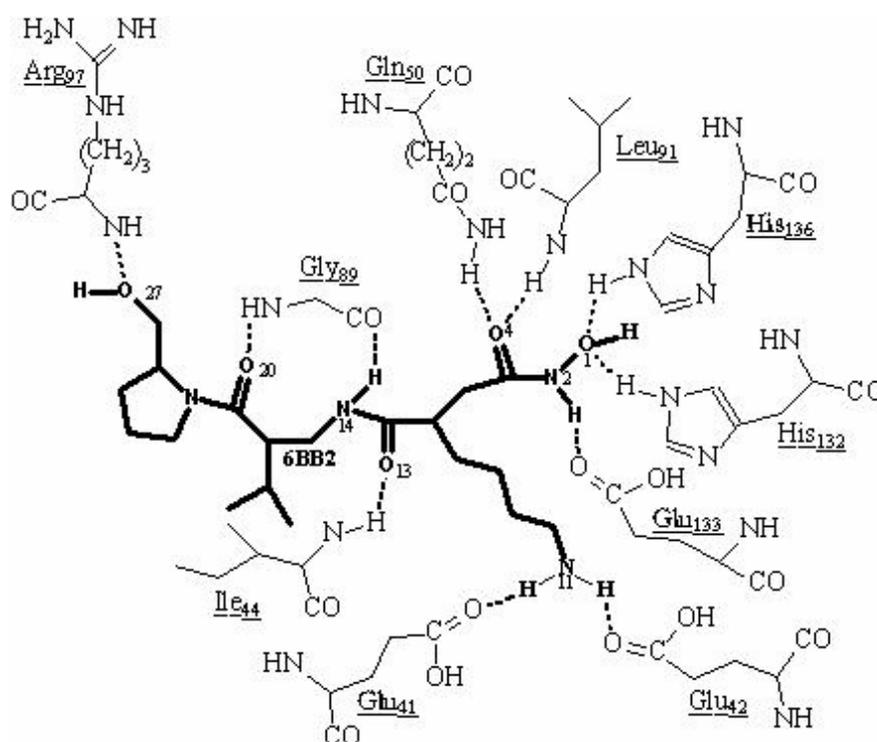


Figure 31 : Complexe 1bsj-6bb2.

Il faut également noter que la règle de Lipinski est totalement vérifiée pour ce composé.

Tab 36. Critères de la règle de Lipinski pour les 5 composés mono substitués

| Composés | PM | nOH,NH | nO,N | ClogP | nrotb |
|----------|-----|--------|------|--------|-------|
| 2BB2 | 387 | 5 | 9 | -0.519 | 14 |
| 3BB2 | 386 | 4 | 10 | -0.612 | 13 |
| 4BB2 | 411 | 6 | 12 | -2.615 | 12 |
| 5BB2 | 386 | 6 | 10 | -1.661 | 13 |
| 6BB2 | 385 | 5 | 8 | 1.218 | 15 |

3.2.2. Bi substitutions

Les bi substitutions donnent, en général, de meilleurs résultats en ce qui concerne les énergies d'interaction, certainement dus à un plus grand nombre de liaisons qui a atteint quatorze pour certains composés.

➤ **Complexe I : 1bsj-7BB2.**

• **FlexX**

Tab 37. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -35.927 | -43.608 | -11.773 | -11.199 | 7.052 | 18.200 | 13 | 1 |

Tab 38. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | O11 | h_acc | NH2 | ARG | A | 97 | h_don | -4.70 | 0.32 | 0.96 | -3.68 |
| 1 | O27 | h_don | ND1 | HIS | A | 132 | h_acc | -4.70 | 0.17 | 1.00 | -4.09 |
| 1 | N22 | phenyl_center | CD1 | ILE | A | 44 | ch3_phe | -0.70 | 0.05 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | N22 | phenyl_center | CG2 | ILE | A | 128 | ch3_phe | -0.70 | 0.57 | 0.52 | -0.70 |
| 1 | N22 | phenyl_center | CD1 | ILE | A | 86 | ch3_phe | -0.70 | 0.09 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | N22 | h_acc | N | GLY | A | 89 | h_don | -4.70 | 0.10 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | N14 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.26 | 1.00 | -4.19 |
| 1 | O13 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.33 | 0.91 | -4.29 |
| 1 | O4 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.02 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.03 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 136 | h_don | -4.70 | 0.10 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | N2 | h_don | OE2 | GLU | A | 133 | h_acc | -4.70 | 0.52 | 0.45 | -2.10 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 132 | h_don | -4.70 | 0.18 | 1.00 | -4.36 |

• **Surflex**

- Ligand\7BB2: 61 atoms, 13 rot: [log-0: 5.19 crash -2.67 polar 5.29]

➤ **Complexe II : 1bsj-8BB2.**

• **FlexX**

Tab 39. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|-----------|-----------|
| 1 | -41.141 | -45.543 | -10.416 | -10.608 | 3.226 | 16.800 | 13 | 2 |
| 2 | -39.265 | -44.151 | -10.098 | -10.364 | 4.148 | 16.800 | 13 | 2 |
| 3 | -36.682 | -40.655 | -7.651 | -10.193 | 4.317 | 16.800 | 14 | 1 |
| 4 | -36.469 | -41.223 | -9.855 | -10.230 | 4.239 | 16.800 | 11 | 2 |
| 5 | -36.389 | -41.223 | -10.044 | -10.409 | 5.487 | 16.800 | 11 | 2 |

Tab 40. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | N11 | h_don | OE2 | GLU | A | 41 | h_acc | -4.70 | 0.25 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O27 | h_don | ND1 | HIS | A | 132 | h_acc | -4.70 | 0.25 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | N22 | phenyl_center | CD1 | ILE | A | 44 | ch3_phe | -0.70 | 0.02 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | N22 | phenyl_center | CG2 | ILE | A | 128 | ch3_phe | -0.70 | 0.79 | 0.52 | -0.36 |
| 1 | N22 | phenyl_center | CD1 | ILE | A | 86 | ch3_phe | -0.70 | 0.05 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | N22 | h_acc | N | GLY | A | 89 | h_don | -4.70 | 0.06 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | N14 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.30 | 1.00 | -4.09 |
| 1 | O13 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.21 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.02 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.13 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 136 | h_don | -4.70 | 0.21 | 1.00 | -4.56 |
| 1 | N2 | h_don | OE2 | GLU | A | 133 | h_acc | -4.70 | 0.35 | 0.87 | -4.08 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 132 | h_don | -4.70 | 0.42 | 0.70 | -2.85 |

- le rapport clash score / total score est de 7.8%.

• **Surflex**

- Ligand\8BB2: 55 atoms, 12 rot: [log-0: 9.33 crash -1.30 polar 6.22]

➤ **Complexe III : 1bsj-9BB2.**

• **FlexX**

Tab 41. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -34,841 | -37.416 | -7.687 | -12.192 | 3.070 | 16.800 | 13 | 1 |

Tab 42. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | N18 | h_don | O | GLU | A | 42 | h_acc | -4.70 | 0.36 | 0.86 | -2.05 |
| 1 | O27 | h_don | O | CYS | A | 90 | h_acc | -4.70 | 0.40 | 0.74 | -3.25 |
| 1 | O27 | h_acc | N | GLU | A | 95 | h_don | -0.70 | 0.12 | 1.00 | -2.60 |
| 1 | N22 | phenyl_center | C | CYS | A | 90 | amide | -0.70 | 0.63 | 0.93 | -0.25 |
| 1 | N22 | phenyl_center | CD2 | LEU | A | 91 | Ch3_phe | -0.70 | 0.72 | 0.71 | -0.50 |
| 1 | N22 | phenyl_cente | C | GLY | A | 89 | amide | -4.70 | 0.10 | 1.00 | -0.61 |
| 1 | N22 | h_acc | NH2 | ARG | A | 97 | h_don | -4.70 | 0.37 | 0.84 | -2.55 |
| 1 | O20 | h_acc | NH2 | ARG | A | 97 | h_don | -4.70 | 0.31 | 0.97 | -2.29 |
| 1 | N2 | h_don | ND1 | HIS | A | 132 | h_acc | -4.70 | 0.26 | 1.00 | -3.25 |
| 1 | O4 | h_acc | N | GLY | A | 89 | h_don | -4.70 | 0.11 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O13 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.28 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O10 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.32 | 0.95 | -4.48 |
| 1 | O10 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.07 | 1.00 | -4.70 |

• **Surflex**

- Ligand\9BB2: 50 atoms, 12 rot: [log-0: 6.72 crash -2.58 polar 8.03]

➤ **Complexe IV : 1bsj-10BB2.**

• **FlexX**

Tab 43. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -38.457 | -47.164 | -8.044 | -10.287 | 3.438 | 18.200 | 14 | 3 |

Tab 44. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | N11 | h_don | O | GLU | A | 41 | h_acc | -4.70 | 0.35 | 0.88 | -2.98 |
| 1 | N11 | h_don | O | GLU | A | 42 | h_acc | -4.70 | 0.30 | 1.00 | -3.10 |
| 1 | N18 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.05 | 1.00 | -3.47 |
| 1 | N18 | h_don | ND1 | HIS | A | 132 | h_acc | -4.70 | 0.15 | 1.00 | -2.89 |
| 1 | N22 | phenyl_center | CG2 | ILE | A | 44 | Ch3_phe | -0.70 | 0.21 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | N22 | phenyl_center | CD1 | ILE | A | 44 | Ch3_phe | -0.70 | 0.37 | 1.00 | -0.70 |
| 1 | O20 | h_acc | N | GLY | A | 89 | h_don | -4.70 | 0.14 | 1.00 | -4.26 |
| 1 | N14 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.20 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O13 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.15 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.08 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.01 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 136 | h_don | -4.70 | 0.14 | 1.00 | -4.19 |
| 1 | N2 | h_don | OE2 | GLU | A | 133 | h_acc | -4.70 | 0.55 | 0.38 | -1.78 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 132 | h_don | -4.70 | 0.16 | 1.00 | -4.29 |

● **Surflex**

- Ligand\10BB2: 48 atoms, 13 rot: [log-0: 7.04 crash -1.09 polar 9.01]
- le rapport clash score / total score est de 8.93 %.

➤ **Complexe V : 1bsj-11BB2.**

● **FlexX**

Tab 45. Différentes énergies, nombre d'interactions et Numéro de la fragmentation

| No. | Total Score | Match-Score | Lipo-Score | Ambig-Score | Clash-Score | Rot-Score | #Match | Frag. No. |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|--------|-----------|
| 1 | -36.167 | -45.537 | -11.600 | -12.065 | 3.236 | 22.400 | 12 | 1 |

Tab 46. Différents types d'interactions

| No. | Lig. Atom | Ligand IA-Type | Rec. Atom | Rec. AA | Rec. Chain | Rec. AANo | Receptor IA-Type | Opt. Engy. | LDev. | LDev. fact. | Res. Engy. |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|------------|-----------|------------------|------------|-------|-------------|------------|
| 1 | N11 | h_don | O | GLU | A | 42 | h_acc | -4.70 | 0.07 | 1.00 | -3.45 |
| 1 | N11 | h_don | O | GLU | A | 41 | h_acc | -4.70 | 0.04 | 1.00 | -2.43 |
| 1 | O27 | h_acc | NH1 | ARG | A | 97 | h_don | -4.70 | 0.29 | 1.00 | -0.96 |
| 1 | O18 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.46 | 0.59 | -2.78 |
| 1 | O20 | h_acc | N | GLY | A | 89 | h_don | -4.70 | 0.31 | 0.97 | -4.55 |
| 1 | N14 | h_don | O | GLY | A | 89 | h_acc | -4.70 | 0.12 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O13 | h_acc | N | ILE | A | 44 | h_don | -4.70 | 0.16 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | N | LEU | A | 91 | h_don | -4.70 | 0.22 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O4 | h_acc | NE2 | GLN | A | 50 | h_don | -4.70 | 0.27 | 1.00 | -4.70 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 136 | h_don | -4.70 | 0.12 | 1.00 | -4.48 |
| 1 | N2 | h_don | OE2 | GLU | A | 133 | h_acc | -4.70 | 0.40 | 0.76 | -3.57 |
| 1 | O1 | h_acc | NE2 | HIS | A | 132 | h_don | -4.70 | 0.17 | 1.00 | -4.52 |

● **Surflex**

- Ligand\11BB2: 61 atoms, 16 rot: [log-0: 7.59 crash -3.63 polar 4.28]

Tab 47. Energies d'interaction (KJ/mol) et affinités calculées entre la PDF et les cinq composés bi substitués : 7BB2, 8BB2, 9BB2, 10BB2, 11BB2.

| Composés | 7BB2 | 8BB2 | 9BB2 | 10BB2 | 11BB2 |
|----------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| E _{tot} en KJ/mol | -35,927 | -41,141 | -34,841 | -38,457 | -36,167 |
| Affinités | 5.19 | 9.33 | 6.72 | 7.04 | 7.59 |

En général, les bi substitutions donnent de meilleurs résultats de docking par les 2 programmes et notamment pour le composé 8BB2. Son énergie de liaison à la PDF a atteint -41,141 Kj/mole et son affinité 9.33 (tableau 3), vraisemblablement due à un total de 13 liaisons parmi lesquelles 3 entre le centre du noyau phényle du ligand et le CD1 de Ile44, le CD1 de Ile86 et le CG2 de Ile128, le reste étant des liaisons H.

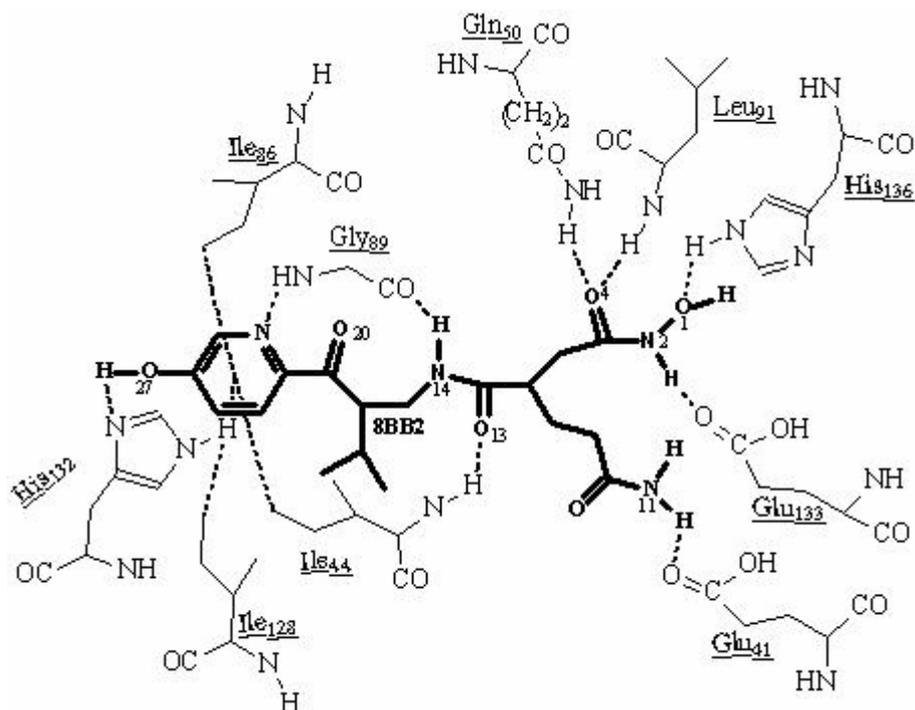


Figure 32 : Complexe 1bsj-8bb2.

Parmi les seize amino acides du site actif de l'enzyme qui ont établi des liaisons H, seuls six interagissent avec tous les ligands, ce sont : Gln50, Gly89, Leu91, His132, Glu133 et His136.

Une des conditions de la règle de Lipinski n'est pas vérifiée dans le cas du 8BB2, c'est le nombre de donneurs de liaisons H qui est égal à 6 au lieu de 5.

Tab 48. Critères de la règle de Lipinski pour les 5 composés bi substitués

| Composés | PM | nOH,NH | nO,N | ClogP | nrotb |
|--------------|-----|--------|------|--------|-------|
| 7BB2 | 386 | 6 | 9 | -1.083 | 14 |
| 8BB2 | 380 | 6 | 9 | -0.263 | 14 |
| 9BB2 | 381 | 8 | 11 | -2.757 | 13 |
| 10BB2 | 383 | 9 | 12 | -3.210 | 13 |
| 11BB2 | 387 | 5 | 9 | 1.052 | 15 |

4. ETUDE COMPARATIVE PAR SURFLEX DE L'ACTIVITE INHIBITRICE DE DEUX NOUVELLES CLASSES DE MOLECULES NON PEPTIDIQUES TESTEES « IN VITRO »

4.1. Dérivés de l'acide isoxazole-3-hydroxamique.

Les valeurs de l'affinité calculées entre la 1g2a et les diverses molécules testées "in vitro" sont présentées dans le tableau suivant :

Tab 49. Affinités des complexes 1g2a – dérivés de l'acide isoxazole-3-hydroxamique.

| Composés | R | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | pK _D |
|-----------|------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------|
| | | IC ₅₀ (μM) ^a | IC ₅₀ (μM) ^a | |
| 1 | | 0.0007 | 0.002 | 7.24 |
| 3a | 4-(CH ₃)Ph | 20.0 | 4.0 | 6.79 |
| 3b | 3-(Cl)Ph | 9.8 | 2.3 | 7.04 |
| 3c | 4-(Cl)Ph | 14.5 | 1.3 | 5.58 |
| 3d | 3-(OCH₃)Ph | 6.5 | 2.2 | 7.18 |
| 3e | 2-(i-Pr)Ph | 14.0 | 7.6 | 6.83 |
| 3f | 4-(OCH ₃)Ph | 31.3 | 24.0 | 6.90 |
| 3g | 2,4,6-(CH ₃)Ph | 29.5 | 37.7 | 6.94 |
| 3h | 2-(Cl)Ph | 62.5 | 3.8 | 6.17 |
| 3i | 3,4-(Cl)Ph | 4.4 | 2.0 | 7.11 |
| 3j | 2-(Br)Ph | 60.0 | 4.9 | 5.54 |
| 3k | 3-(Br)Ph | 7.0 | 2.0 | 6.12 |
| 3l | 4-(F)Ph | 20.7 | 1.5 | 7.03 |
| 3m | 2-(CF ₃)Ph | 25.3 | 9.3 | 5.06 |
| 3n | 4-(CF ₃)Ph | 22.0 | 8.7 | 6.94 |
| 3o | 4-(NHCOCH ₃)Ph | 20.3 | 42.0 | 5.90 |
| 3p | Benzothiophen-2-ylmethyl | 3.4 | 12.7 | 4.67 |
| 3q | 3-(CF ₃)-benzyl | 7.6 | 2.2 | 5.36 |
| 8a | 4-(CH ₃)Ph | 11.5 | 1.4 | 6.00 |
| 8b | 3-(Cl)Ph | 6.8 | 1.7 | 5.91 |
| 8c | 4-(Cl)Ph | 7.5 | 0.8 | 6.10 |
| 8d | 3-(OCH ₃)Ph | 26.3 | 6.5 | 7.08 |
| 8e | 2-(i-Pr)Ph | 10.8 | 3.4 | 6.37 |
| 10a | 4-(CH ₃)Ph | 12.0 | 0.9 | 5.94 |

1 : actinonin ou 1bb2

^a: les valeurs sont les moyennes de 3 essais.

Il faut d'abord souligner que tous les composés proposés ont réagi avec l'enzyme avec des valeurs d'affinités plus ou moins élevées. Parmi les trois catégories de dérivés de l'isoxazole, la première (3a – 3q) présente les meilleures affinités. En effet l'oxydation de l'isoxazole en sulfone (8a – 8e) ou en sulfoxide (10a) n'augmente nullement son efficacité, bien au contraire.

Nous remarquons que les substitutions de type méta au niveau du noyau phényle du radical R (composés 3b, 3d, 3i) sont plus favorables que les substitutions ortho ou para (3e, 3h, 3j, 3m) pour les 2 PDFs, celles de *E.coli* et de *S.aureus*. Le dérivé 3i, avec le 3,4-dichloro comme substituant, est l'un des plus puissants inhibiteurs de la PDF de *E.coli* avec une affinité de **7.11** et une IC₅₀ de 4.4 μM, il est encore 2 fois plus actif (IC₅₀ = 2 μM)

sur la PDF de *S.aureus*. Le composé 3p, par contre, a la plus faible affinité pour l'enzyme (4.67) en raison, probablement, de l'encombrement de son radical : le benzothiophen-2-yl-méthyl.

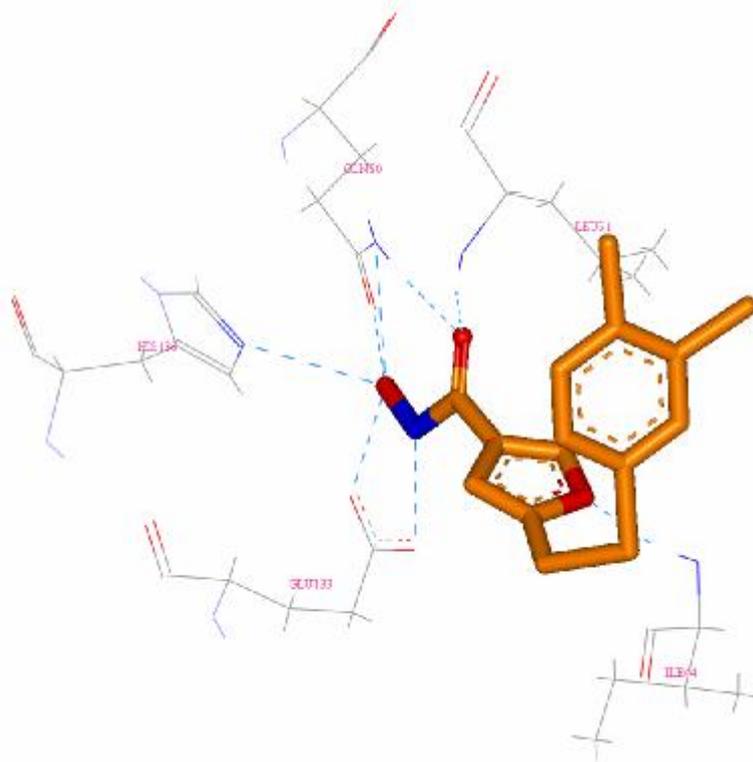
Ce qui est également important, c'est que tous les dérivés répondent à la règle de Lipinski.

Sur la [figure 33](#) reproduisant les interactions du composé 3i, l'un des inhibiteurs les plus actifs, avec la 1g2a en comparaison avec l'actinonin (1bb2) ([figure 34](#)), nous observons le même type de liaisons au niveau de la région S1' et de la région S2' du site actif.

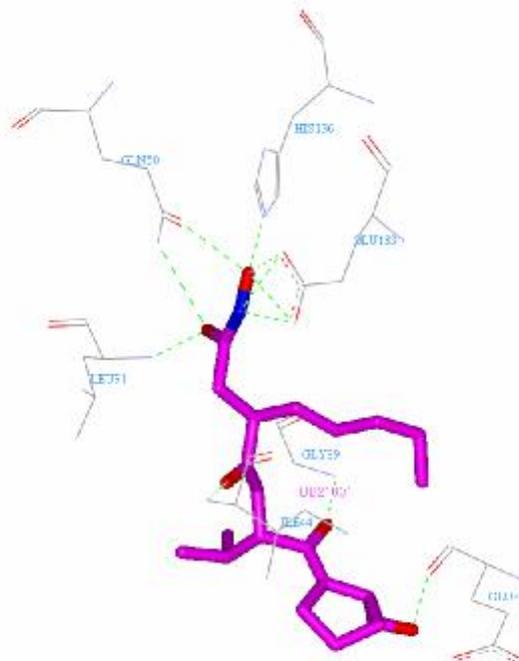
En effet, entre autres liaisons, nous pouvons citer l'exemple de l'oxygène de l'isoxazole qui se place à proximité de l'oxygène O13 du carbonyle du bb2 au niveau du site actif de l'enzyme, lesquels atomes vont réaliser une interaction (liaison H) similaire avec l'azote de Ile44. Parmi tous les inhibiteurs testés, aucun ne présente une activité antibactérienne comparable à celle de l'actinonin contre les souches résistantes de *E.coli* et de *S.aureus*.

En conclusion, nous pouvons dire que cette étude a permis de confirmer l'identification d'une nouvelle classe d'inhibiteurs non peptidiques de la PDF.

La région S3' n'a pas été sollicitée par les différents dérivés de l'isoxazole ; nous suggérons l'introduction de substituants, pouvant réaliser des interactions au niveau de cette région, pour améliorer leur activité antibactérienne.



[Figure 33](#) : Complexe 1g2a – 3i



[Figure 34](#) : Complexe 1g2a –1bb2

4.2. Composés agissant spécifiquement sur les PDFs bactériennes

Les dérivés de l'indole ont été testés sur deux PDFs : la 1Iry de *Pseudomonas aeruginosa* et la 1Iqy de *Bacillus stearothermophilus*. Ces deux PDFs ont été choisies pour permettre la comparaison de leur affinité aux différents inhibiteurs par rapport à leur ligand naturel, l'actinonin ou 1bb2.

Nous avons focalisé notre étude sur les composés qui ont des IC_{50} élevées en présence de la mPDF (PDF humaine) et de AtPDF1A (PDF de la plante *Arabidopsis thaliana*).

Les résultats montrent que les inhibiteurs les plus efficaces appartiennent à la catégorie 6a-6j avec des affinités généralement supérieures à 6 ([annexe 4](#)). Les composés 6b et 6g sont les plus intéressants car ils possèdent les IC_{50} les plus basses en présence des PDFs bactériennes, 0.035 μM pour la PDF1B et 0.013 μM pour la PDF2 et des IC_{50} élevées en présence de la mPDF (360 μM) et de la AtPDF1A (130 μM) [147].

La particularité de ces composés est la présence de l'hydroxamate au niveau du radical R3 et, au niveau du R5, d'un atome de brome pour le composé 6b ou d'un chlore pour le composé 6g.

Les composés 11, 15 et 16 sont les moins efficaces avec des affinités généralement inférieures ou égales à 4, probablement dues à deux raisons : le groupement encombrant au niveau du R1 pour les composés 15 et 16 et la fonction hydroxylamine au niveau du R3 pour les trois composés.

L'actinonin est reconnu induire un effet d'apoptose sur quelques lignées cellulaires, avec une certaine cytotoxicité et des IC_{50} de l'ordre de 2 à 10 μM [148-151]. A l' IC_{50} des 2 composés, l'actinonin entraîne une apoptose au moins 10 fois plus forte que le composé 6b sur les cellules KB. A l' IC_{50} de l'actinonin sur les cellules KB le composé 6b présente un effet d'apoptose négligeable [147]. En plus, ce composé possède toutes les conditions

requis pour être un excellent candidat comme médicament, en particulier un logP égal à 1.841.

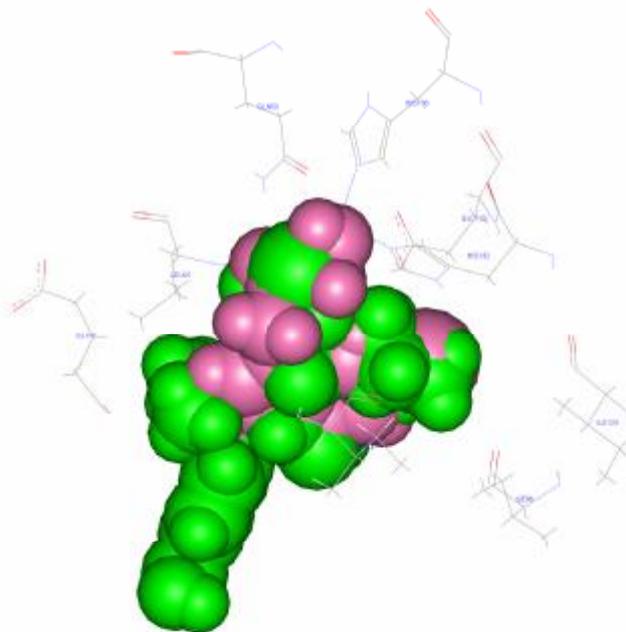


Figure 35 : 1lqy - BB2 (vert) – 6b (mauve)

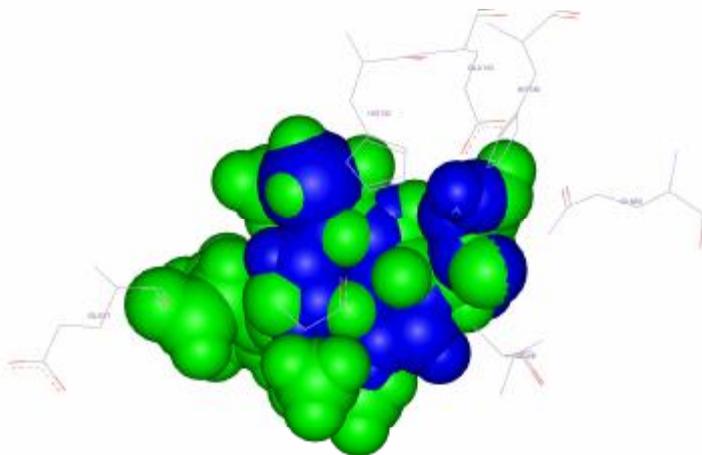


Figure 36 : 1lry - BB2 (vert) – 6b (bleu)

DISCUSSION

Les deux programmes, FlexX et Surflex, peuvent être considérés suffisamment performants puisqu'ils reproduisent assez bien les résultats expérimentaux avec plus de 80% de résultats positifs pour le RMSD. Ils sont généralement plus efficaces en présence de petites molécules de ligand.

Le programme Arguslab, par contre, est moins fiable en modélisation moléculaire car les valeurs de RMSD qu'il donne sont en général supérieures à 2Å. Il peut être, cependant, utilisé comme un outil efficace d'enseignement pour des démonstrations de "docking" moléculaire pour des débutants dans ce domaine en raison de sa facilité d'utilisation.

Relativement aux autres programmes, FlexX met beaucoup plus en évidence les liaisons H, en effet ce sont les plus restrictives et les plus importantes parmi les liaisons faibles.

La majorité des similaires proposés par la PDB ont présenté une affinité supérieure à celle des ligands naturels, exception faite pour l'actinonin.

Les deux programmes ont donné, en général, des résultats comparables. En effet, dans l'étude de l'inhibition de la 1bsj par les cinq ligands connus, par les ligands mono substitués et par les ligands bi substitués, les deux programmes font ressortir le même composé comme meilleur inhibiteur de l'enzyme : respectivement le 1bb2, le 6bb2 et le 8bb2.

L'étude de la modélisation réalisée sur l'actinonin montre que l'affinité et l'énergie de liaison peuvent être augmentées de manière significative par un choix judicieux des fragments à substituer. Le remplacement du radical éthyle en position 9, situé au niveau de la région P1', par un groupement amide et le noyau pentyle, situé au niveau de la région P3', par un noyau phényle au niveau de l'actinonin augmente l'affinité de plus de 2 unités (6.97 à 9.33) et l'énergie d'interaction de 10 unités (-31.880 à -41.141 Kj/mole). Le noyau phényle au niveau du site S3' réalise, en effet, 3 liaisons supplémentaires et contribue ainsi à accroître l'énergie d'interaction.

L'introduction d'une troisième substitution, bien étudiée, au niveau de la région P2' de l'actinonin améliorera certainement les résultats.

Le groupement hydroxamate de ces inhibiteurs forme, entre autres, des liaisons hydrogène avec les chaînes latérales de Glu-133 et Gln-50, confirmant ainsi son rôle d'inhibiteur de la PDF ; ces deux acides aminés étant généralement impliqués dans la réaction de catalyse par protonation-déprotonation.

L'étude de l'inhibition de la PDF par des molécules testées in vitro a permis d'identifier de nouveaux candidats potentiels non peptidiques de faible poids moléculaire : l'acide isoxazole-3-hydroxamique et ses dérivés, et particulièrement le composé 3i.

Cependant, le séquençage du génome humain, ces dernières années, a révélé l'existence de cette enzyme chez l'homme, rendant caduque toute possibilité de synthèse d'un inhibiteur de la PDF qui se serait avéré toxique pour l'homme.

Sur la base des différences significatives existant au niveau de la séquence entre les PDF bactériennes d'une part et celles végétales et humaines d'autre part, les chercheurs de l'Institut de Biologie Structurale (IBS) de Grenoble ont tenté, en collaboration avec d'autres équipes, de comparer les structures de ces enzymes.

La résolution de la structure de la PDF végétale a ainsi permis de montrer que ces différences de séquence se traduisent par des différences importantes au niveau du site actif de l'enzyme.

Ces différences ont permis de concevoir des inhibiteurs propres aux PDFs bactériennes et inactifs sur les PDFs des organismes supérieurs : Le noyau indole et ses dérivés, notamment le composé 6b. Les résultats de nos tests sur l'inhibition de deux types de PDFs bactériennes (1Lry et 1Lqy) par ces composés ont confirmé les résultats expérimentaux.

Enfin, il est important de noter que les différents inhibiteurs potentiels de la peptide déformylase proposés par cette étude sont, en général, conformes aux critères imposés par la règle de Lipinski.

CONCLUSION

L'objectif primordial de notre travail a été l'évaluation de certains programmes d'arrimage moléculaire qui permettent de simuler les interactions entre protéines et ligands. Cette étude a été réalisée à l'aide des deux programmes de docking les plus fiables, FlexX et Surflex, parmi les trois choisis.

Ces programmes ont été développés pour aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique, d'où notre second objectif. Il s'agit de calculs entre des composés à faible nombre d'atomes jouant le rôle d'inhibiteurs et des récepteurs protéiques de types enzymatiques.

Ils ont été utilisés pour étudier l'inhibition d'une cible bactérienne parmi les plus attrayantes ces dernières années, la peptide déformylase, enzyme présente chez un grand nombre de microorganismes pathogènes responsables de diverses infections qui affectent des centaines de millions de personnes à travers le monde et entraînent des millions de décès chaque année.

En fait, la conception de médicaments joue un rôle très important dans le monde actuel des sciences médicales. Des sommes importantes sont investies chaque année pour la conception de médicaments nouveaux ou améliorés pour cibler une nouvelle maladie. Les différentes approches pour la conception d'un médicament peuvent différer au niveau de la méthodologie pour parvenir à un produit acceptable et commercialisable.

Une approche par criblage virtuel à haut débit (vHTS) dans la conception et le développement de médicaments est recommandée pour permettre de définir de nouveaux composés comme candidats potentiels. En effet, elle réduit significativement le nombre de nouvelles structures que les chimistes doivent créer puisque, en utilisant cette approche de synthèse et criblage des composés "in silico", les chimistes ne font la synthèse du composé que si seulement un "hit" (modèle) est découvert par le vHTS. En œuvrant ainsi, on évite toutes les étapes fastidieuses du HTS conventionnel, on économise des sommes d'argent considérables et ceci dans des délais plus courts que la méthode conventionnelle in vitro de synthèse en laboratoire.

Les différentes molécules ont été choisies de manière à ce que l'interaction entre le ligand et sa cible se situe directement à son site actif, l'inhibition est dite compétitive.

La découverte d'une PDF homologue (mPDF) dans les mitochondries des cellules humaines, au cours des dernières années, a poussé les scientifiques à rechercher des inhibiteurs de PDF bactériennes qui n'auraient pas d'effet significatif sur la PDF humaine. La solution a été trouvée par la découverte d'une nouvelle classe d'inhibiteurs de faible poids moléculaire : le noyau indole et ses dérivés.

Cette étude mérite d'être poursuivie selon 2 voies au moins :

- Il serait intéressant de tester le plus grand nombre de programmes, parmi les plus récents et les plus performants, sur tous les inhibiteurs de la PDF étudiés jusqu'à

présent pour pouvoir comparer les résultats et proposer des inhibiteurs plus efficaces et plus variés.

- Des tests in vitro et in vivo de l'activité inhibitrice des candidats potentiels proposés dans cette étude, tels les dérivés mono substitués de l'actinonin (5BB2 et 6BB2), ses dérivés bi substitués (8BB2 et 10BB2), ainsi que les similaires dont l'affinité est supérieure à 6.5 et qui répondent parfaitement à la règle de Lipinski tels l'alanylglutamine, le bufexamac et le phenprobamate, sont recommandés pour confirmer l'efficacité de nos deux programmes.

Enfin, des efforts de collaboration future entre différentes équipes : informaticiens, chimistes et biologistes, seront essentiels dans les stratégies de découverte de nouvelles cibles aux médicaments antimicrobiens, et de développement de médicaments sûrs et efficaces envers elles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 **Levinthal C., Wodak S.J., Kahn P., Dadvanian A.K. 1975.** Hemoglobin interaction in sickle cell fibers. I. Theoretical approaches to the molecular contacts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72** : 1330–34.
- 2 **Kuntz ID., Blaney J.M., Oatley S.J., Langridge R., Ferrin T.E. 1982.** A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *J. Mol. Biol.* **161** : 269–88.
- 3 **Apfel C. M., Locher H., Evers S., Takács B., Hubschwerlen C., Pirson W., Page M. G. P. and Keck W. 2001.** Peptide deformylase as an antibacterial drug target: target validation and resistance development. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45** : 1058-1064.
- 4 **Martin J. M., Green M., Barbadora K. A., and Wald E. R. 2002,** Erythromycin-Resistant Group A Streptococci in Schoolchildren in Pittsburgh *N. Engl. J. Med.* **346** : 1200-1206.
- 5 **Kuntz ID. 1992.** Structure-based strategies for drug design and discovery. *Science.* **257** : 1078-1082.
- 6 **Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. 1996.** A Fast Flexible Docking Method Using an Incremental Construction Algorithm. *J. Mol. Biol.* **261** : 470-489.
- 7 **Rarey M., Kramer B., Lengauer T. 1997.** Multiple automatic base selection: protein-ligand *docking* based on incremental construction without manual intervention. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **11** : 369-384.
- 8 **Rarey M., Wefing S., Lengauer T. 1996.** Placement of medium-sized molecular fragments into active sites of proteins. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **10** : 41–54.
- 9 **Holland J.H. 1975.** Adaptation in Natural and Artificial Systems. *University of Michigan Press: Ann Arbor, MI.*
- 10 **Metropolis N., Rosenbluth A.W., Rosenbluth M.N., Teller A.H., Teller E. 1953.** Equation of state calculations by fast computing machines. *J. Chem. Phys.* **21** : 1087-1092.
- 11 **Baxter C.A., Murray C.W., Clark D.E., Westhead D.R., Eldridge M.D. 1998.** Flexible docking using tabu search and an empirical estimate of binding affinity. *Proteins.* **33** : 367-382.
- 12 **Abagyan R., Totrov M., Kuznetsov D. 1994.** ICM: a new method for structure modeling and design: applications to docking and structure prediction from the distorted native conformation. *J. Comput. Chem.* **15** : 488-506.
- 13 **Eldridge M.D., Murray C.W., Auton T.R., Paolini G.V., Mee R.P. 1997.** Empirical scoring functions: I. The development of a fast empirical scoring function to estimate the binding affinity of ligands in receptor complexes. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **11** : 425-445.

- 14 **Thompson M. 2003** Molecular docking with Arguslab ; Planaria software Seattle WA.
- 15 **Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. 2000.** The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.*, **28** : 235-242.
- 16 **Al-Lazikani B., Jung J., Xiang Z., Honig B. 2001.** Protein structure prediction. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **5** : 51-56.
- 17 **Altschul S.F., Madden T.L., Schaffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D.J. 1997.** Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, **25** (17) : 3389-3402.
- 18 **Pearson W.R., Lipman D.J. 1988.** Improved tools for biological sequence comparison. *Proc Natl cad sci U S A.* **8** :2444-2448.
- 19 **Petrey D., Xiang X., Tang C.L., Xie L., Gimpele M., Mitros T., Soto C.S., Goldsmith-Fischman S., Kernytsky A., Schlessinger A., Koh I.Y.Y., Alexov E., Honig B. 2003.** Using Multiple Structure Alignments, Fast Model Building, and Energetic Analysis in Fold Recognition and Homology Modeling. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, **53** : 430-435.
- 20 **Sali A., Blundell T.L. 1993.** Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints. *Journal of Molecular Biology*, **234** : 779-815.
- 21 **Vieth M., Hirst J.D., Kolinski A., Brooks C.L. 1998.** Assessing energy functions for flexible docking. *J. Comput. Chem.* **19** : 1612-1622
- 22 **Gabb J., Jackson R.M., Sternberg M.J.E. 1997.** Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *J. Mol. Biol.* **272** : 106–120.
- 23 **Verkhivker G.M., Bouzida D., Gehlhaar D.K., Rejto P.A., Arthurs S., et al. 2000.** Deciphering common failures in molecular docking of ligand-protein complexes. *J. Comput. Aid. Mol. Des.* **14** : 731–751.
- 24 **Leach A.R., Kuntz I.D. 1992.** Conformational analysis of flexible ligands in macromolecular receptor sites. *J. Comput. Chem.* **13** : 730-748.
- 25 **Böhm H.J. 1992.** LUDI: rule-based automatic design of new substituents for enzyme inhibitor leads. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **6** : 593-606.
- 26 **Böhm H.J. 1994.** The development of a simple empirical scoring function to estimate the binding constant for a protein-ligand complex of known three-dimensional structure. *J. Comput. Aided. Mol. Des.*, **8** (3) : 243-256.
- 27 **Klebe G., Mietzner T. 1994.** A fast and efficient method to generate biologically relevant conformations. *J. Comput-Aided Mol. Design*, **8** : 583-606.

- 28 **Allen F.H., Bellard S., Brice M.D., Cartwright B.A., Doubleday A., Higgs H., Hummelink-Peters J.R., Watson D.G., 1979.** The Cambridge Crystallographic Data Centre: Computer-based search, retrieval, analysis and display of information. *Acta Crystallog. Sect. B*, **35** : 2331-2339.
- 29 **Moon J.B., Howe W.J., 1991.** Computer design of bioactive molecules: A method for receptor-based de novo ligand design. *Proteins: Struct. Funct. Genet.* **11** : 314-328.
- 30 **Oshiro C. M., Kuntz I.D., 1998.** Characterization of receptors with a new negative image: Use in molecular docking and lead optimization *Proteins : Structure, Function, and Genetics* **30** (3) : 321-336.
- 31 **Sandak B., Wolfson H.J., Nussinov R., 1998.** Flexible docking allowing induced fit in proteins: Insights from an open to closed conformational isomers. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*, **32** (2) : 159-174.
- 32 **Given J.A., Gilson M.K., 1998.** A hierarchical method for generating low-energy conformers of a protein-ligand complex. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*, **33** (4) : 475-495.
- 33 **Rarey M., Kramer B., Lengauer T. 1999.** Docking of hydrophobic ligands with interaction-based matching algorithms. *Bioinformatics*, **15** (3) : 243-250.
- 34 **Klebe G. 1994.** The use of composite crystal-field environments in molecular recognition and the de-novo design of protein ligands. *J. Mol. Biol.* **237** : 221-235.
- 35 **Rarey M., Wefing S., Lengauer T. 1996.** Placement of medium-sized molecular fragments into active sites of proteins. *J. Comput. Aided Mol. Des.*, **10** : 41-54.
- 36 **Fischer D., Lin S.L., Wolfson H.L., Nussinov R. 1995.** A geometry-based suite of molecular docking processes. *J. Mol. Biol.* **248** : 459-477.
- 37 **Linnainmaa S., Harwood D., Davis L.S. 1988.** Pose determination of a three dimensional object using triangle pairs *IEEE Trans. Pattern Anal. Machine Intelligence*, **10** (5) : 634-646.
- 38 **Böhm H.J. 1992.** The computer program LUDI: a new method for de novo design of enzyme inhibitors. *J. Comput. Aided Mol. Design*, **6** : 61-78.
- 39 **Kabsch W. 1976.** A solution for the best rotation to relate two sets of vectors. *Acta Crystallog. Sect. A* , **32** : 922-923.
- 40 **Jones G., Willett P., Glen R.C., Leach A.R., Taylor R. 1997.** Development and validation of genetic algorithm for flexible docking. *J. Mol. Biol.* **267** : 727-748.
- 41 **Sharp K.A., Honig B. 1990.** Electrostatic interactions in macromolecules. *Annu. Rev. Biophys. Chem.* **19** : 301-332.

- 42 **Williams D. H., Cox J.P.L., Doig A. J., Gardner M., Gerhard U., Kaye P. T., Lai A. R., Nicholls I. A., Salter C. J., Mitchell R. C. 1991.** Toward the semi quantitative estimation of binding constants. Guides for peptide-peptide binding in aqueous solution. *J. Am. Chem. Soc.*, **113** : 7020-7030.
- 43 **Trotov M., Abagyan R. 1997.** Flexible protein-ligand docking by global energy optimization in internal coordinates. *Proteins Struct. Funct. Genet*, **1** : 215-220.
- 44 **Kramer B., Rarey M., Lengauer T. 1997.** CASP2 experiences with docking flexible ligands using FlexX. *Proteins Struct. Funct. Genet*, **1** : 221-225.
- 45 **Ingo M., Yonne C.M. 1999.** A General and Fast Scoring Function for Protein-Ligand Interactions : A Simplified Potential Approach. *J. Med. Chem*, **2** (5) : 791-804.
- 46 **Kollman P. 1993.** Free energy calculations-applications to chemical and biological phenomena. *Chem. Rev.* **7** : 2395-2417.
- 47 **Lee F.S., Chu Z.T., Warshel A. 1993.** Microscopic and semimicroscopic calculations of electrostatic energies in proteins by the Polaris and ENZYMIK programs. *J. Comput. Chem.* **14** : 161-185.
- 48 **Muegge I., Schweins T., Langen R., Warshel A. 1996.** A Electostatic control of GTP and GDP binding in the oncoprotein p21ras. *Structure.* **4** : 475-489.
- 49 **Jones G., Willett P., Glen R.C., Leach A.R., Taylor R. 1997.** Development and validation of genetic algorithm for flexible docking. *J. Mol. Biol.* **267** : 727-748.
- 50 **Stahl M., Böhm H-J. 1998.** Development of filter functions for protein-ligand docking. *J. Mol. Graphics.and Modelling*, **16** : 121-132.
- 51 **Claussen H., Buning C., Rarey M. 2001.** FlexE: Efficient Molecular Docking Considering Protein Structure Variations. *J. Mol. Biol.* **308** : 377-395.
- 52 **Jain A.N. 1996.** Scoring non covalent protein-ligand interactions : A continuous differentiable function tuned to compute binding affinities, *J. Comput.-Aided Mol. Design* **10** : 427-440.
- 53 **Claussen H. 2001.** Efficient protein-ligand Docking with flexible ones. *Protein structures*, **22** : 407-417.
- 54 **Jones G., Willett P., Glen RC. 1995.** Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation. *J Mol Biol.* **245** : 43-53.
- 55 **Schneider G., Böhm H-J. 2002.** Virtual screening and fast automated *docking* methods. *Drug Discov. Today.* **7** : 64-70.
- 56 **Tame J.R.H. 1999.** *Scoring* functions: a view from the bench. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **13** : 99-108.

- 57 **Abagyan R., Totrov M. 2001.** High-throughput *docking* for lead generation. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **5** : 375-382.
- 58 **Gohlke H., Klebe G. 2001.** Statistical potentials and *scoring* functions applied to protein-ligand binding. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **11** : 231-235.
- 59 **Bissantz C., Folkers G., Rognan D. 2000.** Protein-based virtual screening of chemical databases. 1. Evaluation of different docking/scoring combinations. *J. Med. Chem.* **43** : 4759-4767.
- 60 **Stahl M., Rarey M. 2001.** Detailed analysis of *scoring* functions for virtual screening. *J. Med. Chem.* **44** : 1035-1042.
- 61 **Brooijmans N., Kuntz ID. 2003.** Molecular recognition and docking algorithms. *Annu Rev Biophys Biomol Struct.* **32** : 335-373.
- 62 **Böhm H-J. 1998.** Prediction of binding constants of protein ligands : a fast method for the prioritization of hits obtained from de novo design or 3D database search programs. *J. Comput. Aid. Mol. Des.* **12** : 309-323.
- 63 **Goodsell DS., Olson AJ. 1990.** Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing. *Proteins.* **8** (3) : 195-202.
- 64 **Jones G., Willett P., Glen RC., Leach AR., Taylor R. 1997.** Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J. Mol. Biol.* **267** : 727-748
- 65 **Jernigan RL., Bahar I. 1996.** Structure-derived Potentials and Protein Simulations. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **6** : 195-209.
- 66 **Russ WP., Ranganathan R. 2002.** Knowledge-based Potential Functions in Protein Design. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **12** : 447-452.
- 67 **Verkhivker G., Appelt K., Freer S.T., Villafranca J.E. 1995.** Empirical Free Energy Calculations of Ligand-Protein Crystallographic Complexes. I. Knowledge-based Ligand-Protein Interaction Potentials Applied to the Prediction of Human Immunodeficiency Virus 1 Protease Binding Affinity. *Prot. Eng.* **8** : 677-691.
- 68 **Schaffer L., Verkhivker GM. 1998.** Predicting structural effects in HIV-1 protease mutant complexes with flexible ligand docking and protein side-chain optimization. *Proteins.* **33** : 295-310
- 69 **DeWitte R.S., Shakhnovich E.I. 1996.** SmoG de Novo Design Method based on Simple, Fast, and Accurate Free Energy Estimates. 1. Methodology and Supporting Evidence. *J. Am. Chem. Soc.* **118** : 11733-11744.
- 70 **Ishchenko AV., Shakhnovich EI. 2002.** Small Molecule Growth **2001.** (SMoG2001): An Improved knowledge-based Scoring Function for Protein-Ligand Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **45** : 2770-2780.

- 71 **Mitchell JBO., Laskowski RA., Alex A., Thornton JM. 1999.** BLEEP – Potential of Mean Force Describing Protein-Ligand Interactions: I. Generating Potential. *J. Comput. Chem.* **20** : 1165-1176.
- 72 **Mitchell JBO., Laskowski RA., Alex A., Forster MJ., Thornton JM. 1999.** BLEEP – Potential of Mean Force Describing Protein-Ligand Interactions: II. Calculation of Binding Energies and Comparison with Experimental Data. *J. Comput. Chem.* **20** : 1177-1185.
- 73 **Weiner SJ., Kollman PA., Nguyen DT., Case DA. 1986.** An All Atom Force Field for Simulations of Proteins and Nucleic Acids. *J. Comp. Chem.* **7** : 230-252.
- 74 **Mazel D., Pochet S., Marliere P. 1994.** Genetic characterization of polypeptide deformylase, a distinctive enzyme of eubacterial translation *EMBO J.*, **13** : 914 - 923.
- 75 **Mazel D., Coic E., Blanchard S., Saurin W., and Marliere P. 1997.** Crystal Structure of the *Escherichia coli* Peptide Deformylase *J. Mol. Biol.*, **266** : 939-949.
- 76 **Adams J. M., and Capecchi M. R. 1966.** Peptide deformylase as a target for new generation, broad spectrum antimicrobial agents *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **55** : 147-155.
- 77 **Lucchini G., and Bianchetti R. 1980.** Initiation of protein synthesis in isolated mitochondria and chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*, **608** : 54-61.
- 78 **Meinzel T., and Blanquet S. 1993.** Evidence that peptide deformylase and methionyl-tRNA(fMet) formyltransferase are encoded within the same operon in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **175** : 7737-7740.
- 79 **Lee M. D., Antczak C., Li Y., Sirotiak F. M., Bornmann W. G., Scheinberg D. A. 2003.** Peptide Deformylase Inhibitors as Potent Antimycobacterial Agents. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **312** : 309-315.
- 80 **Nguyen K. T., Hu X., Colton C., Chakrabarti R., Zhu M. X., and Pei D. 2003.** Characterization of a Human Peptide Deformylase: Implications for Antibacterial Drug Design *Biochemistry*, **42** : 9952-9958.
- 81 **Serero A., Giglione C., Sardini A., Martinez-Sanz J., and Meinzel T. 2003.** An Unusual Peptide Deformylase Features in the Human Mitochondrial N-terminal Methionine Excision Pathway *J. Biol. Chem.*, **278** : 52953-52963.
- 82 **Cali P., Naerum L., Mukhija S., and Hjelmencrantz A. 2004.** Isoxazole-3-hydroxamic Acid Derivatives as Peptide Deformylase Inhibitors and Potential Antibacterial Agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14** : 5997-6000.
- 83 **Chen D., Hackbarth C., Ni Z. J., Wu C., Wang W., Jain R., He Y., Bracken K., Weidmann B., Patel D. V., Trias J., White R. J., and Yuan Z. 2004.** Peptide Deformylase Inhibitors as Antibacterial Agents: Identification of VRC3375, a Proline-3-Alkylsuccinyl Hydroxamate Derivative, by Using an Integrated Combinatorial and Medicinal Chemistry Approach *Antimicrob. Agents Chemother.*, **48** : 250 - 261.

- 84 **Adams J. M. 1968.** Isoxazoles as peptide deformylase inhibitors *J. Mol. Biol.*, **33** : 571-589.
- 85 **Meinzel T., Mechulam Y., and Blanquet S. 1993.** Methionine as translation start signal : a review of the enzymes of the pathway in *Escherichia coli* *Biochimie.*, **75** : 1061-1075.
- 86 **Meinzel T., Lazennec C., and Blanquet S. 1995.** Mapping of the active site zinc ligands of peptide deformylase. *J. Mol. Biol.*, **254** : 175-183.
- 87 **Rajagopalan P. T., Yu X. C., and Pei D. 1997.** Peptide deformylase: a new type of mononuclear iron protein. *J. Am. Chem. Soc.*, **119** : 12418-12419.
- 88 **Groche D., Becker A., Schlichting I., Kabsch W., Schultz S., and Wagner A. F. 1998.** Isolation and crystallization of functionally competent *Escherichia coli* peptide deformylase forms containing either iron or nickel in the active site. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **246** : 342-346.
- 89 **Ragusa S., Blanquet S., and Meinzel T. 1998.** Control of peptide deformylase activity by metal cations. *J. Mol. Biol.*, **280** : 515-523.
- 90 **Rajagopalan P. T., and Pei D. 1998.** Oxygen-mediated inactivation of peptide deformylase. *J. Biol. Chem.*, **273** : 22305 - 22310.
- 91 **Giglione C., Pierre M., and Meinzel T. 2000.** Peptide deformylase as a target for new generation, broad spectrum antimicrobial agents. *Mol. Microbiol.*, **36** : 1197-1205.
- 92 **Yuan Z., Trias J., and White R. J. 2001.** Deformylase as a novel antibacterial target. *Drug Discov. Today*, **6** : 954-961.
- 93 **Clements J. M., Ayscough A., Keavey K., and East S. P. 2002.** Peptide deformylase inhibitors, potential for a new class of broad spectrum antibacterials. *Curr. Med. Chem.*, **1** : 239-249.
- 94 **Lazennec C., and Meinzel T. 1997.** Formate dehydrogenase-coupled spectrophotometric assay of peptide deformylase. *Anal. Biochem.*, **244** : 180- 182.
- 95 **Wei Y., and Pei D. 2000.** Activation of antibacterial prodrugs by peptide deformylase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10** : 1073-1076.
- 96 **Meinzel T., and Blanquet S. 1995.** Enzymatic properties of *Escherichia coli* peptide deformylase. *J. Bacteriol.*, **177** : 1883-1887.
- 97 **Rajagopalan P. T., Datta A., and Pei D. 1997.** Purification, characterization, and inhibition of peptide deformylase from *Escherichia coli* *Biochem.*, **36** : 13910-13918.
- 98 **Becker A., Schlichting I., Kabsch W., Groche D., Schultz S., and Wagner A. F. 1998.** Iron center, substrate recognition, and mechanism of peptide deformylase. *Nat. Struct. Biol.*, **5** : 1053-1058.

- 99 **Rajagopalan P. T., Grimme S., and Pei D. 2000.** Characterization of cobalt(II)-substituted peptide deformylase: function of the metal ion and the catalytic residue Glu-133. *Biochem.*, **39** : 779-790.
- 100 **Baldwin E. T., Harris M. S., Yem A. W., Wolfe C. L., Vosters A. F., Curry K. A., Murray R. W., Bock J. H., Marshall V. P., Cialdella J. I., Merchant M. H., Choi G., and Deibel M. R., Jr. 2002.** Crystal Structure of Type II Peptide Deformylase from *Staphylococcus aureus*. *J. Biol. Chem.*, **277** : 31163-31171.
- 101 **Guilloteau J. P., Mathieu M., Giglione C., Blanc V., Dupuy A., Chevrier M., Gil P., Famechon A., Meinnel T., and Mikol V. 2002.** The Crystal Structures of Four Peptide Deformylases Bound to the Antibiotic Actinonin Reveal Two Distinct Types: A Platform for the Structure-based Design of Antibacterial Agents *J. Mol. Biol.*, **320** : 951-962.
- 102 **Leiting B., Marsilio F., and O'Connell J. F. 1998.** Predictable deuteration of recombinant proteins expressed in *Escherichia coli* *Anal. Biochem.*, **265** : 351-355.
- 103 **Margolis P., Hackbarth C., Lopez S., Maniar M., Wang W., Yuan Z., White R., and Trias J. 2001.** Resistance of *Streptococcus pneumoniae* to Deformylase Inhibitors Is Due to Mutations in *defB*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45** : 2432-2435.
- 104 **Li Y., Chen Z., and Gong W. 2002.** Enzymatic properties of a new peptide deformylase from pathogenic bacterium *Leptospira interrogans*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **295** : 884-889.
- 105 **Smith K. J., Petit C. M., Aubart K., Smyth M., McManus E., Jones J., Fosberry A., Lewis C., Lonetto M., and Christensen S. B. 2003.** Structural variation and inhibitor binding in polypeptide deformylase from four different bacterial species *Protein Sci.*, **12** : 349-360.
- 106 [Http://martin.parasitology.mcgill.ca/jimspage/BIOP AGE/CONT.HTM](http://martin.parasitology.mcgill.ca/jimspage/BIOP AGE/CONT.HTM)
Parasites dictionary.
- 107 [Http://www.nature.com/nm/special_focus/malaria/](http://www.nature.com/nm/special_focus/malaria/) Special focus of Nature Medicine on malaria.
- 108 [Http://www.malaria.org/](http://www.malaria.org/) Malaria foundation international.
- 109 **Meinnel T. 2000.** Peptide deformylase of eukaryotic protists: A target for new antiparasitic agents? *Parasitol. Today.* **16** :165-168.
- 110 **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 J.* **19** : 5916-5629.
- 111 **Lucchini G., Bianchetti R. 1980.** Initiation of protein synthesis in isolated mitochondria and chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta.* **608** : 54-61.

- 112 **Burger G., Plante I., Lonergan K.M., Gray M.W. 1995.** The mitochondrial DNA of the amoeboid protozoon, *Acanthamoeba castellanii*: complete sequence, gene content and genome organization. *J. Mol. Biol.* **245** : 522-537.
- 113 **Le T.H., Blair D., McManus D.P. 2000.** Mitochondrial DNA sequences of human schistosomes: the current status. *Int. J. Parasitol.* **30** : 283-290.
- 114 **Le T.H., Blair D., McManus D.P. 2000.** Mitochondrial genomes of human helminths and their use as markers in population genetics and phylogeny. *Acta Trop.* **77** : 243-256.
- 115 [Http://megasun.bch.umontreal.ca/ogmp/projects/ot her/mtcomp.html](http://megasun.bch.umontreal.ca/ogmp/projects/ot%20her/mtcomp.html)
List of all published complete organelle sequences
- 116 **Meinzel T., Blanquet S., and Dardel F. 1996.** A new subclass of the zinc metalloproteases superfamily revealed by the solution structure of peptide deformylase. *J. Mol. Biol.*, **262** : 375-386.
- 117 **Chan M. K., Gong W., Rajagopalan P. T., Hao B., Tsai C. M., and Pei D. 1997.** Crystal structure of the *Escherichia coli* peptide deformylase. *Biochem.*, **36** : 13904-13909.
- 118 **Becker A., Schlichting I., Kabsch W., Schultz S., and Wagner A. F. 1998.** Structure of peptide deformylase and identification of the substrate binding site. *J. Biol. Chem.*, **273** : 11413-11416.
- 119 **Dardel F., Ragusa S., Lazennec C., Blanquet S., and Meinzel T. 1998.** Solution structure of nickel-peptide deformylase. *J. Mol. Biol.*, **280** : 501-513.
- 120 **Clements J. M., Beckett R. P., Brown A., Catlin G., Lobell M., Palan S., Thomas W., Whittaker M., Wood S., Salama S., Baker P. J., Rodgers H. F., Barynin V., Rice D. W., and Hunter M. G. 2001.** Antibiotic activity and characterization of BB-3497, a novel peptide deformylase inhibitor. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45** : 563-570.
- 121 **Hackbarth C. J., Chen D. Z., Lewis J. G., Clark K., Mangold J. B., Cramer J. A., Margolis P. S., Wang W., Koehn J., Wu C., Lopez S., Withers I. G., Gu H., Dunn E., Kulathila R., Pan S. H., Porter W. L., Jacobs J., Trias J., Patel D. V., Weidmann B., White R. J., and Yuan Z. 2002.** *N*-Alkyl urea hydroxamic acids as a new class of peptide deformylase inhibitors with antibacterial activity. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **46** : 2752-2764
- 122 **Apfel C., Banner D. W., Bur D., Dietz M., Hirata T., Hubschwerlen C., Locher H., Page M. G., Pirson W., Rosse G., and Specklin J. L. 2000.** Hydroxamic Acid Derivatives as Potent Peptide Deformylase Inhibitors and Antibacterial Agents *J. Med. Chem.*, **43** : 2324-2331.
- 123 **Thorarensen A., Douglas M. R., Jr., Rohrer D. C., Vosters A. F., Yem A. W., Marshall V. D., Lynn J. C., Bohanon M. J., Tomich P. K., Zurenko G. E., Sweeney M. T., Jensen R. M., Nielsen J. W., Seest E. P., and Dolak L. A. 2001.** Identification of novel potent hydroxamic acid inhibitors of peptidyl deformylase and the importance of the hydroxamic acid functionality on inhibition. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **11** : 1355-1358.

- 124 **Molteni V., He X., Nabakka J., Yang K., Kreuzsch A., Gordon P., Bursulaya B., Warner I., Shin T., Biorac T., Ryder N. S., Goldberg R., Doughty J., and He Y. 2004.** Identification of novel potent bicyclic peptide deformylase inhibitors *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14** : 1477-1481.
- 125 **Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A. et al. 1997.** Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* **25** : 3389-3402.
- 126 **Chen D.Z., Patel D.V., Hackbarth C.J. ., Wang W., Dreyer G., Young D. C., Margolis P. S., Wu C., Ni Z. J., Trias J., White R. J., and Yuan Z. 2000.** Actinonin, a naturally occurring antibacterial agent, is a potent deformylase inhibitor. *Biochemistry* **39** : 1256-1262.
- 127 **Huntington K.M., Yi T., Wei Y., Pei D. 2000.** Synthesis and antibacterial activity of peptide deformylase inhibitors. *Biochemistry*, **39** : 4543-4351.
- 128 **Leung D., Abbenante G., and Fairlie D. P. 1999.** Protease inhibitors: current status and future prospects. *J. Med. Chem.*, **43** : 305-341.
- 129 **Hu Y. J., Rajagopalan P. T., and Pei D. 1998.** H-phosphonate derivatives as novel peptide deformylase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8** : 2479-2482.
- 130 **Meinzel T., Patiny L., Ragusa S., and Blanquet S. 1999.** Design and synthesis of substrate analogue inhibitors of peptide deformylase *Biochem.*, **38** : 4287-4295.
- 131 **Huntington K. M., Yi T., Wei Y., and Pei D. 2000.** Synthesis and antibacterial activity of peptide deformylase inhibitors. *Biochem.*, **39** : 4543-4551.
- 132 **Durand D. J., Gordon Green B., O'Connell J. F., and Grant S. K. 1999.** Peptide aldehyde inhibitors of bacterial peptide deformylases. *Arch. Biochem. Biophys.*, **367** : 297-302.
- 133 **Jayasekera M. M. K., Kendall A., Shamma R., Dermeyer M., Tomala M., Shapiro M. A., and Holler T. P. 2000.** Novel nonpeptidic inhibitors of peptide deformylase. *Arch. Biochem. Biophys.*, **381** : 313-316.
- 134 **Green B. G., Toney J. H., Kozarich J. W., and Grant S. K. 2000.** Inhibition of bacterial peptide deformylase by biaryl acid analogs. *Arch. Biochem. Biophys.*, **375** : 355-358.
- 135 **Chu M., Mierzwa R., He L., Xu L., Gentile F., Terracciano J., Patel M., Miesel L., Boanon S., Kravec C., Cramer C., Fischman T. O., Hruza A., Ramanathan L., Shipkova P., and Chan T. 2001.** Isolation and structure elucidation of two novel deformylase inhibitors produced by *Streptomyces* sp. *Tetrahedron Lett.*, **42** : 3549-3551.

- 136 **Apfel C., Banner D. W., Bur D., Dietz M., Hubschwerlen C., Locher H., Marlin F., Masciadri R., Pirson W., and Stalder H. 2001.** 2-(2-oxo-1,4-dihydro-2H-quinazolin-3-yl)- and 2-(2,2-dioxo-1,4-dihydro-2H-2λ6-benzo[1,2,6]thiadiazin-3-yl)-N-hydroxyacetamides as potent and selective peptide deformylase inhibitors. *J. Med. Chem.*, **44** : 1847-1852
- 137 **Howard M. H., Cenizal T., Gutteridge S., Hanna W. S., Tao Y., Totrov M., Wittenbach V. A., and Zheng Y. J. 2004.** A Novel Class of Inhibitors of Peptide Deformylase Discovered through High-Throughput Screening and Virtual Ligand Screening *J. Med. Chem.*, **47** : 6669-6672.
- 138 **Jain R., Sundram A., Lopez S., Neckermann G., Wu C., Hackbarth C., Chen D., Wang W., Ryder N. S., Weidmann B., Patel D., Trias J., White R., and Yuan Z. 2004.** α-Substituted hydroxamic acids as novel bacterial deformylase inhibitor-based antibacterial agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13** : 4223-4228.
- 139 **Hao B., Gong W., Rajagopalan P. T., Zhou Y., Pei D. and Chan M. K. 1999.** Structural basis for the design of antibiotics targeting peptide deformylase. *Biochemistry* **38**, 4712-4719.
- 140 **Chan M. K., Gong W., Rajagopalan P. T., Hao B., Tsai C. M. and Pei D. 1997.** Crystal structure of the *Escherichia coli* peptide deformylase. *Biochemistry* **36**, 13904-13909.
- 141 **Cynamon M. H., Alvarez-Freites E. and Yeo A. E. T. 2004.** BB-3497, a peptide deformylase inhibitor, is active against *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Antimicrob. Chemother.* **53**, 403-405.
- 142 **Lee M. D., Antczak C., Li Y., Sirotnak F. M., Bornmann W. G., Scheinberg D. A. 2003.** A new human peptide deformylase inhibitable by actinonin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **312** : 309-315.
- 143 **Yuan Z., Trias J., White R. J. 2001.** Deformylase as a novel antibacterial target. *Drug DiscoVery Today*, **6** : 954-961.
- 144 **Giglione C., Boularot A., Meinel T. 2004.** Protein N-terminal methionine excision. *Cell. Mol. Life Sci.* **61** : 1455-1474.
- 145 **Lee M. D., She, Y., Soskis M. J., Borella C. P., Gardner J. R., Hayes P. A., Dy B. M., Heaney M. L., Phillips M. R., Bornmann W. G., Sirotnak F. M., Scheinberg D. A. 2004.** Human mitochondrial peptide deformylase, a new anticancer target of actinonin-based antibiotics. *J. Clin. Invest.*, **114** : 1107-1116.
- 146 **Leszczyniecka M., Bhatia U., Cueto M., Nirmala N. R., Towbin H., Vattay A., Wang B., Zabudoff S., Phillips P. E. 2006.** MAP1D, a novel methionine aminopeptidase family member is overexpressed in colon cancer. *Oncogene*, **25** (24) : 3471-3478.

- 147 **Boularot A., Giglione C., Petit S., Duroc Y., Alves de Sousa R., Larue V., Cresteil T., Dardel F., Artaud I., and Meinel T. 2007.** Discovery and Refinement of a New Structural Class of Potent Peptide Deformylase Inhibitors. *J. Med. Chem.*, **50** : 10-20.
- 148 **Lee M. D., Antczak C., Li Y., Sirotnak F. M., Bornmann W. G., Scheinberg D. A., 2003** A new human peptide deformylase inhibitable by actinonin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **312** : 309-315.
- 149 **Lee M. D., She Y., Soskis M. J., Borella C. P., Gardner J. R., Hayes P. A., Dy B. M., Heaney M. L., Philips M. R., Bornmann W. G., Sirotnak F. M., Scheinberg D. A., 2004.** Human mitochondrial peptide deformylase, a new anticancer target of actinonin-based antibiotics. *J. Clin. Invest.*, **114** : 1107-1116.
- 150 **Xu Y., Lai L. T., Gabrilove J. L., Scheinberg D. A. 1998.** Antitumor activity of actinonin *in Vitro* and *in Vivo*. *Clin. Cancer Res.*, **4** : 171-176.
- 151 **Grujic M., Renko M. 2002.** Aminopeptidase inhibitors bestatin and actinonin inhibit cell proliferation of myeloma cells predominantly by intracellular interactions. *Cancer Lett.*, **182** : 113-119.

ANNEXES

ANNEXE 1

Liste des 126 complexes utilisés pour tester les trois programmes de "Docking".

1bsj ; 1bsk ; 1bsz ; 1bs4 ; 1g2a ; 1g27 ; 1icj ; 1lru ; 1xen ; 1xeo ; 2ai8 ; 1lry ; 1ix1 ; 2aia ;
2aie ; 1q1y ; 1lqy ; 1rl4 ; 1szz ; 1s17 ; 2ew5 ; 2ew6 ; 1abe ; 1glq ; 1rds ; 1nco ; 1tni ;
1acm ; 1lpm ; 1hdc ; 1tka ; 1baf ; 1tng ; 1lst ; 1tnl ; 1wap ; 1lah ; 1ukz ; 1aha ; 1coy ;
1dbb ; 1dr1 ; 1hsl ; 1srj ; 1mdr ; 1stp ; 1ack ; 1frp ; 1cbs ; 1ldm ; 1hdy ; 1phg ; 1hyt ; 1lcp ;
1rob ; 1dbj ; 1ulb ; 1mrg ; 1lna ; 1aco ; 1fki ; 1com ; 1tmn ; 1cbx ; 1acj ; 1eap ; 1dwd ; 1atl ;
1bbp ; 1bma ; 1mrk ; 2ada ; 2ak3 ; 2ctc ; 2dbl ; 2gbp ; 2phh ; 2cht ; 2sim ; 3aah ; 4cts ;
3cpa ; 2lgs ; 2cgr ; 8gch ; 2r07 ; 4dfr ; 2cmd ; 1epb ; 1fkg ; 3hvt ; 1hri ; 1lic ; 1snc ; 1etr ;
6abp ; 6rnt ; 7tim ; 6rsa ; 1trk ; 1fen ; 6tim ; 6tmn ; 4fxn ; 4hmg ; 4tim ; 4tln ; 4ts1 ; 5cpp ;
5p2p ; 5tim ; 1die ; 1eta ; 1hgh ; 1hgj ; 1icn ; 1mup ; 1poc ; 1pph ; 1ppl ; 1tlp ; 4fab ; 2ai7 ;
1zy1 ; 1bs6 ; 1bs8 .

ANNEXE 2

LISTE DES SIMILAIRES

1. Similaires du mln :

Amprenavir, azidamfenicol, bicalutamide, bortezomib, bucladesine, Citicoline, fosamprenavir, fotemustine, iobitrindo, iodixanol, lohexol, iomeprol, iopamidol, iopentol, iopromide, lotrolan, ioversol, ioxilan, oxytocin, remikiren, Saquivanir, sincalide, spagluac acid, thymopentin.

2. Similaires du 1BB2 :

1bb2, atosiban, cilazapril, demoxytocin, enalapril, imidapril, iopinavir, lincomycin, lisinopril, melagatran, ornipressin, perindopri, protirelin, quinapril, ramipril, saquinavir, Thymopentin, trandolapril, ximelagatran.

3. Similaires du 1BB1 :

1bb1, alanylglutamine, deferoxamine, delapril, enalapril, fosinopril, glutathione, ibandronicacid, lisinopril, melagatran, oxetacaine, pantethine, perindopril, prethcamide, proglumide, ramipril, remifentanil, remikiren, rokitamycin, roxithromycin, saquinavir, spaglumicacid, thymopentin, tiropramide, trandolapril, ximelagatran.

4. Similaires du fmt :

Acetic acid, Almagate, Aluminium acetoacetate, Aminobutyric acid, Aminocaproic acid, Aminomethylbenzoic acid, Calcium lactate, Calcium levulate, carbon dioxide, felbinac, ferrous carbonate, fmt, glycine, hydroxybutyric acid, lactic acid, lithium, succinate, magnesiumcarbonate, magnesium levulinate, nicotinic acid, potassium

hydrogenocarbonate, Potassium lactate, sodium propionate, sodium acetate, sodium bicarbonate, Undecylenic acid, valproic acid, vigabatrin, zinc acetate.

5. Similaires du sb7 :

Alprenolol, alverine, aminocaproicacid, bamethan, beclamide, benzoxoniumchloride betaxolol, bisopropolol, bufexamac, chlorambucil, clofezone, diodone, domiphen, dropropizine, esmolol, ethambutol, levodropropizine, lysine, melphalan, mefenorex Metoprolol, moclobemide, olaflur, ornithineoxoglurate, phenprobamate, procainamide, propafenone, roxatidine, sb7, solifenacin.

6. Similaires du sb8 :

Acebutolol, adrafinil, bazafibrate, bromazine, Carbinoxamine, chloramphenicol celiprolol, clefamamide, dexketoprophen, etafenone, etamivan, etofamide, formoterol, ketoprofen, labetalol, melevodopa, midodrine, oxybuprocaine, morclofone, oxyfedrin, progabide, propafenone, propanidid, proxymmetacaine, roxatidine, salmeterol, sb8, tiropramide, trepibutone, xenysalate.

7. Similaires du sb9 :

Alverine, arginine glutamate, arginine hydrochloride, bufexamac, Bupivacaine capsaisin, chlorambucil, clofezone, Deferoxamine, diethyltoluamide, domiphen etidocaine, levobupivacaine, lidocaine, lysine, melphalan, metabutethamine ornithine oxoglutarate, phenprobamate, pivagabine, Prilocaine, procainamide propafenone, quinisocaine, Ropivacaine, roxatidine, tetracaine, tripelennamine.

ANNEXE 3

RESULTATS OBTENUS PAR LES SIMILAIRES

1. La 1bsj

- 1bsj-mln-sim\lig\mln: 58 atoms, 12 rot: [log-0: 5.31 crash -1.31 polar 3.36]
- 1bsj-mln-sim\lig\amprenavir: 70 atoms, 14 rot: [log-0: 3.82 crash -3.62 polar 1.05]
- 1bsj-mln-sim\lig\azidamfenicol: 35 atoms, 10 rot: [log-10: 3.68 crash -1.45 polar 2.30]
- 1bsj-mln-sim\lig\bicalutamide: 136 atoms, 21 rot: [log-20: 0.27 crash -3.38 polar 5.82]
- 1bsj-mln-sim\lig\bortezomib: 53 atoms, 13 rot: [log-30: 6.29 crash -1.41 polar 4.07]
- 1bsj-mln-sim\lig\bucladesine: 56 atoms, 10 rot: [log-40: 4.96 crash -1.67 polar 2.00]
- 1bsj-mln-sim\lig\citicoline: 57 atoms, 13 rot: [log-50: 4.69 crash -3.73 polar 6.33]
- 1bsj-mln-sim\lig\fosamprenavir: 75 atoms, 17 rot: [log-60: 3.83 crash -3.86 polar 4.40]
- 1bsj-mln-sim\lig\fotemustine: 38 atoms, 11 rot: [log-70: 2.13 crash -2.26 polar 1.60]
- 1bsj-mln-sim\lig\iobitridol: 63 atoms, 21 rot: [log-80: -0.03 crash -3.88 polar 2.64]
- 1bsj-mln-sim\lig\iodixanol: 106 atoms, 37 rot: [log-90: -0.23 crash -8.69 polar 2.26]
- 1bsj-mln-sim\lig\iohexol: 60 atoms, 21 rot: [log-100: -0.25 crash -4.23 polar 2.38]
- 1bsj-mln-sim\lig\iomeprolo: 53 atoms, 18 rot: [log-110: 1.97 crash -3.09 polar 5.32]
- 1bsj-mln-sim\lig\iopamidol: 53 atoms, 18 rot: [log-120: -0.04 crash -4.11 polar 4.02]
- 1bsj-mln-sim\lig\iopentol: 63 atoms, 21 rot: [log-130: -0.60 crash -4.55 polar 3.89]
- 1bsj-mln-sim\lig\iopromide: 56 atoms, 18 rot: [log-140: 1.54 crash -3.02 polar 5.61]
- 1bsj-mln-sim\lig\iotrolan: 115 atoms, 42 rot: [log-150: 2.52 crash -7.10 polar 5.44]
- 1bsj-mln-sim\lig\ioversol: 57 atoms, 21 rot: [log-160: 0.98 crash -4.87 polar 6.40]
- 1bsj-mln-sim\lig\ioxilan: 56 atoms, 19 rot: [log-170: 0.55 crash -3.23 polar 4.21]
- 1bsj-mln-sim\lig\oxytocin: 136 atoms, 21 rot: [log-180: 0.27 crash -3.38 polar 5.82]
- 1bsj-mln-sim\lig\remikiren: 94 atoms, 20 rot: [log-190: 3.68 crash -4.50 polar 3.27]
- 1bsj-mln-sim\lig\sauquanir: 100 atoms, 17 rot: [log-200: 1.89 crash -4.75 polar 2.23]
- 1bsj-mln-sim\lig\sincalide: 141 atoms, 43 rot: [log-210: -1.25 crash -8.04 polar 8.35]
- 1bsj-mln-sim\lig\spagluc: 37 atoms, 14 rot: [log-220: 5.58 crash -1.54 polar 5.53]
- 1bsj-mln-sim\lig\thymopentin: 99 atoms, 31 rot: [log-230: 4.17 crash -5.86 polar 6.50]

2. La 1g2a

- 1g2a-bb2-sim\lig\1bb2: 60 atoms, 15 rot: [log-0: 7.04 crash -1.72 polar 5.95]
- 1g2a-bb2-sim\lig\atosiban: 135 atoms, 22 rot: [log-10: 0.23 crash -5.96 polar 3.14]
- 1g2a-bb2-sim\lig\cilazapril: 61 atoms, 10 rot: [log-20: 3.64 crash -2.69 polar 1.31]
- 1g2a-bb2-sim\lig\demoxytocin: 133 atoms, 21 rot: [log-30: 2.22 crash -5.85 polar 6.36]
- 1g2a-bb2-sim\lig\enalapril: 55 atoms, 12 rot: [log-40: 3.71 crash -2.10 polar 1.68]
- 1g2a-bb2-sim\lig\imidapril: 56 atoms, 12 rot: [log-50: 4.92 crash -2.82 polar 3.23]
- 1g2a-bb2-sim\lig\iopinavir: 94 atoms, 18 rot: [log-60: 3.89 crash -4.21 polar 2.25]
- 1g2a-bb2-sim\lig\lincomycin: 61 atoms, 12 rot: [log-70: 4.30 crash -2.59 polar 2.08]
- 1g2a-bb2-sim\lig\lisinopril: 60 atoms, 15 rot: [log-80: 5.43 crash -3.86 polar 5.19]
- 1g2a-bb2-sim\lig\melagatran: 62 atoms, 13 rot: [log-90: 5.07 crash -5.56 polar 5.79]
- 1g2a-bb2-sim\lig\ornipressin: 135 atoms, 22 rot: [log-100: 6.51 crash -5.06 polar 6.69]
- 1g2a-bb2-sim\lig\perindopril: 58 atoms, 11 rot: [log-110: 3.24 crash -2.01 polar 2.33]
- 1g2a-bb2-sim\lig\protirelin: 48 atoms, 8 rot: [log-120: 5.29 crash -2.37 polar 3.13]
- 1g2a-bb2-sim\lig\quinapril: 62 atoms, 12 rot: [log-130: 4.32 crash -3.53 polar 2.41]
- 1g2a-bb2-sim\lig\ramipril: 62 atoms, 12 rot: [log-140: 4.03 crash -5.06 polar 4.38]
- 1g2a-bb2-sim\lig\saquinavir: 99 atoms, 17 rot: [log-150: 0.59 crash -3.28 polar 1.14]
- 1g2a-bb2-sim\lig\thymopentin: 97 atoms, 31 rot: [log-160: 3.63 crash -5.75 polar 5.65]
- 1g2a-bb2-sim\lig\trandolapril: 65 atoms, 12 rot: [log-170: 4.02 crash -7.57 polar 1.88]
- 1g2a-bb2-sim\lig\ximelagatran: 69 atoms, 16 rot: [log-180: 6.90 crash -3.74 polar 4.12]

3. La 1g27

- 1g27-bb1-sim\lig\1bb1: 53 atoms, 10 rot: [log-0: 6.23 crash -1.77 polar 4.99]
- 1g27-bb1-sim\lig\alanylglutamine: 30 atoms, 8 rot: [log-10: 6.50 crash -1.80 polar 6.44]
- 1g27-bb1-sim\lig\deferoxamine: 87 atoms, 31 rot: [log-20: 1.64 crash -2.75 polar 4.02]
- 1g27-bb1-sim\lig\delapril: 65 atoms, 14 rot: [log-30: 0.91 crash -6.89 polar 2.28]
- 1g27-bb1-sim\lig\enalapril: 55 atoms, 12 rot: [log-40: 3.28 crash -2.60 polar 2.17]
- 1g27-bb1-sim\lig\fosinopril: 85 atoms, 17 rot: [log-50: 5.28 crash -5.65 polar 0.81]
- 1g27-bb1-sim\lig\glutathione: 37 atoms, 14 rot: [log-60: 5.74 crash -2.12 polar 6.72]
- 1g27-bb1-sim\lig\ibandronicacid: 42 atoms, 14 rot: [log-70: 6.04 crash -3.32 polar 6.99]
- 1g27-bb1-sim\lig\lisinopril: 60 atoms, 15 rot: [log-80: 4.00 crash -2.02 polar 2.22]
- 1g27-bb1-sim\lig\melagatran: 62 atoms, 13 rot: [log-90: 3.76 crash -4.57 polar 4.00]
- 1g27-bb1-sim\lig\oxetacaine: 75 atoms, 15 rot: [log-100: -0.10 crash -6.93 polar 2.25]
- 1g27-bb1-sim\lig\pantethine: 77 atoms, 26 rot: [log-110: -1.82 crash -6.21 polar 3.88]

- 1g27-bb1-sim\lig\perindopril: 58 atoms, 11 rot:[log-120: 4.90 crash -4.00 polar 1.19]
- 1g27-bb1-sim\lig\prethcamide: 41 atoms, 8 rot:[log-130: 4.12 crash -3.81 polar1.02]
- 1g27-bb1-sim\lig\proglumide: 50 atoms, 13 rot:[log-140: 3.78 crash -3.97 polar3.20]
- 1g27-bb1-sim\lig\ramipril: 62 atoms, 12 rot: [log-150: 3.01 crash -4.11 polar 1.17]
- 1g27-bb1-sim\lig\remifentanil: 55 atoms,10 rot: [log-160:2.53 crash -3.46 polar2.23]
- 1g27-bb1-sim\lig\remikiren: 94 atoms, 20 rot: [log-170: 4.13 crash -4.20 polar 2.11]
- 1g27-bb1-sim\lig\rokitamycin: 127 atoms, 18 rot: [log-180: 2.10 crash -9.78 polar 3.06]
- 1g27-bb1-sim\lig\roxithromycin: 134 atoms, 19 rot: [log-190: 4.94 crash -8.38 polar 1.10]
- 1g27-bb1-sim\lig\saquinavir: 99 atoms, 17 rot:[log-200: 1.43 crash -3.14 polar 0.00]
- 1g27-bb1-sim\lig\spaglumicacid: 37 atoms, 14 rot: [log-210: 6.05 crash -2.47 polar 6.27]
- 1g27-bb1-sim\lig\thymopentin: 97 atoms, 31 rot: [log-220: 3.86 crash -7.47 polar 7.21]
- 1g27-bb1-sim\lig\tiropamide: 75 atoms, 17 rot: [log-230: 0.88crash -6.26 polar0.00]
- 1g27-bb1-sim\lig\trandolapril: 65 atoms, 12 rot:[log-240:1.64 crash -6.77 polar 3.03]
- 1g27-bb1-sim\lig\ximelagatran: 69 atoms, 16 rot: [log-250: 6.01 crash -4.35 polar 2.84]

4 La 1xeo

- 1xeo-fmt-sim\lig\acetic: 8 atoms, 1 rot: [log-0: 2.54 crash -0.14 polar 3.27]
- 1xeo-fmt-sim\lig\almagate: 4 atoms, 0 rot:[log-10: 4.10 crash -0.52 polar 3.58]
- 1xeo-fmt-sim\lig\alumin: 4 atoms, 0 rot: [log-20: 4.47 crash -0.18 polar 2.78]
- 1xeo-fmt-sim\lig\aminob: 16 atoms, 4 rot: [log-30: 4.18 crash -0.53 polar 4.50]
- 1xeo-fmt-sim\lig\aminoc: 22 atoms, 6 rot: [log-40: 5.56 crash -0.68 polar 3.98]
- 1xeo-fmt-sim\lig\aminom: 20 atoms, 3 rot: [log-50: 4.90 crash -0.65 polar 3.51]
- 1xeo-fmt-sim\lig\calciu: 11 atoms, 2 rot: [log-60: 3.40 crash -0.26 polar 4.30]
- 1xeo-fmt-sim\lig\calciu2: 8 atoms, 3 rot: [log-70: 4.00 crash -0.71 polar 4.50]
- 1xeo-fmt-sim\lig\carbon: 3 atoms, 0 rot: [log-80: 3.21 crash -0.12 polar 2.82]
- 1xeo-fmt-sim\lig\felbinac: 28 atoms, 4 rot: [log-90: 3.90 crash -1.69 polar 2.39]
- 1xeo-fmt-sim\lig\ferrou: 4 atoms, 0 rot: [log-100: 4.10 crash -0.52 polar 3.58]
- 1xeo-fmt-sim\lig\fmt: 6 atoms, 2 rot: [log-110: 2.16 crash -0.29 polar 2.88]
- 1xeo-fmt-sim\lig\glycine: 10 atoms, 2 rot: [log-120: 3.40 crash -1.36 polar 4.68]
- 1xeo-fmt-sim\lig\hydrox: 15 atoms, 5 rot: [log-130: 3.64 crash -0.40 polar 3.31]
- 1xeo-fmt-sim\lig\lactic: 12 atoms, 3 rot: [log-140: 2.78 crash -0.15 polar 3.35]
- 1xeo-fmt-sim\lig\lithiu: 13 atoms, 4 rot: [log-150: 5.13 crash -1.19 polar 6.22]
- 1xeo-fmt-sim\lig\magnes1: 4 atoms, 0 rot: [log-160: 4.10 crash -0.52 polar 3.58]

- 1xeo-fmt-sim\lig\magnes2: 16 atoms, 4 rot: [log-170: 3.73 crash -0.97 polar 2.69]
- 1xeo-fmt-sim\lig\nicoti: 14 atoms, 2 rot: [log-180: 3.39 crash -0.25 polar 3.15]
- 1xeo-fmt-sim\lig\potass: 5 atoms, 1 rot: [log-190: 4.76 crash -0.08 polar 4.33]
- 1xeo-fmt-sim\lig\potass2: 11 atoms, 2 rot: [log-200: 2.75 crash -0.19 polar 2.52]
- 1xeo-fmt-sim\lig\sodiu1: 10 atoms, 1 rot: [log-210: 3.42 crash -0.41 polar 3.38]
- 1xeo-fmt-sim\lig\sodium2: 5 atoms, 1 rot: [log-220: 4.76 crash -0.08 polar 4.33]
- 1xeo-fmt-sim\lig\undecylenic: 33 atoms,10 rot: [log-230: 6.08 crash -2.00 polar3.18]
- 1xeo-fmt-sim\lig\valpro: 26 atoms, 6 rot: [log-240: 4.63 crash -1.81 polar 3.04]
- 1xeo-fmt-sim\lig\vigaba: 20 atoms, 5 rot: [log-250: 5.23 crash -2.13 polar 5.24]
- 1xeo-fmt-sim\lig\zincac: 7 atoms, 0 rot: [log-260: 3.18 crash -0.68 polar 3.45]
- 1xeo-fmt-sim\lig\sodium1: 7 atoms, 0 rot: [log-270: 3.22 crash -0.63 polar 3.45]

5. La 2ai7

- 2ai7-sb7-sim\lig\alprenolol: 41 atoms, 9 rot: [log-0: 5.00 crash -2.11 polar 2.24]
- 2ai7-sb7-sim\lig\alverine: 48 atoms, 9 rot: [log-10: 3.82 crash -3.02 polar 0.00]
- 2ai7-sb7-sim\lig\aminocaproicacid: 22 atoms, 6 rot: [log-20: 4.85 crash -0.39 polar 4.56]
- 2ai7-sb7-sim\lig\bamethan: 34 atoms, 8 rot: [log-30: 4.76 crash -1.81 polar 1.11]
- 2ai7-sb7-sim\lig\beclamide: 25 atoms, 4 rot: [log-40: 3.10 crash -0.77 polar 0.00]
- 2ai7-sb7-sim\lig\ benzoxoniumchloride: 68 atoms, 19 rot:[log-50: 2.97 crash -6.92 polar 2.86]
- 2ai7-sb7-sim\lig\betaxolol: 51 atoms, 12 rot: [log-60: 5.44 crash -3.28 polar 2.23]
- 2ai7-sb7-sim\lig\bisopropolol: 54 atoms, 13 rot: [log-70: 4.18 crash -2.79 polar 3.25]
- 2ai7-sb7-sim\lig\bufexamac: 33 atoms, 7 rot: [log-80: 6.91 crash -1.64 polar 4.99]
- 2ai7-sb7-sim\lig\chlorambucil: 38 atoms, 10 rot: [log-90: 5.46 crash -2.36 polar 4.35]
- 2ai7-sb7-sim\lig\clofezone: 40 atoms, 8 rot: [log-100: 4.89 crash -1.37 polar 2.17]
- 2ai7-sb7-sim\lig\diodone: 19 atoms, 6 rot: [log-110: 5.05 crash -0.54 polar 3.80]
- 2ai7-sb7-sim\lig\domiphen: 64 atoms, 15 rot: [log-120: 5.39 crash -2.87 polar 0.00]
- 2ai7-sb7-sim\lig\dropropizine: 37 atoms, 6 rot: [log-130: 3.58 crash -4.22 polar 1.87]
- 2ai7-sb7-sim\lig\esmolol: 49 atoms, 12 rot: [log-140: 4.35 crash -2.05 polar 1.27]
- 2ai7-sb7-sim\lig\ethambutol: 38 atoms, 11 rot: [log-150: 4.78 crash -4.05 polar 3.91]
- 2ai7-sb7-sim\lig\levodropropizine: 37 atoms, 6 rot: [log-160: 4.57 crash -1.35 polar 2.60]
- 2ai7-sb7-sim\lig\lysine: 24 atoms, 6 rot: [log-170: 6.51 crash -1.03 polar 6.66]
- 2ai7-sb7-sim\lig\mefenorex: 32 atoms, 6 rot: [log-180: 4.73 crash -1.60 polar 0.96]
- 2ai7-sb7-sim\lig\melphalan: 37 atoms, 9 rot: [log-190: 4.82 crash -0.88 polar 4.04]

- 2ai7-sb7-sim\lig\metoprolol: 44 atoms, 10 rot: [log-200: 5.25 crash -2.57 polar 2.35]
- 2ai7-sb7-sim\lig\moclobemide: 35 atoms, 4 rot: [log-210: 3.93 crash -1.27 polar 1.01]
- 2ai7-sb7-sim\lig\olafalur: 90 atoms, 30 rot: [log-220: 4.33 crash -4.65 polar 2.70]
- 2ai7-sb7-sim\lig\ornithineoxoglurate: 21atoms, 5 rot: [log-230: 5.56 crash -0.99 polar 5.75]
- 2ai7-sb7-sim\lig\phenprobamate: 26 atoms, 5 rot: [log-240: 6.96 crash -1.55 polar 4.97]
- 2ai7-sb7-sim\lig\procainamide: 38 atoms, 6 rot: [log-250: 2.86 crash -1.83 polar 1.13]
- 2ai7-sb7-sim\lig\propafenone: 52 atoms, 12 rot: [log-260: 5.58 crash -2.59 polar 2.44]
- 2ai7-sb7-sim\lig\roxatidine: 48 atoms, 9 rot: [log-270: 6.05 crash -2.29 polar 4.46]
- 2ai7-sb7-sim\lig\sb7: 27 atoms, 6 rot: [log-280: 4.89 crash -0.82 polar 3.04]
- 2ai7-sb7-sim\lig\solifenacin: 43 atoms, 8 rot: [log-290: 2.78 crash -4.37 polar 0.00]

6. La 2aia

- 2aia-sb8-sim\lig\acebut: 53 atoms, 12 rot: [log-0: 5.64 crash -1.73 polar 3.18]
- 2aia-sb8-sim\lig\adrafamil: 37 atoms, 7 rot: [log-10: 6.10 crash -2.61 polar 5.86]
- 2aia-sb8-sim\lig\bazafi: 45 atoms, 9 rot: [log-20: 4.88 crash -1.74 polar 3.79]
- 2aia-sb8-sim\lig\bromaz: 41 atoms, 6 rot: [log-30: 3.60 crash -1.26 polar 0.97]
- 2aia-sb8-sim\lig\carbin: 40 atoms, 6 rot: [log-40: 4.07 crash -1.66 polar 0.00]
- 2aia-sb8-sim\lig\celipr: 61 atoms, 13 rot: [log-50: 3.21 crash -4.74 polar 2.77]
- 2aia-sb8-sim\lig\chlora: 32 atoms, 9 rot: [log-60: 4.72 crash -1.71 polar 3.43]
- 2aia-sb8-sim\lig\clefam: 42 atoms, 10 rot: [log-70: 2.55 crash -3.88 polar 1.89]
- 2aia-sb8-sim\lig\dexket: 33 atoms, 5 rot: [log-80: 5.62 crash -0.70 polar 3.29]
- 2aia-sb8-sim\lig\etafen: 52 atoms, 9 rot: [log-90: 4.29 crash -3.41 polar 0.92]
- 2aia-sb8-sim\lig\etamivan: 33 atoms, 6 rot: [log-100: 3.26 crash -1.61 polar 1.16]
- 2aia-sb8-sim\lig\etofam: 48 atoms, 11 rot: [log-110: 2.43 crash -1.86 polar 1.04]
- 2aia-sb8-sim\lig\formot: 50 atoms, 11 rot: [log-120: 3.06 crash -2.35 polar 1.23]
- 2aia-sb8-sim\lig\ketopr: 33 atoms, 5 rot: [log-130: 5.65 crash -0.71 polar 3.30]
- 2aia-sb8-sim\lig\labeta: 49 atoms, 10 rot: [log-140: 4.86 crash -6.09 polar 5.84]
- 2aia-sb8-sim\lig\melevo: 29 atoms, 6 rot: [log-150: 4.91 crash -1.68 polar 4.58]
- 2aia-sb8-sim\lig\mersaly: 37 atoms, 8 rot: [log-160: 4.24 crash -1.29 polar 3.03]
- 2aia-sb8-sim\lig\midodr: 37 atoms, 8 rot: [log-170: 6.06 crash -4.04 polar 5.87]
- 2aia-sb8-sim\lig\morclo: 53 atoms, 8 rot: [log-180: 3.99 crash -1.02 polar 1.62]
- 2aia-sb8-sim\lig\oxybut: 51 atoms, 11 rot: [log-190: 4.98 crash -4.60 polar 3.30]
- 2aia-sb8-sim\lig\oxyfed: 47 atoms, 9 rot: [log-200: 4.22 crash -3.18 polar 1.50]

- 2aia-sb8-sim\lig\progabide: 39 atoms, 8 rot: [log-210: 6.19 crash -0.91 polar 5.01]
- 2aia-sb8-sim\lig\propaf: 53 atoms, 12 rot: [log-220: 5.17 crash -3.49 polar 2.38]
- 2aia-sb8-sim\lig\propan: 51 atoms, 12 rot: [log-230: 3.36 crash -2.20 polar 1.11]
- 2aia-sb8-sim\lig\proxym: 48 atoms, 10 rot: [log-240: 4.20 crash -2.21 polar 2.49]
- 2aia-sb8-sim\lig\roxati: 49 atoms, 10 rot: [log-250: 5.62 crash -1.56 polar 4.88]
- 2aia-sb8-sim\lig\salmety: 68 atoms, 19 rot: [log-260: 4.37 crash -1.89 polar 4.51]
- 2aia-sb8-sim\lig\sb8: 36 atoms, 8 rot: [log-270: 4.25 crash -1.22 polar 1.92]
- 2aia-sb8-sim\lig\tirop: 76 atoms, 17 rot: [log-280: 4.39 crash -5.33 polar 3.11]
- 2aia-sb8-sim\lig\trepib: 44 atoms, 11 rot: [log-290: 6.02 crash -1.47 polar 4.62]
- 2aia-sb8-sim\lig\xenysa: 47 atoms, 9 rot: [log-300: 4.70 crash -3.18 polar 2.11]

7. La 2aie

- 2aie-sb9-sim\lig\alverine: 48 atoms, 9 rot: [log-0: 3.03 crash -3.55 polar 0.00]
- 2aie-sb9-sim\lig\argini1: 26 atoms, 8 rot: [log-10: 6.19 crash -1.36 polar 6.67]
- 2aie-sb9-sim\lig\argini2: 26 atoms, 8 rot: [log-20: 5.95 crash -1.46 polar 6.46]
- 2aie-sb9-sim\lig\bufexamac: 33 atoms, 8 rot: [log-30: 6.85 crash -1.02 polar 4.91]
- 2aie-sb9-sim\lig\bupiva: 49 atoms, 6 rot: [log-40: 3.77 crash -1.96 polar 0.71]
- 2aie-sb9-sim\lig\capsai: 49 atoms, 11 rot: [log-50: 4.76 crash -1.40 polar 1.94]
- 2aie-sb9-sim\lig\chlora: 38 atoms, 10 rot: [log-60: 4.95 crash -1.69 polar 3.37]
- 2aie-sb9-sim\lig\clofez: 40 atoms, 9 rot: [log-70: 4.13 crash -1.47 polar 1.46]
- 2aie-sb9-sim\lig\defero: 87 atoms, 31 rot: [log-80: 2.85 crash -2.22 polar 3.07]
- 2aie-sb9-sim\lig\diethy: 31 atoms, 4 rot: [log-90: 3.23 crash -1.25 polar 1.14]
- 2aie-sb9-sim\lig\domiphen: 64 atoms, 15 rot: [log-100: 5.54 crash -3.11 polar 0.00]
- 2aie-sb9-sim\lig\etidoc: 48 atoms, 8 rot: [log-110: 2.17 crash -3.72 polar 0.22]
- 2aie-sb9-sim\lig\levobu: 49 atoms, 6 rot: [log-120: 4.66 crash -1.57 polar 0.00]
- 2aie-sb9-sim\lig\lidoca: 39 atoms, 6 rot: [log-130: 3.10 crash -1.35 polar 1.02]
- 2aie-sb9-sim\lig\lysine: 24 atoms, 6 rot: [log-140: 5.99 crash -0.91 polar 5.44]
- 2aie-sb9-sim\lig\melpha: 37 atoms, 9 rot: [log-150: 3.81 crash -1.17 polar 2.44]
- 2aie-sb9-sim\lig\metabu: 37 atoms, 7 rot: [log-160: 4.82 crash -1.66 polar 3.17]
- 2aie-sb9-sim\lig\ornith: 21 atoms, 5 rot: [log-170: 5.18 crash -1.15 polar 5.20]
- 2aie-sb9-sim\lig\phenprobamate: 26 atoms, 5 rot: [log-180: 6.67 crash -1.60 polar 5.15]
- 2aie-sb9-sim\lig\pivaga: 30 atoms, 7 rot: [log-190: 5.67 crash -1.59 polar 3.80]
- 2aie-sb9-sim\lig\priloc: 36 atoms, 6 rot: [log-200: 4.13 crash -1.43 polar 1.05]

- 2aie-sb9-sim\lig\procai: 38 atoms, 7 rot: [log-210: 2.64 crash -1.62 polar 1.26]
- 2aie-sb9-sim\lig\propaf: 52 atoms, 12 rot: [log-220: 5.83 crash -2.46 polar 0.99]
- 2aie-sb9-sim\lig\quinis: 44 atoms, 7 rot: [log-230: 5.69 crash -1.34 polar 0.99]
- 2aie-sb9-sim\lig\ropiva: 46 atoms, 5 rot: [log-240: 3.62 crash -1.60 polar 0.98]
- 2aie-sb9-sim\lig\roxati: 48 atoms, 10 rot: [log-250: 5.19 crash -1.79 polar 1.22]
- 2aie-sb9-sim\lig\tetrac: 43 atoms, 9 rot: [log-260: 4.80 crash -2.30 polar 0.53]
- 2aie-sb9-sim\lig\tripel: 40 atom

ANNEXE 4

1- Résultats des interactions llqy – dérivés du noyau indole

llqy\lig\6a: 24 atoms, 4 rot: [log-10: 6.52 crash -0.16 polar 4.35]
llqy\lig\6b: 24 atoms, 4 rot: [log-20: **6.06** crash -0.40 polar 4.72]
llqy\lig\6d: 40 atoms, 8 rot: [log-30: 6.00 crash -0.73 polar 4.47]
llqy\lig\6e: 24 atoms, 4 rot: [log-40: 5.43 crash -0.16 polar 4.25]
llqy\lig\6f: 24 atoms, 4 rot: [log-50: 6.79 crash -0.47 polar 4.67]
llqy\lig\6g: 24 atoms, 4 rot: [log-60: **6.68** crash -0.48 polar 4.62]
llqy\lig\6h: 28 atoms, 5 rot: [log-70: 5.61 crash -0.40 polar 4.21]
llqy\lig\6i: 24 atoms, 4 rot: [log-80: 6.11 crash -0.43 polar 4.78]
llqy\lig\6j: 27 atoms, 4 rot: [log-90: 5.61 crash -1.19 polar 3.25]
llqy\lig\11: 25 atoms, 3 rot: [log-100: 4.67 crash -0.92 polar 2.32]
llqy\lig\15: 38 atoms, 5 rot: [log-110: 2.44 crash -1.87 polar 2.40]
llqy\lig\16: 40 atoms, 6 rot: [log-120: 3.44 crash -3.54 polar 2.85]

2- Résultats des interactions llry – dérivés du noyau indole

llry\lig\6a: 24 atoms, 4 rot: [log-10: 6.14 crash -0.96 polar 4.74]
llry\lig\6b: 24 atoms, 4 rot: [log-20: **6.21** crash -0.84 polar 4.45]
llry\lig\6d: 40 atoms, 8 rot: [log-30: 4.05 crash -6.16 polar 6.22]
llry\lig\6e: 24 atoms, 4 rot: [log-40: 6.23 crash -1.09 polar 5.60]
llry\lig\6f: 24 atoms, 4 rot: [log-50: 6.67 crash -0.99 polar 5.69]
llry\lig\6g: 24 atoms, 4 rot: [log-60: **6.04** crash -0.86 polar 4.36]
llry\lig\6h: 28 atoms, 5 rot: [log-70: 7.00 crash -0.70 polar 4.78]
llry\lig\6i: 24 atoms, 4 rot: [log-80: 6.35 crash -0.80 polar 5.09]
llry\lig\6j: 27 atoms, 4 rot: [log-90: 4.50 crash -0.81 polar 2.24]
llry\lig\11: 25 atoms, 3 rot: [log-100:4.46 crash -1.11 polar 2.23]
llry\lig\15: 38 atoms, 5 rot: [log-110:1.87 crash -1.35 polar 0.01]
llry\lig\16: 40 atoms, 6 rot: [log-120:4.64 crash -2.05 polar 2.99]

Calculations and modelling of peptide deformylase-antibiotic substances interactions with molecular docking methods.

- Abstract

The computer tool is currently requisite in research in biology to treat the stream of data produced and to optimize its progress. The molecular stowage or " docking " is, indeed, one of the methods commonly used in pharmacochimistry to discover and to finalize of new medicines by screening of thousands of compounds for a protein target. The two programs of molecular stowage, Surfex and FlexX, have been developed to help towards the clarification of molecules with therapeutic activity. They proved to be effective enough to reproduce the experimental tests because 88,4 % of the values of RMSD are lower than 2 Å for the first one and 80,6 % for the second. They were used to study the inhibition of the 1bsj, a peptide deformylase belonging to *Escherichia coli*, by diverse molecules of ligands to discover the best inhibitors of the enzyme; this last one being found at most of the pathogenic microorganisms. The results are comparable, generally, for both programs. The first study highlighted the actinonin as the better inhibitor of the enzyme. Mono and bi substitutions realized on the actinonin showed that it is possible to increase, in a significant way, the affinity of the actinonin and its energy of interaction with the enzyme by a well-judged choice of fragments to replace. Indeed, the replacement of the ethyl in position 9, positioned at P1' region, by an amide and the pentyl, located at P3' region, by a phenyl in the actinonin increase the affinity of more than 2 units (6.97 - 9.33) and the energy of interaction of 10 units (-31.880 to -41.141 Kj / mole). The second study allowed to identify the isoxazole-3-hydroxamic acid and its by-products as of new no peptidic inhibitors of the 1bsj. Finally, the indole and its by-products, a new class of inhibitors acting specifically on the bacterial PDF, presented satisfactory values of affinities with the 1Lry and the 1Lqy.

Keywords : Modelling , peptide deformylase , antibiotic substances , interactions , docking , FlexX , Surfex .

حسابات و إنشاء نماذج تفاعلات انزيم "peptide deformylase" مضادة للبكتيرية بواسطة تقنيات "Docking" moléculaire .

الملخص

آلة الحاسوب تعتبر حاليا أداة ضرورية في ميدان البحث البيولوجي لمعالجة المجموعة الضخمة من المعطيات المتحصّل عليها و تحسينها. طريقة "(docking)" تعتبر من الطرق المستعملة بكثرة في ميدان الكيمياء الصيدلانية لاكتشاف و عرض أدوية جديدة عن طريق غربلة الآلاف من المركبات اّجاه بروتين مستهدف معيّن. برنامجي الرّص الجزيئي (xelfruS) و(Xxelf)، قد أنجزا لضبط جزيئات ذات نشاط صيدلاني. وقد تبيّن أن لهما فعالية عالية لإعادة إنجاز النتائج التطبيقية ب 88,4% بالنسبة للأول، و 80,6% بالنسبة للثاني من قيم (DSMR) الأقل من 2Å. قد استعملا لدراسة تثبيط 1Bsج أي (editepp esalymroféd) الموجودة عند (chiaheriEsc lioc) بعدة جزيئات متفاعلة لكشف أحسن المثبطات لهذا الإنزيم، هذه الأخيرة توجد عند أغلب الأجسام الدقيقة الضارة.

عموما النتائج تشبه بعضها البعض بالنسبة للبرنامجين. الدراسة الأولية بيّنت الأكتينونا كأحسن أدت إلى ارتفاع معتبر actinonin مثبط للإنزيم. الاستبدالات الأحادية و الثنائية المنجزة على للجاذبية و طاقة إرتباط الأكتينونا مع الإنزيم. إن استبدال الجذرايتيل في المكان 9، الموجود في المنطقة P1، بمجموعة الأמיד و نواة البنثيل الموجود في المنطقة P3، بنواة الفينيل على مستوى الأكتينونا ترتفع الجاذبية بأكثر من وحدتين (من 6,97 إلى 9,33) و طاقة التأثير ب 10 وحدات (من 31,880- إلى 41,141 كج/مول) الدراسة الثانية سمحت بتشخيص حمض "الإيزوكسازول إيدروكساميك" و مشتقاته كمثبطات ببتيدية ل 1Bsج. أخيراً المجموعة الجديدة من المثبطات لإنزيم الPDF البكتيرية، المتمثلة في نواة الأندول و مشتقاته قدّمت قيم مقبولة للجاذبية مع 1Lry و 1Lqy.

Calculs et Modélisations des interactions peptide déformylase-substances antibactériennes à l'aide de techniques de «docking» (arrimage) ou moléculaire.

- Résumé

L'outil informatique est actuellement indispensable dans la recherche en biologie pour traiter le flot de données produites et optimiser ses avancées. L'arrimage ou "docking" moléculaire est, en effet, une des méthodes communément utilisée en pharmacochimie pour découvrir et mettre au point de nouveaux médicaments par criblage de milliers de composés pour une protéine cible donnée. Les deux programmes d'arrimage moléculaire, Surfex et FlexX, ont été développés pour aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique. Ils se sont avérés assez performants pour reproduire les tests expérimentaux puisque 88,4 % des valeurs de RMSD sont inférieures à 2Å pour le premier et 80,6 % pour le second. Ils ont été utilisés pour étudier l'inhibition de la 1bsj, une peptide déformylase appartenant à *Escherichia coli*, par diverses molécules de ligands afin de découvrir les meilleurs inhibiteurs de l'enzyme; cette dernière étant retrouvée chez la plupart des microorganismes pathogènes. Les résultats sont, en général, comparables pour les deux programmes. La première étude a fait ressortir l'actinonin comme meilleur inhibiteur de l'enzyme. Les mono et les bi substitutions réalisées sur l'actinonin ont montré qu'il est possible d'augmenter, de manière significative, l'affinité de l'actinonin et son énergie d'interaction avec l'enzyme par un choix judicieux des fragments à substituer. En effet, le remplacement du radical éthyle en position 9, situé au niveau de la région P1', par un groupement amide et le noyau pentyle, situé au niveau de la région P3', par un noyau phényle au niveau de l'actinonin augmente l'affinité de plus de 2 unités (6.97 à 9.33) et l'énergie d'interaction de 10 unités (-31.880 à -41.141 Kj/mole). La seconde étude a permis d'identifier l'acide isoxazole-3-hydroxamique et ses dérivés comme de nouveaux inhibiteurs non peptidiques de la 1bsj. Enfin, le noyau indole et ses dérivés, une nouvelle classe d'inhibiteurs agissant spécifiquement sur les PDF bactériennes, ont présenté des valeurs d'affinités satisfaisantes avec la 1Lry et la 1Lqy.

Mots clés : Modélisations , peptide déformylase , substances antibactériennes, interactions , docking , FlexX , Surfex .