

N°Ref :.....



Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Criblage *in silico* pour l'identification de nouveaux
inhibiteurs de la rénine : cible thérapeutique validée pour le
traitement de l'hypertension artérielle.**

Présenté par :

- REZAIKI Ahlam
- BILEK Nourelhouda
- ATEMANI Siham

Devant le jury :

- | | | |
|--|-------|-------------------------------|
| - Présidente : MERZOUG Amina | M.C.A | Centre.Univ.A.Boussouf - Mila |
| - Rapporteur : BOUCHERIT Hanane | M.C.B | Centre.Univ.A.Boussouf - Mila |
| - Examinatrice : LALAOUI Meryem | M.C.B | Centre.Univ.A.Boussouf - Mila |

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

« Louange à l'unique Dieu, Lumière des cieux et de la terre, qui aide et qui guide »

Tout d'abord, nous tenons à remercier « ALLAH » le tout puissant, notre créateur, de nous avoir donné la force, la volonté, la patience et le courage afin d'accomplir ce modeste travail ;

*Nos remerciements les plus cordiaux s'adressent à notre encadreur **Dr. BOUCHERIT Hanane**, Maître de conférence B au centre universitaire AbdelHafid Boussouf - Mila, pour tous les efforts qu'elle a consentis tout au long de l'élaboration de ce travail, ses encouragements, ses précieux conseils, ses critiques constructives, et la confiance qu'elle nous a toujours témoignée ;*

Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance :

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à :

***Dr. MERZOUG Amina**, Maître de conférence A au centre universitaire AbdelHafid Boussouf - Mila, et à **Dr. LALAOUI Meryem**, Maître de conférence B au centre universitaire AbdelHafid Boussouf - Mila, pour avoir pris le temps d'examiner et d'évaluer ce mémoire.*

Nous les remercions pour l'intérêt et les précieux conseils et remarques qu'ils ont porté à ce travail ;

Sans oublier de remercier nos très chers parents

Nous tenons enfin, à remercier tous ceux qui ont participé de

Près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

Ahlam, Siham et Nourelhouda

Dédicace

Merci mon DIEU de m'avoir permis d'arriver jusqu'ici et de m'avoir donné l'aptitude d'achever ce modeste travail que je dédie particulièrement à mes très chers et adorables parents qui m'ont inculqué toutes les bases de mon savoir, que DIEU me les garde.

Je dédie aussi ce travail A mes très chers frères Soufian et Djamal eddine et ma chère sœur Djihan, pour leurs soutien et encouragement.

A mes princesses : Razane, Maïssam et nour hanne.

A mon encadreur Boucherit Hanane et mon Binômes Ahlam et Nourelhouda.

A tous mes amis.

A tous mes oncles et tantes, cousins et cousines.

A tous personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de cette recherche.

SIHAM

Dédicace

Du profond de mon cœur, Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui :

*A ma chère mère : **Fatima El Zohra**, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices.*

*A mon cher père : **Omar**, c'est un l'homme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non amés exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, que ce mémoire soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir. Puisse Dieu, le Très Haut mon parents, vous accorder santé, félicité et longue vie.*

*A mes chers frères : **Yassine, Khaled et Nadir** qui sont la source de ma force et de mon soutien dans la vie et ma chère sœur **Ismahane**.*

Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

*A mon encadreuse **Boucherit Hanane** et Mes collègues **Siham** et **Nourehouda** ayant contribué de la Réalisation de ce travail.*

A tous qui m'ont aidé de près ou de loin dans mes études, même avec le mot le plus simple, Ils vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie ; je penserai toujours à eux à travers cette œuvre.



Ahlam

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A ceux qui m'ont donné la vie, l'espoir et l'amour, à ceux

Qui m'ont encouragé le long de mes études :

*Ma très chère mère **Ourida** et mon très cher père*

Abdelkrim,

Que le dieu me les protège et me les garde ;

*A mon frère : **Abdelfettah.***

*A mes sœurs : **Amina et Soumia.***

*Aux fleurs de mon cœur : **Mohammed EL Amin, Choayb,***

Nibras et Haroun,

A toute ma famille,

A tous mes amis.

*A mon encadreur **Boucherit Hanane** et mon binômes*

***Ahlam et Siham,** qui ont donné tous les efforts pour*

terminer ce travail, je te souhaite une vie remplie de

l'amour et de succès.

A tous mes enseignants et mes collègues de la promotion

2022_2023 Biochimie Appliquée

A tous les personnes qui m'ont aidé de proche

Ou de loin pour réaliser ce travail.

Nourelhouda

Thème: Criblage *in silico* pour l'identification de nouveaux inhibiteurs de la Rénine: cible thérapeutique validée pour le traitement de l'hypertension artérielle.

Résumé

L'hypertension artérielle est une condition médicale plus fréquente des pathologies cardiovasculaires caractérisées par une pression artérielle élevée dans les vaisseaux sanguins et l'augmentation le taux de la rénine au niveau rénale. Dans ce contexte, que nous orientons notre travail vers la recherche *in silico* des nouveaux inhibiteurs de la rénine ; cible thérapeutique validée pour le traitement de la maladie de l'hypertension artérielle.

Notre travail avait pour objectif primordial l'acquisition des compétences en modélisation moléculaire, plus exactement le docking moléculaire par le logiciel Surflex-dock, afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de notre cible thérapeutique.

Le programme de criblage virtuel Surflex-dock a été développé pour aider à la mise au point des molécules à activité thérapeutique. Avec un taux de valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2 Å (86%), les performances du programme Surflex-dock sont avérées. Ce test a été suivi d'une analyse visuelle de la superposition des ligands co-cristallisés et ceux obtenus par le docking avec Surflex-dock. Ces tests nous permettent de considérer Surflex-dock comme un programme de docking hautement performant.

Suite aux tests de fiabilité nous nous sommes fixés comme autre objectif de découvrir de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la rénine. Pour ce faire, nous avons réalisé un criblage de 292 molécules issues de la chimiothèque PubChem envers le site actif de la rénine nous a permis d'évaluer leurs scores et de faire ressortir les composés CID86768977 et CID124671936, comme nouveaux inhibiteurs potentiels et puissants de la rénine, et pour lesquels nous avons fait une analyse détaillée des diverses interactions.

Enfin, la prédiction *in silico* de la similaire médicamenteuse nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADME-Tox de ces nouveaux composés proposés.

Mot clés : Hypertension artérielle, la rénine, *in silico*, Surflex-dock, RMSD, criblage virtuel, ADME-Tox.

Title: In *silico* screening for the identification of new renin inhibitors: validated therapeutic target for the treatment of arterial hypertension.

Abstract

High blood pressure is a most common medical condition of cardiovascular pathologies characterized by high blood pressure in blood vessels and increased renin levels in the kidneys. In this context, that we direct our work towards the in silico research of new renin inhibitors; validated therapeutic target for the treatment of arterial hypertension disease.

Our work had as its primary objective the acquisition of skills in molecular modeling, more precisely molecular docking by Surflex-dock software, in order to propose new inhibitors of our therapeutic target.

The Surflex-dock virtual screening program was develop to assist in the development of molecules with therapeutic activity. With a rate of RMSD values less than or equal to 2 Å (86%), the performance of Surflex-dock program is proven. This test was follow by a visual analysis of the superposition of co-crystallized ligands and those obtained by docking with Surflex-dock. These tests allow us to consider Surflex-dock as a high-performance docking program.

Following the reliability tests, we set ourselves the other goal of discovering new, more powerful renin inhibitors. To do this, we performed a screening of 292 molecules from the PubChem chemical library towards the active site of renin allowed us to evaluate their scores and to highlight the compounds CID86768977 and CID124671936, as new potential and potent renin inhibitors, and for which we made a detailed analysis of the various interactions.

Finally, the in silico prediction of the similar drug provides positive information on the ADME-Tox properties of these p new roposed compounds.

Key words: High blood pressure, renin, in silico, Surflex-dock, RMSD, virtual screening, ADME-Tox.

الموضوع : في فحص السيليكو لتحديد مثبطات الرينين الجديدة: هدف علاجي معتمد لعلاج ارتفاع ضغط الدم الشرياني.

الملخص

ارتفاع ضغط الدم حالة طبية أكثر شيوعا لأمراض القلب والأوعية الدموية تتميز بارتفاع الضغط الشرياني في الأوعية الدموية وزيادة مستويات الرينين على مستوى الكلى. في هذا السياق، نوجه عملنا نحو البحث ان سيليكو لمثبطات الرينين الجديدة؛ هدف علاجي معتمد لعلاج مرض ارتفاع ضغط الدم الشرياني.

كان هدفنا الأساسي هو اكتساب المهارات في النمذجة الجزيئية، وبشكل أكثر دقة الالتحام الجزيئي بواسطة برنامج Surflex-dock، من أجل اقتراح مثبطات جديدة لهدفنا العلاجي. تم تطوير برنامج الفحص الافتراضي Surflex-dock للمساعدة في تطوير الجزيئات ذات النشاط العلاجي. مع معدل قيم RMSD أقل من أوبساوي \AA^2 (86%)، تم إثبات أداء برنامج Surflex-dock. تبع هذا الاختبار تحليل مرئي لتراكب الروابط المتبلورة المشتركة وتلك التي تم الحصول عليها عن طريق الالتحام ب Surflex-dock تسمح لنا هذه الاختبارات بالنظر إلى Surflex-dock كبرنامج إرساء عالي الأداء.

بعد هذه اختبارات وضعنا لأنفسنا الهدف الآخر المتمثل في اكتشاف مثبطات رينين جديدة أكثر قوة. للقيام بذلك، أجرينا فحصا ل 292 جزيئا من مكتبة PubChem الكيميائية باتجاه الموقع النشط للرينين سمح لنا بتقييم درجاتهم وتسليط الضوء على المركبات CID86768977 و CID124671936 ، كمثبطات رينين جديدة محتملة وقوية ، والتي أجرينا من أجلها تحليلا مفصلا للتفاعلات المختلفة.

أخيرا، يوفر التنبؤ ان سيليكو للدواء المماثل معلومات إيجابية عن خصائص ADME-Tox لهذه المركبات الجديدة المقترحة.

الكلمات المفتاحية: ارتفاع ضغط الدم ، الرينين ، ان سيليكو ، Surflex-dock ، RMSD ، الفحص الافتراضي ،

.ADME-Tox.

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

المخلص

Table des matières

Liste des figures

Liste de tableaux

Liste des graphes

Liste des abréviations

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I. HYPERTENSION ARTERIELLE

I. Epidémiologie..... 3

II. Définition de l’HTA selon l’OMS 3

III. Classification selon l’OMS 4

IV. Etiologie de l'hypertension artérielle 4

IV.1. HTA essentielle..... 4

IV.2. HTA secondaire 5

V. Physiopathologie de l’HTA 5

VI. Les Causes 6

VII. Symptômes 7

VIII. Les Facteurs de risques de l’HTA..... 7

VIII.1. Les facteurs non modifiables..... 8

VIII.2. Les facteurs modifiables..... 8

IX. Traitement..... 8

IX.1. Traitement non médicament..... 9

IX.2. Traitement médicament..... 9

CHAPITRE II. RÉNINE

I. Définition de l'enzyme la rénine	11
II. Niveau moléculaire de la rénine	12
III. Site actif de la rénine	13
IV. Le système rénine-angiotensine.....	14
V. Mode d'action de la rénine	14
VI. Les conditions liées à la production de la rénine	15
VII. Les facteurs déclenchant la sécrétion de rénine	15
VIII. Les inhibiteurs de la rénine	17
IX. Avantages des inhibiteurs de la rénine chez l'homme.....	20

CHAPITRE III. CRIBLAGE VIRTUEL

I. Généralité	22
II. Définition	22
III. Les outils criblage virtuel.....	23
III.1. Structure de la cible protéique.....	23
III.2. Chimiothèque	23
III.3. Logiciels de criblage virtuel.....	24
IV. Différentes stratégies du criblage virtuel.....	25
IV.1. Le criblage virtuel « ligand-based».....	26
IV.2. Le criblage virtuel « structure-based ».....	26
V. Docking moléculaire	27
V.1. Définition.....	27
V.2. Principe.....	28
V.3. Types de docking moléculaire.....	29
V.4. Étapes impliquées dans le docking.....	30
V.5. Applications de docking moléculaire	31
VI. Programme de docking Surflex-Dock	32

CHAPITRE IV. MATERIEL ET METHODES

I. Tests de fiabilité de programme Surflex-dock	34
---	----

I.1. Le RMSD (<i>Root Mean Square Deviation</i>).....	34
I.2. Analyses visuelles	35
II. Criblage virtuel.....	35
II.1. Préparation de la cible enzymatique	35
II.2. Préparation des ligands	36
II.3. Réalisation du criblage virtuel	36
III. Banques de donnés.....	37
III.1. PDB (<i>Protein Data Bank</i>)	37
III.2. PubChem	37
IV. Programmes utilisés.....	38
IV.1. Surflex-dock.....	38
IV.1.1. Définition	38
IV.1.2. Etapes de docking par Surflex-dock.....	39
IV.2. Open Babel.....	40
IV.3. Discovery studio visualizer	41
IV.4. Le serveur SwissADME.....	42
IV.5. Le serveur PreADMET	43
V. Filtrage ADME-Tox.....	44
V.1. Propriétés physico-chimiques	44
V.1.1. Règle de <i>Lipinski</i>	44
V.1.2. Règle de <i>Veber</i>	45
V.2. Propriétés pharmacocinétiques.....	45
V.3. La Toxicité	47

CHAPITRE V. RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Testes de fiabilité du programme Surflex-dock	50
I.1. Le test RMSD	50
I.2. Analyse Visuelle	55
I.3. Conclusion	57
II. Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de la rénine par divers inhibiteurs provenant de la PDB	58

II.1. Choix du complexe 1HRN	58
II.2. Site actif de la rénine	58
II.3. Interaction 1HRN-inhibiteur prévenant de la PDB	59
II.4. Analyse visuelle des interactions « 1HRN-inhibiteur PZ1».....	70
II.4.1. Interaction complexe 1HRN- PZ1	70
II.4.2. Les acides aminés du site actif de l'enzyme Rénine (Code : 1HRN).....	71
II.4.3. Analyse visuelle des interactions 1HRN-PZ1.....	72
III. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la rénine	74
III.1. Criblage virtuel basé sur la structure de l'enzyme rénine	74
III.2. Molécules sélectionnées comme nouveaux inhibiteurs	80
IV. Etude des interactions de la rénine avec les deux composés proposés.....	81
IV.1. Interaction de complexe 1HRN-CID86768977	82
IV.2. Interaction de complexe 1HRN-CID124671936	85
IV.3. Prédiction de la similarité médicamenteuse.....	87
IV.4. Propriétés physico-chimiques	87
IV.5. Propriétés pharmacocinétiques	88
IV.6. La toxicité	89
CONCLUSION	90
RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUES	92

Liste des figures

Figure I.1. Traitement de l'HTA systolo-diastolique en première intention	10
Figure II.1. La formation de la rénine	12
Figure II.2. Structure de la rénine humaine en 3D	13
Figure II.3. Le système rénine-angiotensine-aldostérone	15
Figure II.4. Facteurs influençant la sécrétion de rénine par les cellules granulaires de l'appareil juxta glomérulaire	16
Figure II.5. Aliskiren est un inhibiteur hautement sélectif et étroitement liant de la rénine humaine	18
Figure III.1. Position du criblage virtuel dans la conception actuelle de médicament	23
Figure III.2. Représentation schématique des stratégies du criblage virtuel	26
Figure III.3. Docking moléculaire.....	28
Figure III.4. Principe générale de la docking moléculaire	29
Figure III.5. Types de docking moléculaire	30
Figure III.6. Les étapes du docking moléculaire.....	31
Figure III.7. La méthode de construction incrémentale	32
Figure IV.1. Structure des ligands existants dans le complexe 1HRN de l'enzyme rénine. a : 03D [(2R,4S,5S)-N-[(2S,3R,4S)-1-cyclohexyl-3,4-dihydroxy-6-methylheptan-2-yl]-2-(cyclopropylmethyl)-4,5-dihydroxy-6-phenylhexanamide]. b : NAG (2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose).	36
Figure IV.2. Site de la base des données PDB.	37
Figure IV.3. Page d'accueil de la chimiothèque PubChem.	38
Figure IV.4. Résultat de docking avec Surfex-dock.	40
Figure IV.5. Capture d'écran du logiciel Open Babel.....	41
Figure IV.6. Interface graphique de logiciel Discovery studio visualizer.....	42
Figure IV.7. Page d'accueil du serveur SwissADME.....	43
Figure IV.8. Page d'accueil du serveur PreADMET.	44
Figure IV.9. La barrière hémato-encéphalique.....	46
Figure IV.10. Le rôle des cytochromes P450	47
Figure IV.11. Schéma explicatif de test d'Ames.....	48

Figure V.1. Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surfex-dock (coloré en bleu) du complexe 2G1S.	56
Figure V.2. Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surfex-dock (coloré en bleu) du complexe 5SY3.	56
Figure V.3. Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surfex-dock (coloré en bleu) du complexe 3VYE.	57
Figure V.4. Analyse visuelle par Discovery studio visualizer du mode d'interaction de l'inhibiteur PZ1 avec le site actif de la 1HRN.....	71
Figure V.5. Structure 3D de code 1HRN avec le site de liaison de l'enzyme rénine.....	72
Figure V.6. Représentation des liaisons hydrogène formées par l'inhibiteur PZ1 dans le site actif de la 1HRN.	73
Figure V.7. Représentation des interactions hydrophobiques formées par le composé PZ1 et le site actif de la 1HRN.....	74
Figure V.8. Représentation des interactions hydrogène formées par le similaire CID86768977 dans le site actif de 1HRN.	83
Figure V.9. Représentation des interactions hydrophobiques formées par l'inhibiteur CID86768977 avec la rénine.	84
Figure V.10. Représentation des interactions hydrogène formées par le similaire CID124671936 dans le site actif de 1HRN.	86
Figure V.11. Représentation des interactions hydrophobiques formées par l'inhibiteur CID124671936 avec la 1HRN.....	86

Liste de tableaux

Tableau I.1. Classification de l'hypertension artérielle selon l'OMS	4
Tableau II.1. Les inhibiteurs de la rénine	19
Tableau III.1. Quelque exemple des logiciels virtuel	25
Tableau V.1. Liste de 150 complexes utilisés pour tester la fiabilité de logiciel Surflex-dock avec le test RMSD.	50
Tableau V.2. Valeurs de RMSD des 3 complexes étudiés.	55
Tableau V.3. Principales caractéristiques du code 1HRN	58
Tableau V.4. Les scores de docking (affinité) des complexes 1HRN-inhibiteur étudiés.....	59
Tableau V.5. Les sept ponts formés par le composé PZ1 et les résidus du site actif de la rénine.	73
Tableau V.6. Résultats de docking avec le logiciel Surflex-dock dans le site actif de la rénine.	75
Tableau V.7. Données chimiques et structurales des inhibiteurs sélectionnés comme candidats.	81
Tableau V.8. Les différentes interactions formées par le composé CID86768977 avec le site actif de la rénine.	82
Tableau V.9. Les cinq ponts formés par le composé CID124671936 et les résidus du site actif de la rénine.	85
Tableau V.10. Critères de la règle de <i>Lipinski</i> à partir de serveur SwissADME	87
Tableau V.11. Propriétés pharmacocinétiques des inhibiteurs à partir de serveurs SwissADME.	88
Tableau V.12. Le profil de toxicité relative des composés étudiés obtenus à partir de serveur PreADME.	89

Liste des graphes

Graphe V.1. Résultat global du RMSD en % à deux intervalles. 54

Graphe V.2. Résultats en % obtenus par surflex-dock à divers intervalles de RMSD (Å)..... 54

Liste des abréviations

Å : Angström.

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

AngI: angiotensineI.

Ang II: AngiotensineII.

ARA II : Antagonistes des Récepteurs de l'angiotensine II.

AVC : Accident Vasculaire Cérébral.

BHE : La Barrière Hémato-Encéphalique.

CV : Criblage virtuel

CYP450 : Les Cytochromes P450.

HERG : Humain lié à l'éther-a-go-go.

HTA : Hypertension Artérielle.

IC₅₀ : Concentration de l'inhibiteur causant 50% d'inhibition

IEC : Enzyme de Conversion de l'angiotensine.

IECA : Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.

Log P : Logarithme de Coefficient de Partage.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PA : Pression Artérielle.

PAD : Pression Artérielle Diastolique

PAS : Pression Artérielle Systolique.

PDB : Protein Data Bank.

PSA : La Surface Polaire.

RMSD : Ecart quadratique moyen (Root Mean Square Deviation).

RCV : Risque Cardio-vasculaire.

SDF : Structure Data File.

SRAA : Système Rénine-angiotensine-aldostérone.

3D : Trois Dimensions.



Introduction

INTRODUCTION

Les maladies chroniques constituent un principal problème de morbidité à l'échelle mondiale, puisqu'elles sont responsables de 63 % des décès. Cependant, le développement des sciences médicales n'a pas été suffisant pour éradiquer les maladies non transmissibles qui existent encore et qui sont de plus en plus répandues telles que le cancer, diabète et l'hypertension artérielle. Cette dernière est un important problème de santé publique dans le monde défi en raison de sa fréquence élevée et concomitante risques de maladies cardiovasculaires et rénales. Il a été identifié comme le est la pression à laquelle le sang est pompé du cœur jusqu'aux capillaires à travers tout le corps. Ce processus de pompage se produit lorsque le cœur se contracte, c'est pourquoi le flux n'est pas uniforme [1].

Le système rénine-angiotensine-aldostérone contrôlé et régulé l'hypertension par une cascade de réactions enzymatiques initiées par une enzyme rénale : la rénine [2].

La rénine est une aspartylprotéase qui catalyse la première étape de l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone, clivant spécifiquement l'angiotensinogène pour produire l'angiotensine I qui se transforme, par la suite en angiotensine II. L'inhibition de la rénine permet de faire baisser la pression artérielle chez des patients hypertendus [2].

Actuellement, la seule indication reconnue essentielle commercialisé pour le traitement de l'hypertension artérielle est l'Aliskirène, qui appartient au groupe de médicaments appelés inhibiteurs directs de la rénine. Ces médicaments abaissent la pression artérielle en bloquant l'action d'une substance chimique (la rénine) qui cause le resserrement des vaisseaux sanguins. Cependant, il n'est pas toujours recommandé comme traitement de première intention et doit être utilisé avec prudence [3].

Notera également, ce travail constituerait un effort pour contribuer à la recherche et l'identification de nouveaux inhibiteurs de la rénine, avec moins d'effets toxiques, en mettant en œuvre l'une des méthodes de modélisation moléculaire : le criblage virtuel.

Cette méthode est l'une des approches *in silico* prometteuse aide à accélérer le processus de la conception et la découverte des nouveaux médicaments et fournit également toutes les conformations possibles sur la base de la structure du récepteur (enzyme) et du ligand, ce qui plus facile à mettre en place, plus rapide pour un cout bien moindre que les méthodes expérimentales traditionnelles [4].

L'objectif de ce travail consiste à tester la fiabilité du programme de criblage virtuel Surflex-dock, afin de juger la capacité et la performance de ce programme. Cette étude aura aussi pour but l'identification des molécules potentiellement actives par criblage d'une chimiothèque PubChem envers notre cible enzymatique.

Enfin, les composés ayant présenté les meilleurs scores de docking ont fait l'objet d'une étude de leurs propriétés physico-chimiques, pharmacocinétiques et de toxicité potentielle régissant leurs paramètres ADME-Tox. Cette recherche permet de découvrir de nouveaux candidats médicament pour le traitement de l'hypertension artérielle.

Notre manuscrit est structuré en deux grandes parties :

- 1. Une première dite** : partie bibliographique qui comprend trois chapitres dont ;
 - Le premier chapitre porté sur la maladie de l'hypertension artérielle.
 - Le deuxième chapitre donne un aperçu sur notre cible « rénine », site actif ainsi que ses inhibiteurs.
 - Le troisième chapitre est consacré aux différentes approches de criblage virtuel, ses logiciels et ses principales stratégies pour détecter *in silico* des inhibiteurs de cibles d'intérêt thérapeutique.
- 2. Une deuxième dite** : partie pratique qui comprend deux chapitres dont ;
 - Le premier chapitre présente le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude.
 - Le deuxième chapitre expose l'essentiel des résultats ainsi que les différentes interprétations obtenues au cours de cette recherche. Suivis d'une conclusion générale et des quelques perspectives qui clôturent ce travail.



Chapitre I :
HYPERTENSION ARTERIELLE

À chaque battement de cœur, notre cœur pompe une certaine quantité de sang transporté par les artères vers d'autres organes. Lorsque ce sang circule dans notre corps, il exerce une pression sur les parois de nos artères, ce que l'on appelle le stress ou la tension artérielle. Si cette pression est constamment élevée, nous l'appelons hypertension artérielle.

I. Epidémiologie

L'hypertension artérielle (HTA) est la plus fréquente des affections cardio-vasculaires, sa prévalence en Algérie est variable en fonction des études réalisées sur la population adulte. Dans l'étude stratégie de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) par étape pour la surveillance des facteurs de risque des maladies chroniques de 2017, la prévalence dans la population adulte algérienne était de 23,6%, et atteint 62% dans la tranche d'âge se situant entre 60 et 69 ans [5]. A l'échelle mondiale, l'HTA est l'étude, menée par un réseau mondial de médecins et de chercheurs, couvrait la période 1990-2019. Elle est basée sur des données de mesure et de traitement de la tension artérielle de plus de 100 millions de personnes âgées de 30 à 79 ans dans 184 pays représentant 99 % de la population mondiale, ce qui en fait l'étude la plus complète de l'évolution mondiale de l'hypertension à ce jour [6].

L'hypertension artérielle demeure encore aujourd'hui un facteur de risque majeur dans le développement de plusieurs complications dont, entre autres, la coronaropathie, les accidents vasculaires cérébraux, la maladie artérielle périphérique et l'insuffisance rénale [7].

II. Définition de l'HTA selon l'OMS

L'hypertension artérielle est une condition dans laquelle les vaisseaux sanguins sont constamment sous haute pression, ce qui peut les endommager. Chaque fois que le cœur bat, il envoie du sang dans les vaisseaux qui est transporté dans toutes les parties du corps. La tension artérielle est créée par la pression du sang contre les parois des vaisseaux sanguins (artères) lorsqu'il est expulsé par le cœur. Plus la pression est élevée, plus le cœur doit pomper fort. La tension artérielle normale chez l'adulte est de 120 mmHg lorsque le cœur se contracte (pression systolique) et de 80 mmHg lorsque le cœur se relâche (pression diastolique). Lorsque la pression artérielle systolique est supérieure ou égale à 140 mmHg et/ou la pression artérielle diastolique est supérieure ou égale à 90 mmHg, la pression artérielle est considérée comme élevée [8].

III. Classification selon l’OMS

Hypertension artérielle systolique isolée doit être classée (1, 2 et 3) selon la pression artérielle systolique dans les fourchettes indiquées, pourvu que la pression artérielle diastolique soit < 90 mmHg. Les grades 1, 2 et 3 correspondent à une hypertension artérielle légère, modérée et sévère respectivement. Ces dénominations ne sont plus utilisées pour éviter toute confusion avec la quantification du risque cardiovasculaire global [9]. Le tableau I.1 ci-dessous représente la classification de l’OMS de l’hypertension artérielle [10] :

Tableau I.1. Classification de l’hypertension artérielle selon l’OMS [10].

Catégorie	Systolique (mm Hg)		Diastolique (mm Hg)
Optimale	< 120	et/ou	< 80
Normale	< 130	et/ou	< 85
Normale élevée	130-139	et/ou	85-89
Grade 1	140-159	et/ou	90-99
Grade 2	160-179	et/ou	100-109
Grade 3	≥ 180	et/ou	≥ 110
Hypertension systolique isolée	≥ 140	et/ou	< 90

IV. Etiologie de l’hypertension artérielle

On distingue deux grands types d’hypertension. Les HTA dites « essentielles » (95% des cas) pour lesquelles on ne retrouve pas d’explication clinique et environ 5 % des patients hypertendus, l’hypertension artérielle est secondaire [11].

IV.1. HTA essentielle

Chez environ 90 à 95% des cas, l’étiologie de l’HTA n’est pas connue. Elle est alors souvent appelée essentielle, primaire ou encore idiopathique. L’HTA essentielle est généralement considérée comme le résultat de l’influence de plusieurs facteurs modifiables, venant de l’environnement, et d’autres non modifiables tels que l’âge, le sexe, l’ethnie et l’hérédité [12].

IV.2. HTA secondaire

Plusieurs formes d'HTA «secondaires» ont été décrites, comme la sténose de l'artère rénale, la maladie de Cushing ou l'hyperthyroïdie, mais elles sont rares (15% des patients hypertendus). Elle survient suite à des conditions médicales préexistantes telles que l'insuffisance cardiaque congestive, l'artériosclérose et les maladies du rein, du foie, des glandes surrénales et de la thyroïde. Elle peut être soit curable comme la majorité des HTA d'origines iatrogènes ou surrénaliennes ou bien incurable comme les HTA liées à des néphropathies irréversibles, par exemple les néphropathies avec insuffisance rénale [13].

V. Physiopathologie de l'HTA

La pression artérielle (PA) est la résultante physique de l'éjection du sang par le cœur dans les vaisseaux sanguins. Elle s'exerce sur les parois vasculaires. Elle est caractérisée par deux valeurs extrêmes, qui s'expriment en millimètres de mercure (mmHg) [14] :

- La pression artérielle systolique (PAS) correspond à la valeur haute mesurée lors de la contraction du cœur (systole) qui permet de propulser le sang par l'aorte vers les artères périphériques.
- La pression artérielle diastolique (PAD) correspond à la valeur basse mesurée lors de la relaxation du cœur (diastole), qui permet aux ventricules cardiaques de recevoir le sang arrivant dans les oreillettes par les veines caves et les veines pulmonaires.

La PA dépend du débit cardiaque et de la résistance vasculaire périphérique. Le débit cardiaque correspond au volume de sang expulsé par le ventricule gauche pendant une minute et représente le produit entre le volume d'éjection systolique et la fréquence cardiaque. La résistance vasculaire périphérique correspond à la force qui s'oppose au flux sanguin dans les vaisseaux et varie en fonction de la viscosité du sang, du rayon et de la longueur du vaisseau sanguin.

La régulation de la pression artérielle repose sur trois mécanismes principaux : nerveux, hormonal et rénal.

Les mécanismes nerveux reposent sur l'activité de barorécepteurs, des réflexes dépresseurs déclenchés par l'augmentation de la pression artérielle, qui stimulent le système parasympathique, et de chimiorécepteurs, des réflexes presseurs déclenchés par la diminution de la pression en oxygène artériel, l'augmentation de la pression en dioxyde de carbone artériel et la diminution du pH artériel qui stimulent le système sympathique. Les mécanismes

hormonaux font intervenir le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) d'une part et les peptides natriurétiques d'autre part. Brièvement, le SRAA est responsable, sous l'action de la rénine et de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, de la production de l'angiotensine II, un puissant vasoconstricteur qui stimule également la production d'aldostérone et d'hormone antidiurétique, deux hormones favorisant la rétention hydro-sodée et l'augmentation de la pression artérielle. Les peptides natriurétiques et en particulier le peptide natriurétique atrial sont quant à eux les principaux facteurs qui contrecarrent les effets du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) par leur action vasodilatatrice. Enfin, le rein est impliqué dans la régulation à long terme de la pression artérielle en contrôlant le volume de liquide extracellulaire via le débit urinaire et les apports en sel et en eau [14].

VI. Les Causes

L'hypertension est une maladie non transmissible sans cause spécifique. Elle peut toucher tout le monde. Cependant, certains facteurs augmentent la probabilité d'incidence, ou les risques si la personne est déjà hypertendue. Certains de ces facteurs sont liés au vieillissement et d'autres au mode de vie et aux comportements. On peut citer les facteurs suivants [15, 16] :

- Les mauvaises habitudes alimentaires, qui sont la première cause d'hypertension : par exemple, consommer trop de sel, d'aliments riches en graisses, d'alcool ou ne pas manger assez de fruits et légumes ;
- Le faible niveau d'activité physique et le manque d'exercice. Certaines personnes ont des modes de vie sédentaires et ne font pas suffisamment d'exercice ou de sport, ce qui accroît le risque d'hypertension ;
- L'obésité et le surpoids : le risque d'hypertension augmente parallèlement à l'indice de masse corporelle ;
- Le tabagisme : les composés chimiques du tabac causent également la sténose artérielle, qui conduit à l'hypertension ;
- La fatigue constante, le stress psychologique, le diabète, un taux élevé de cholestérol et la consommation importante de graisses ou d'alcool sont des facteurs qui augmentent tous le risque d'hypertension ;
- L'âge : les risques augmentent lorsque l'on vieillit. Les femmes présentent un plus grand risque d'hypertension une fois qu'elles sont ménopausées, et les femmes

enceintes peuvent souffrir d'hypertension temporaire, mais elles retrouvent un état de santé normal après l'accouchement. Il existe aussi des facteurs génétiques pour l'hypertension ;

- Une maladie des reins ou des glandes surrénales ;
- Une anomalie de cholestérol sanguin (un taux de mauvais cholestérol plus élevé que le bon).

VII. Symptômes

L'hypertension artérielle est une affection dite silencieuse, c'est-à-dire qu'elle ne provoque pas de symptômes particuliers. Cela dit, on entend souvent que l'hypertension artérielle peut être responsable de quelques signes suivant [17, 18] :

- Maux de tête (plutôt le matin au réveil et vers l'arrière du crâne, s'estompant après le lever) ;
- Vertiges ;
- Bourdonnements d'oreilles ;
- Troubles de la vision (« mouches volantes », « papillons devant les yeux ») ;
- Saignements de nez ;
- Sueurs ;
- Palpitations, essoufflement.

La plupart des personnes souffrant d'hypertension artérielle ne présentent aucun symptôme, à moins que leur pression ne soit très élevée ou qu'elles aient développé d'autres complications médicales de l'hypertension [19].

VIII. Les Facteurs de risques de l'HTA

Certains facteurs de risque cardio-vasculaire associés à l'hypertension artérielle sont modifiables, d'autres ne le sont pas, le risque augmente de manière plus importante quand plusieurs facteurs sont associés. Il existe deux types de facteurs de risque cardio-vasculaire [20, 21].

VIII.1. Les facteurs non modifiables

- **L'âge et le sexe** : La pression artérielle augmente progressivement avec l'âge. Les artères perdent de leur souplesse et entraînent progressivement une hausse de la pression artérielle systolique.
- **L'origine ethnique** : on constate que les personnes afro-antillaises ont un risque plus élevé d'être hypertendues que les populations asiatiques.
- **Les antécédents familiaux** : si l'un de ses parents souffre d'HTA ou d'une maladie cardiovasculaire, on a deux fois plus de risque d'être ou de devenir hypertendu.

VIII.2. Les facteurs modifiables

- Le surpoids et l'obésité sont un facteur qui favorise la survenue d'une HTA. Les personnes en excès de poids sont davantage sujettes à l'hypertension artérielle.
- Le manque d'activité physique ou la sédentarité : aujourd'hui les conditions de vie font que nous nous dépensons de moins en moins, nous effectuons de moins en moins d'activité physique, ce qui contribue à la prise de poids et à une augmentation de la pression artérielle.
- Le tabagisme : la nicotine et tous les produits toxiques contenus dans la cigarette sont mauvais pour l'organisme. La nicotine favorise l'athérosclérose, c'est-à-dire le rétrécissement des artères, provoquant des infarctus du myocarde, des accidents vasculaires cérébraux et des artérites des membres inférieurs.
- La consommation excessive de sel : trop de sel augmente le niveau de la pression artérielle chez de nombreuses personnes. Réduire la consommation de sel est bénéfique, que l'on soit hypertendu ou non.
- La prise de boissons alcooliques : de façon globale, on considère que l'alcool est nocif au-delà de deux verres de vin par jour. Il augmente la pression artérielle, abîme le foie et le cœur.

IX. Traitement

Le traitement de l'HTA essentielle repose toujours et avant tout sur des modifications du mode de vie, peut être non médicament et médicament. Généralement en traitement initial, la modification des habitudes de vie comporte plusieurs avantages dans la gestion de l'HTA [22]. Il existe deux différents traitements pour l'hypertension artérielle :

IX.1. Traitement non médicament

Pendant la période de surveillance à la décision de prescrire un traitement pharmacologique, un ou plusieurs traitements non médicamenteux sont institués en fonction des caractéristiques et des habitudes alimentaires de l'individu concerné : réduction des apports en sel et en alcool, la perte de poids, augmentation de l'exercice physique ou recours à une technique de relaxation. Il faut donc encourager le patient à les poursuivre, même si la décision finale est de prescrire un traitement pharmacologique de l'HTA [23].

IX.2. Traitement médicament

La stratégie thérapeutique est la mise en place d'un traitement antihypertenseur visant à normaliser la tension, il existe 6 classes thérapeutiques :

- **Les diurétiques thiazidiques** : en augmentant l'élimination du sodium et de l'eau par les reins (diminution de la réabsorption de NaCl et diurèse), ils entraînent une baisse du volume sanguin et ainsi une diminution de la tension artérielle [24].
- **Les bêtabloquants** : (Acébutolol, Aténolol...etc) constituent le premier groupe de ces inhibiteurs adrénergiques. Les bêtabloquants inhibent de façon spécifique et compétitive le récepteur bêta adrénergique périphérique. Leur effet hypotenseur s'exerce par l'abaissement de la fréquence cardiaque et du volume d'éjection ventriculaire gauche. Ils sont donc intéressants pour les cas d'HTA associé à une insuffisance coronaire et cardiaque [25].
- **Les inhibiteurs calciques (ICA)** : ils bloquent l'entrée du calcium dans les cellules du cœur et des artères, favorisant leur relaxation et ainsi une baisse de la pression artérielle [26].
- **Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion** : leur action passe en premier par l'inhibition de la voie principale de production de l'angiotensine II à partir de l'angiotensine I ainsi que la diminution de la dégradation de la bradykinine. Leur efficacité se voit dans les hypertensions à taux élevé de rénine elle est limitée chez les sujets âgés et les sujets noirs [26].
- **Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA II)** : déplacent l'angiotensine II de son récepteur de type 1 de l'angiotensine II (AT1) responsable de la majorité de ses effets physiologiques. Le blocage de l'angiotensine II se fait ainsi à une

étape plus distale et il est plus complet qui fait resserrer, contracter et durcir les vaisseaux sanguins [27].

- **L'inhibiteur de la rénine** : Aliskiren inhibe directement la rénine. Cet inhibiteur peut s'utiliser en monothérapie ou en combinaison avec d'autres antihypertenseurs. Son action de réduction de la pression artérielle diastolique (PAD) et de la pression artérielle systolique (PAS) est remarquable aussi bien chez les jeunes ou les vieilles personnes hypertendues [28].

Toutes les études, qu'elles soient épidémiologiques ou interventionnelles, aboutissent à la conclusion qu'une baisse tensionnelle prolongée réduit l'incidence d'accident vasculaire cérébral (AVC), de maladies coronariennes, d'insuffisance cardiaque et de mortalité. Quelle que soit la période considérée, l'ampleur du bénéfice dépend du risque cardio-vasculaire (RCV) du patient. Ainsi pour un individu donné, indépendamment de son âge, plus le RCV est important plus le traitement sera bénéfique [29].

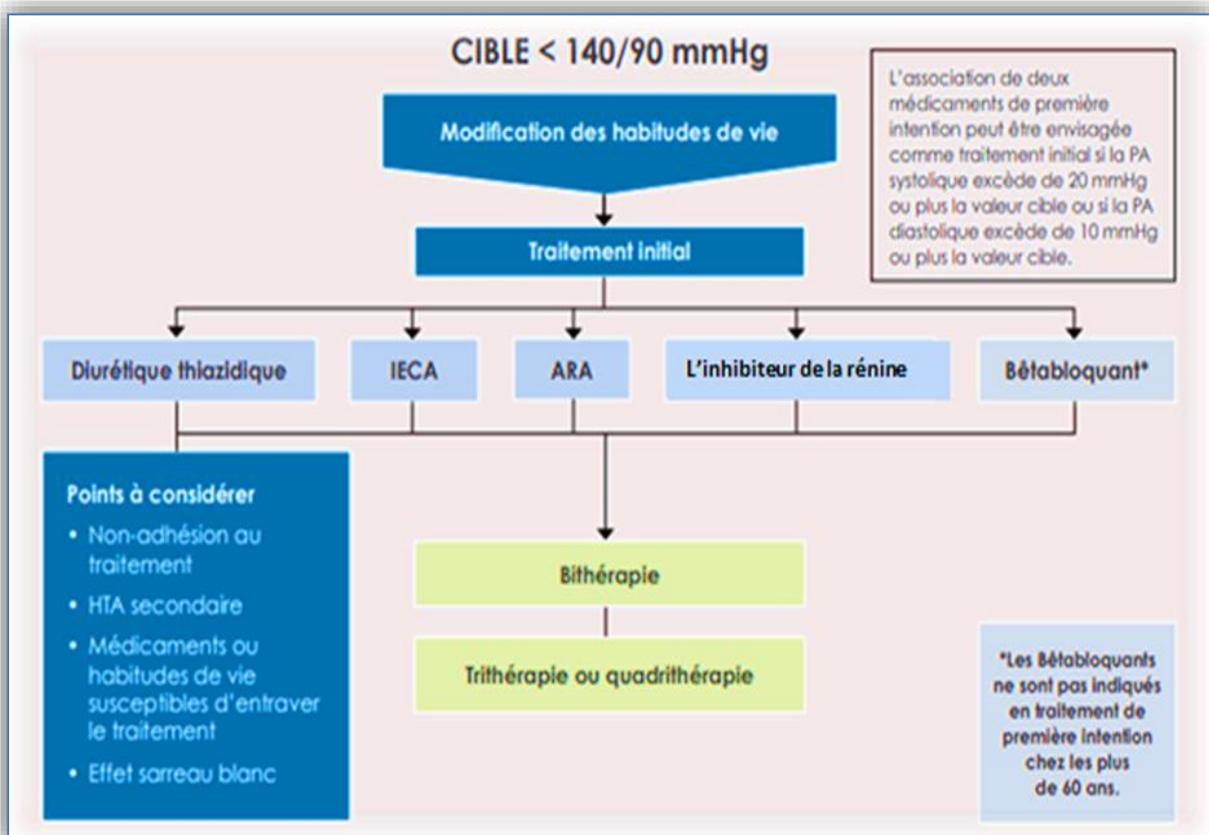


Figure I.1. Traitement de l'HTA systolo-diastolique en première intention [30].

A decorative frame with a double-line border and ornate, symmetrical floral flourishes at the top and bottom. The text is centered within the frame.

Chapitre II :
Rénine

I. Définition de l'enzyme la rénine

La rénine (EC 3.4.23.15) désigne l'enzyme de la classe des hydrolases, est une enzyme protéolytique d'un poids moléculaire de 45 000 Da appartenant à la famille des aspartyl-protéases [31, 32]. Elle est découverte par le physiologiste finlandais Robert Tigerstedt en 1898 au Karolinska Institutet en Suède [33].

La rénine est sécrétée par les cellules paraglomérulaires dans les reins en réponse à l'hypotension et à l'exsudation rénale. Il joue un rôle fondamental dans l'étape de détermination du taux du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA), responsable de l'équilibre du volume sanguin et de la pression artérielle moyenne. Elle agit également comme une hormone, se liant aux récepteurs pro-rénine, conduisant à une augmentation de la conversion du générateur d'angiotensine en angiotensine I [31, 34]. Donc, la rénine est une enzyme qui clive l'angiotensinogène en angiotensine I avec une haute spécificité à la fois moléculaire et d'espèce. Elle appartient au groupe des protéases acides comme la pepsine ou la chymosine. Ces enzymes présentent une grande homogénéité de groupe :

- L'implication dans le site catalytique de deux résidus acide aspartique.
- La présence de deux ponts disulfure localisés aux mêmes endroits.
- Des inhibiteurs spécifiques puissants.
- Une structure cristalline similaire.
- Une extension polypeptidique N terminale de quarante acides aminés.

La particularité de la rénine vis-à-vis des autres enzymes du groupe est qu'elle agit à PH neutre. Elle est produite au niveau d'une structure spécialisée du rein, l'appareil juxta-glomérulaire, par les cellules de la macula densa et elle obéit à la séquence de production d'une hormone classique. Après son action catalytique sur l'angiotensinogène dans le torrent circulatoire, la rénine est catabolisée presque exclusivement au niveau hépatique [35].

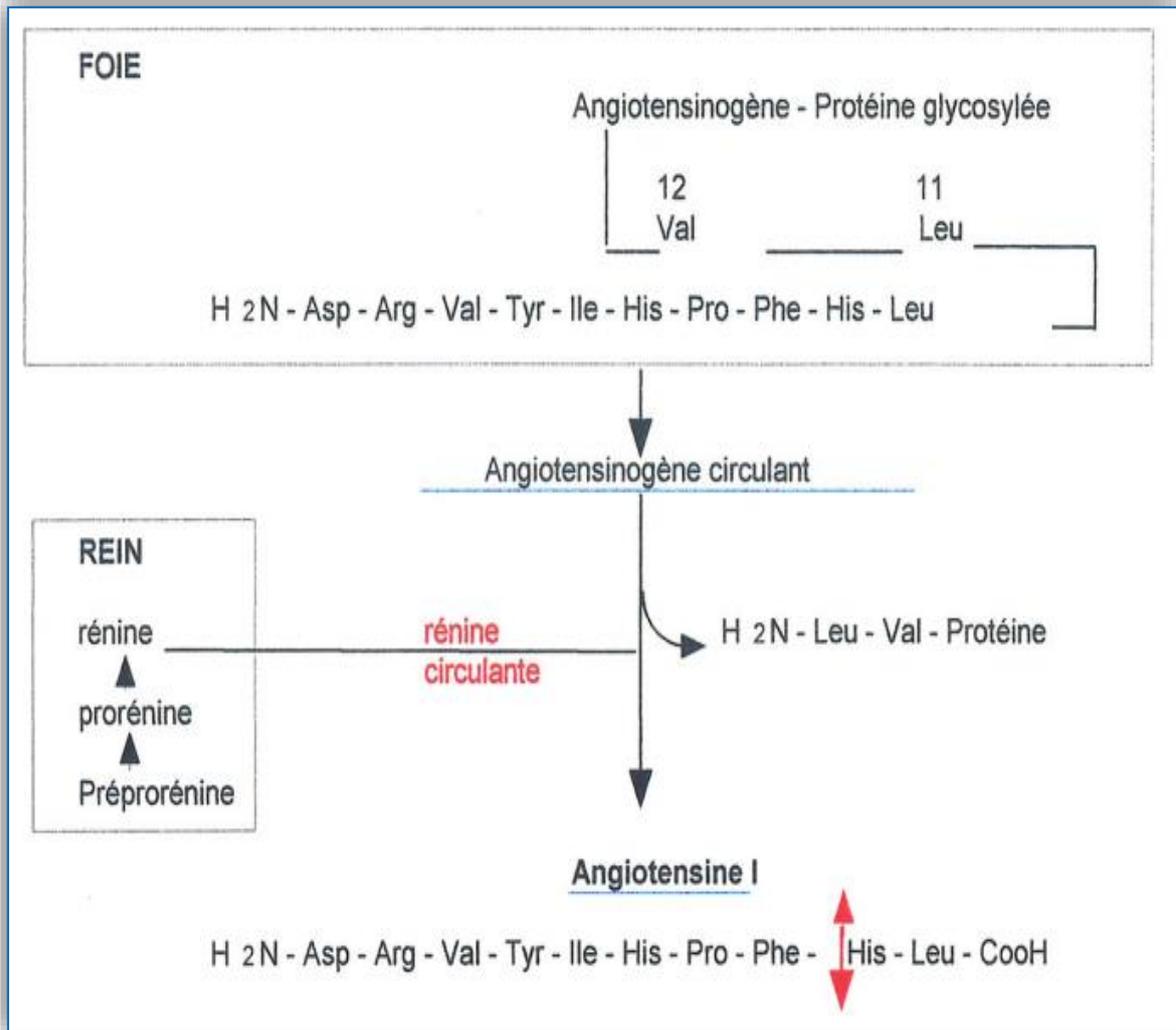


Figure II.1. La formation de la rénine [35].

II. Niveau moléculaire de la rénine

La rénine est une protéase aspartyl. Son gène est situé sur le chromosome 1, contenant dix exons et neuf introns. Ce gène est responsable de l'expression de 406 acides aminés. Les résidus 1 à 23 sont une séquence de peptide signal et les résidus 24 à 66 sont clivés pour produire la rénine mature de 340 résidus d'acides aminés matures [31]. En représentation tridimensionnelle, la rénine apparaît comme une protéine globulaire présente deux courtes séquences homologues, à résidus aspartates, directement impliquées dans le site catalytique de l'enzyme [36].

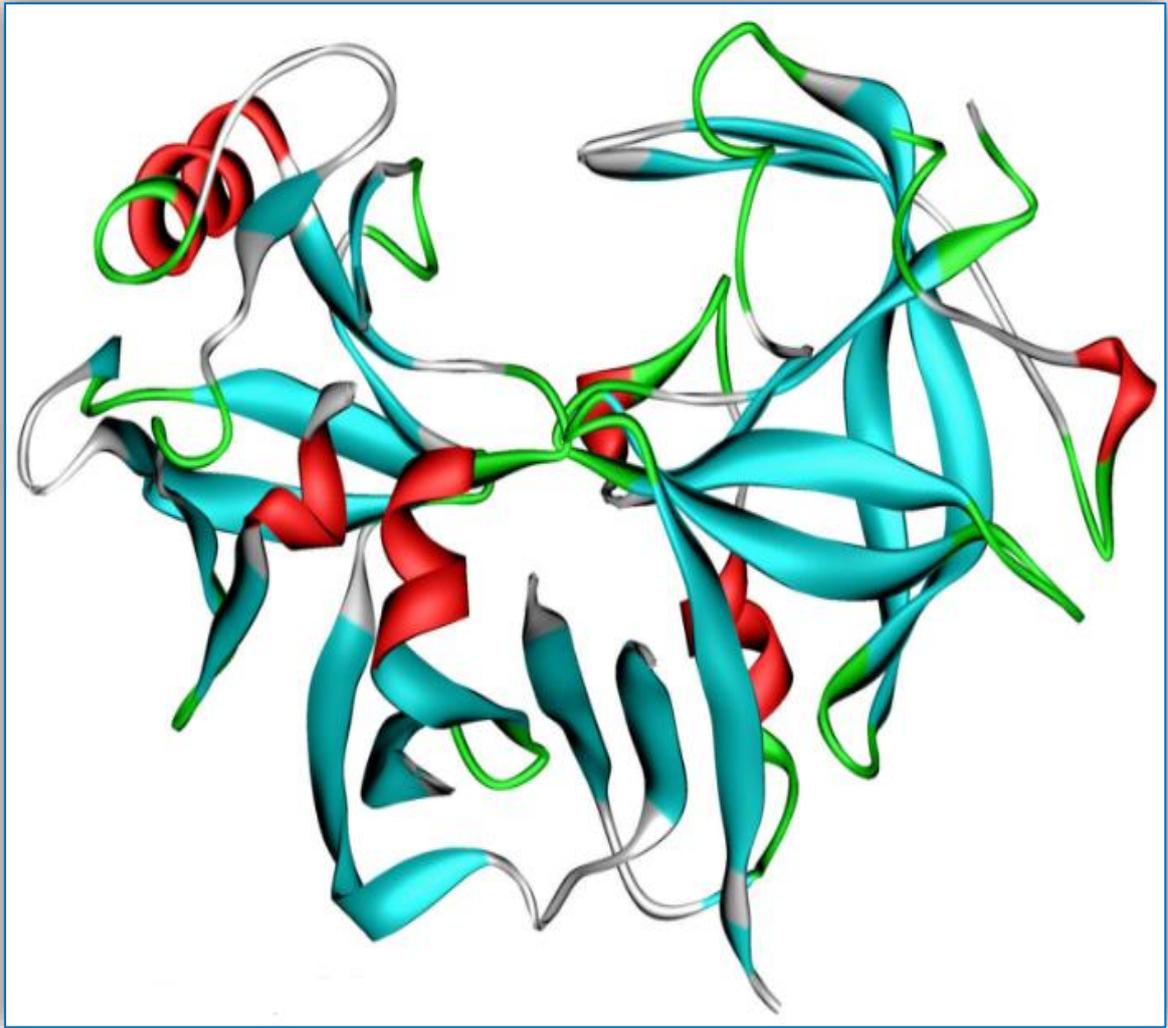


Figure II.2. Structure de la rénine humaine en 3D [37].

III. Site actif de la rénine

Le site actif de la rénine contient deux résidus aspartates essentiels. La rénine utilise également un volet de site actif, une structure en épingle à cheveux β , qui s'ouvre et se ferme pour découvrir ou couvrir le site actif [38]. La rénine est constituée de 2 lobes homologues, le site actif résidant dans la fente profonde située entre eux. L'activité catalytique du site actif est due à deux résidus d'acide aspartique, 1 situé dans chaque lobe de la molécule de rénine. Un composant clé du site actif est une sous-poche distincte (S3sp), qui est spécifique à la rénine et unique parmi les aspartates protéases. Le site actif peut accueillir 7 unités d'acides aminés du substrat, l'angiotensinogène, et clive la liaison peptidique Leu10-val11 dans l'angiotensinogène pour générer l'angiotensine I [39].

IV. Le système rénine-angiotensine

La rénine n'a pas d'effets physiologiques directs, mais elle fait partie de ce qu'on appelle le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA). Le SRAA consiste en une cascade d'interactions biochimiques aboutissant à la production d'angiotensine II, effecteur majeur de cette cascade hormonale. C'est l'un des principaux complexes de régulation de la pression artérielle ainsi que de l'équilibre hydrosodé de l'organisme, principalement par ses effets rénaux. Il participe aussi à la régulation de la vasomotricité et au remodelage tissulaire dans le système cardio-vasculaire [40].

Le rein est considéré comme l'unique organe de synthèse et de sécrétion de rénine active et la rénine trouvée dans d'autres organes proviendrait d'une capture plasmatique [41].

V. Mode d'action de la rénine

La régulation de la pression artérielle est la fonction principale de la rénine. Il agit avec l'angiotensine et l'aldostérone pour gérer les niveaux de sodium et de potassium dans le corps. La rénine fonctionne comme suit [34, 42] :

- La rénine clive l'angiotensinogène, une grosse protéine circulant dans le sang, en plusieurs fragments. L'un de ces fragments est l'angiotensine I ;
- L'angiotensine I est relativement inactive et est fragmentée par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA). L'un de ces fragments est l'angiotensine II, une hormone très active ;
- L'angiotensine II provoque la constriction des parois musculaires des petites artères (artérioles), augmentant ainsi la pression artérielle. L'angiotensine II déclenche également la sécrétion d'une hormone, l'aldostérone, par les glandes surrénales, et de la vasopressine (hormone anti-diurétique) par l'hypophyse ;
- L'aldostérone et la vasopressine provoquent une rétention de sodium (sel) par les reins. L'aldostérone provoque également l'excrétion de potassium par les reins. Le sodium provoque une rétention aqueuse, augmentant ainsi le volume sanguin et la pression artérielle.

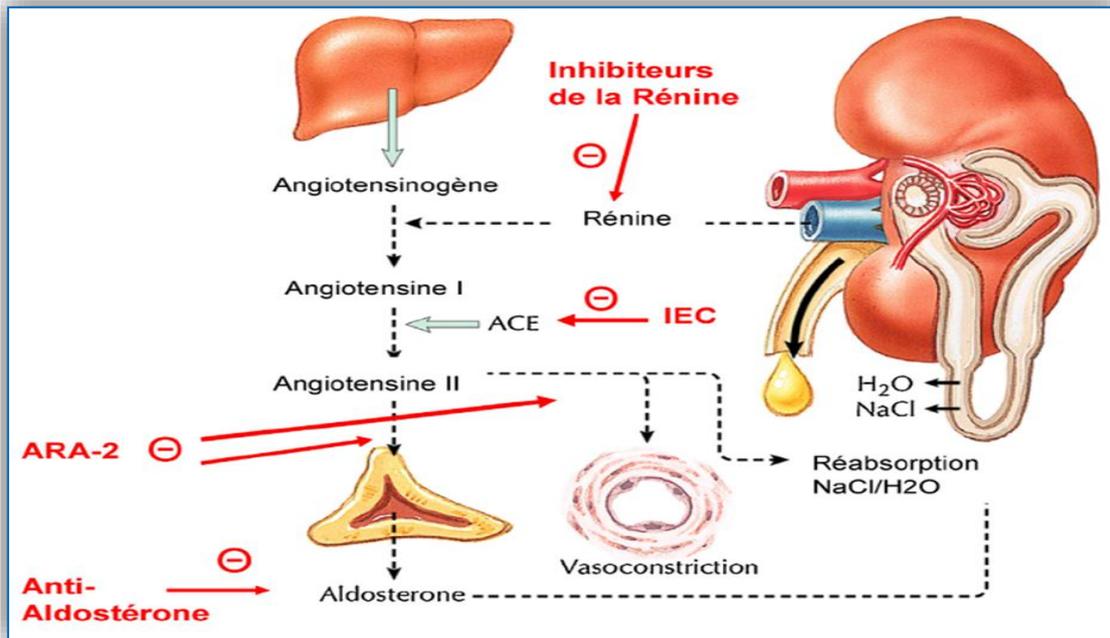


Figure II.3. Le système rénine-angiotensine-aldostérone [40].

VI. Les conditions liées à la production de la rénine

L'augmentation des niveaux de rénine est liée à plusieurs conditions, notamment [34] :

- Hypotension (pression artérielle basse) ;
- Perte de sang ;
- Manque de circulation sanguine vers les reins ;
- Activation du nerf sympathique (augmentation du rythme cardiaque, du rythme respiratoire, de la tension artérielle et de la taille de la pupille).

VII. Les facteurs déclenchant la sécrétion de rénine

Les stimuli déclenchant le système rénine-angiotensine sont tous liés de manière directe ou indirecte à la pression artérielle. Ainsi, une augmentation de la sécrétion de rénine et donc de la production d'angiotensine II est obtenue :

- Par mécanisme direct, une diminution de pression dans l'artériole afférente diminue l'étirement de la paroi de cette artériole, ce qui a pour effet de stimuler les cellules granuleuses de l'appareil juxtaglomérulaire.
- Par stimulation sympathique, une baisse de pression artérielle captée par les barorécepteurs carotidiens et aortiques active le système nerveux sympathique dont

les voies nerveuses se projetant sur les cellules granulaires provoquent une augmentation de la sécrétion de rénine.

- Par mécanisme paracrine, une diminution de pression artérielle diminue le débit de filtration glomérulaire et donc le débit dans le tubule contourné distal. Cette baisse est captée par les cellules de la macula densa qui sécrètent des agents paracrines stimulant les cellules granulaires.

Par ailleurs, les cellules granulaires sont inhibées par une hormone produite par les cellules des oreillettes du cœur, le peptide auriculaire natriurétique ou ANP, lui-même produit en cas d'augmentation de la pression artérielle. Enfin, notez que la production de rénine est également inhibée par l'angiotensine II et l'aldostérone [43].

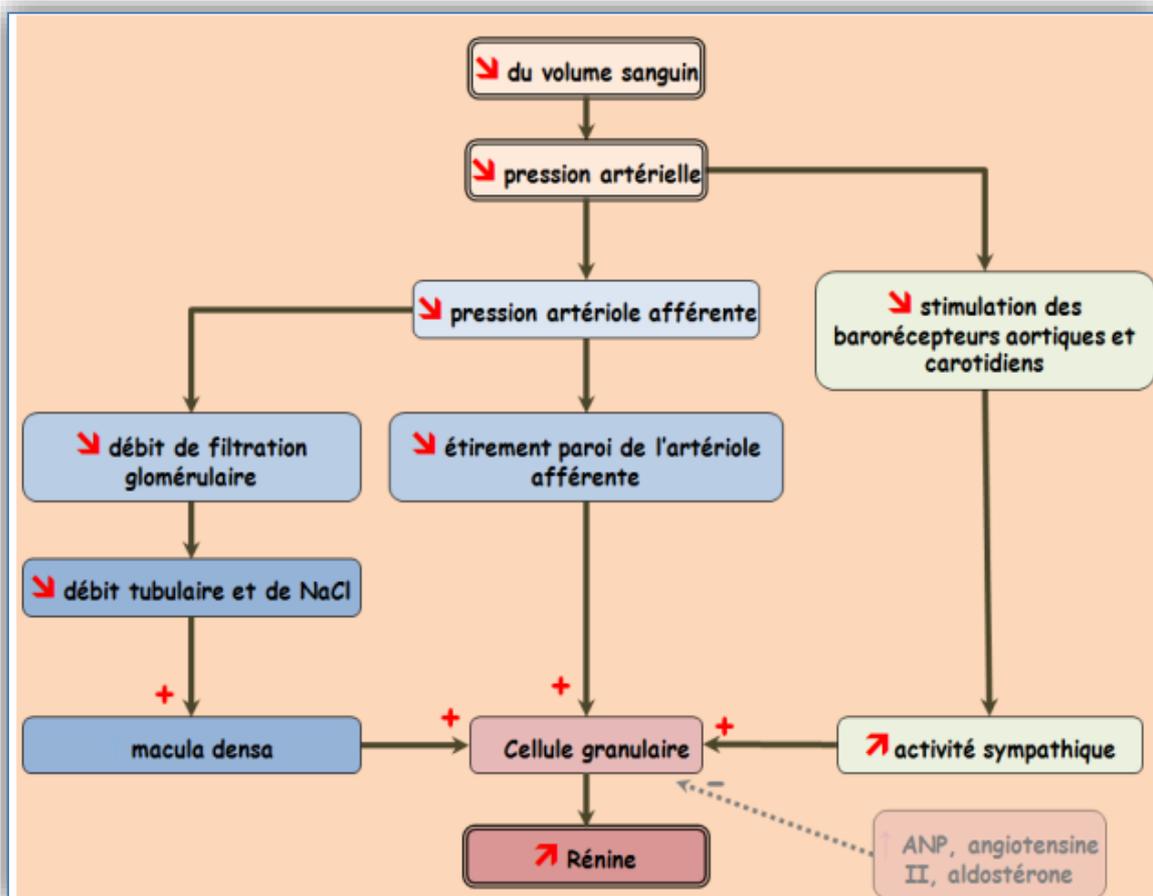


Figure II.4. Facteurs influençant la sécrétion de rénine par les cellules granulaires de l'appareil juxta glomérulaire [43].

VIII. Les inhibiteurs de la rénine

La rénine est l'enzyme qui catalyse la formation d'angiotensine I à partir de l'angiotensinogène. Son inhibition empêche la formation d'angiotensine I. Les inhibiteurs de la rénine abaissent la pression artérielle, diminuent la concentration d'angiotensine I et II et d'aldostérone et, comme les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) et les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II, ils augmentent la concentration plasmatique de rénine [44].

Les groupements d'inhibiteurs de la rénine sont une classe de médicaments utilisés pour le traitement de l'hypertension (pression artérielle élevée). L'abaissement de l'hypertension artérielle aide à prévenir les événements cardiovasculaires tels que les accidents vasculaires cérébraux (blocage de l'apport sanguin au cerveau) et les infarctus du myocarde (crise cardiaque) et les maladies rénales [45]. Il existe plusieurs inhibiteurs de la rénine représentés dans le tableau II.1 ci-dessous telle que l'aliskirène, l'enalkiren, le renikiren, le zankiren et le ciprokiren.

- **L'aliskirène** : est un inhibiteur direct de la rénine (IDR) [46], Il affecte le système rénine-angiotensine-aldostérone en inhibant l'enzyme protéolytique « rénine » libérée par les reins et empêche la rénine de convertir l'angiotensine en angiotensine I qui est ensuite convertie en angiotensine II (un vasoconstricteur qui pression artérielle). Cette inhibition de l'angiotensine II aide à la relaxation et à l'élargissement des vaisseaux sanguins et au maintien d'un bon flux sanguin (figure II. 5) [47].

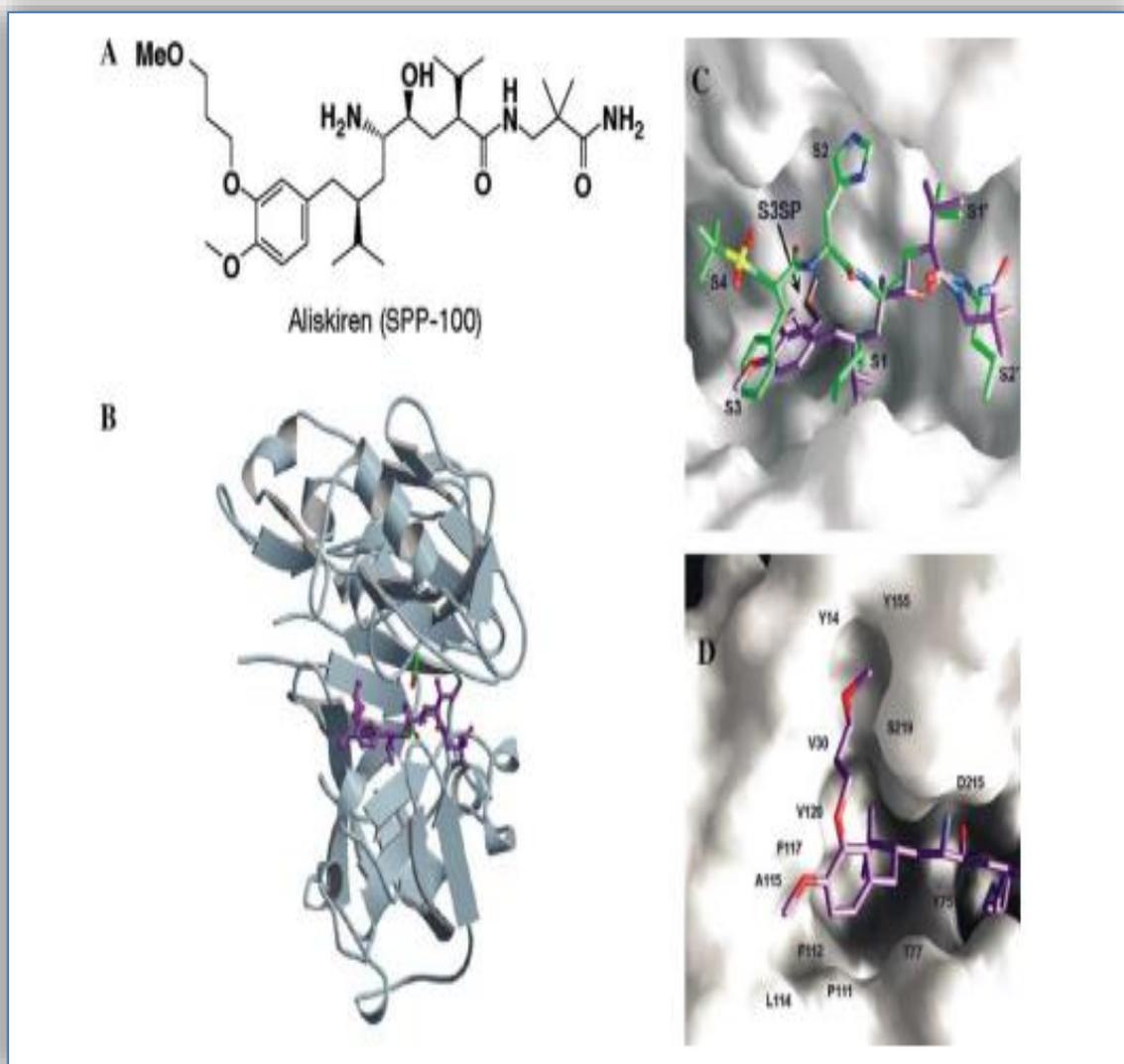
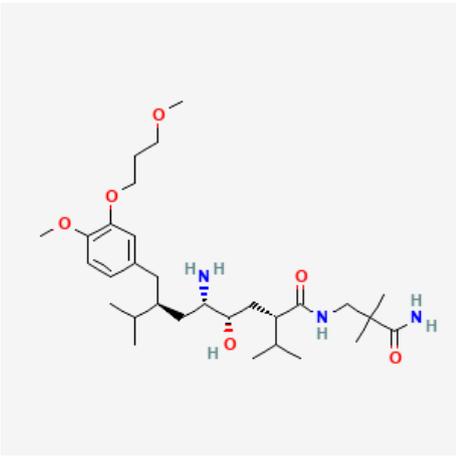
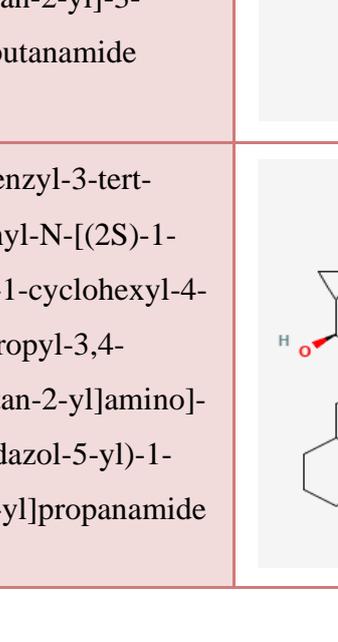
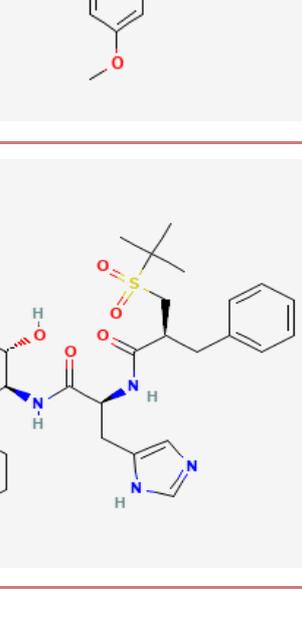
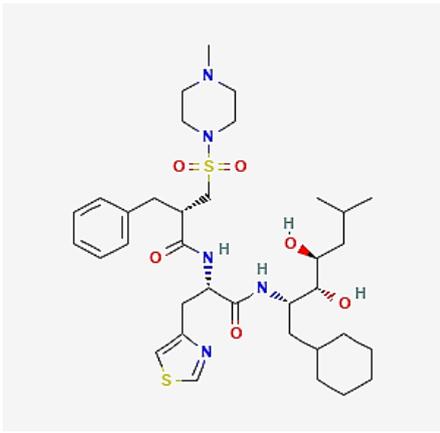
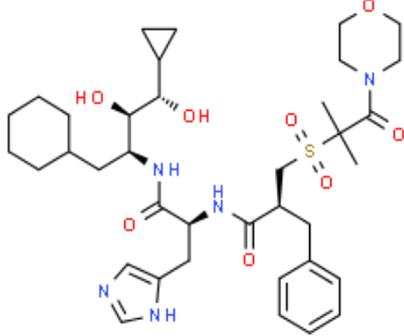


Figure II.5. Aliskiren est un inhibiteur hautement sélectif et étroitement liant de la rénine humaine [48].

(A) Structure chimique de l'aliskiren. (B-D) Représentations de la structure cristalline en rayons X de l'aliskiren cocrystallisé avec la rénine humaine glycosylée recombinante à une résolution de 2,2 Å. (B) Vue générale de l'aliskiren (représenté en violet) dans le complexe liant avec la rénine humaine. (C) Vue rapprochée de l'aliskiren (violet) se liant au site actif de la rénine humaine avec les poches de spécificité enzymatique S4 à S20 indiquées. La superposition avec l'inhibiteur peptidique CGP 38560A (vert) indique les différences dans les interactions de liaison pour l'aliskiren. (D) Vue étendue de l'aliskiren se liant au grand site hydrophobe S1-S3 et à la poche non substratable S3sp de rénine récemment découverte.

Tableau II.1. Les inhibiteurs de la rénine [49].

Inhibiteur de la rénine	IC ₅₀ (nM)	Nom chimique	Structure chimique
Aliskirène	0.6	(2S),4(S),5(S),7(S)-N-(2-carbamoyl-2-méthylpropyl)-5-amino-4-hydroxy-2,7-diisopropyl-8- L'hémifumarate de [4-méthoxy-3-(3-méthoxypropoxy)phényl]-octanamid)	
Enalkiren	14	3-amino-N-[(2S)-1-[[[(2S)-1-[[[(2S,3R,4S)-1-cyclohexyl-3,4-dihydroxy-6-méthylheptan-2-yl]amino]-3-(1H-imidazol-5-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-3-(4-méthoxyphényl)-1-oxopropan-2-yl]-3-méthylbutanamide	
Remikiren	0.8	(2S)-2-benzyl-3-tert-butylsulfonyl-N-[(2S)-1-[[[(2S,3R,4S)-1-cyclohexyl-4-cyclopropyl-3,4-dihydroxybutan-2-yl]amino]-3-(1H-imidazol-5-yl)-1-oxopropan-2-yl]propanamide	

Zankiren	1.1	(2S)-2-benzyl-N-[(2S)-1-[[[(2S,3R,4S)-1-cyclohexyl-3,4-dihydroxy-6-methylheptan-2-yl]amino]-1-oxo-3-(1,3-thiazol-4-yl)propan-2-yl]-3-(4-methylpiperazin-1-yl)sulfonylpropanamide	
Ciprokiren	0.65	(2S)-2-benzyl-N-[(2S)-1-[[[(2S,3R,4S)-1-cyclohexyl-4-cyclopropyl-3,4-dihydroxybutan-2-yl]amino]-3-(1H-imidazol-5-yl)-1-oxopropan-2-yl]-3-(2-methyl-1-morpholin-4-yl)-1-oxopropan-2-yl)sulfonylpropanamide	

IX. Avantages des inhibiteurs de la rénine chez l'homme

La mise au point de substances capables d'inhiber la réaction de la rénine sur l'angiotensinogène permet a priori d'individualiser sans ambiguïté l'action propre du système rénine-angiotensine dans la régulation de la pression artérielle et de la fonction cardiaque. Elle offre une nouvelle voie thérapeutique dans le traitement de l'hypertension, de l'insuffisance cardiaque et des néphropathies protéinuriques, avec comme avantage théorique sa plus grande sélectivité. Les inhibiteurs de la rénine ont des avantages potentiels listés ci-après [49] :

- Leur grande spécificité pour la rénine humaine ;
- L'inhibition de l'étape limitante de la formation de l'angiotensine II ;
- La spécificité de substrat (l'angiotensinogène est le seul substrat connu pour la rénine).
- La mise au repos du système rénine-angiotensine ;
- Suppression de tous les peptides dérivés de l'angiotensine I ;

- Inhibition des voies alternatives de génération de l'angiotensine II indépendantes de l'enzyme de conversion ;
- Pas de stimulation des récepteurs AT2 ou autres récepteurs aux angiotensines IV ;
- Neutralisation des conséquences de la libération de rénine stimulée par la levée du feedback négatif de l'angiotensine II secondaire au blocage du système rénine-angiotensine ;
- L'interaction potentielle positive avec le récepteur (pro) rénine.



Chapitre III :
Criblage Virtuel

I. Généralité

Devant une porte fermée dont on ne possède pas la clé, deux solutions sont possibles : soit on construit patiemment une clé étape par étape, soit on en cherche une dans un sac de clés existantes qui coïncidera avec la serrure de la porte à ouvrir. Cette dernière stratégie du « Serrurier d'urgence » résume le principe fondamental du criblage *in silico* (virtuel) appliqué à la conception de molécules actives. Plutôt que de façonner une molécule idéale dont la synthèse reste à faire, il peut être plus intéressant de simplement sélectionner la ou les molécules existantes répondant au cahier des charges imposé [50].

La découverte de nouvelles drogues médicamenteuses dépend d'un procédé long et coûteux. Par criblage virtuel, on entend tout procédé de recherche électronique dans des banques de données moléculaires permettant la sélection de molécules. La requête peut être effectuée sous différents types de contraintes (descripteurs physicochimiques, pharmacophore, topologie d'un site actif) et doit aboutir à la sélection d'un faible pourcentage (1-2%) de molécules présentes dans la chimiothèque de départ. Nous allons ici aborder les diverses stratégies intégrées susceptibles d'aboutir à un criblage virtuel réussi à partir de la structure tridimensionnelle (3D) de la protéine cible [51]. Tout criblage virtuel se décompose en trois étapes d'égale importance [50, 52] :

- La phase de préparation de la chimiothèque incluant la mise à disposition (ou pas) de vrais actifs/inactifs dans le cas d'un apprentissage supervisé.
- La phase d'exécution proprement dite qui varie en fonction de la taille de la chimiothèque et de la connaissance de la structure 3D d'une protéine cible.
- La phase d'analyse des résultats conduisant à la définition de touches.

II. Définition

Le criblage virtuel est une stratégie *in silico* (approche informatique) la plus utilisée pour l'identification de composés « hits » dans le cadre de la recherche de nouveaux médicaments. Celui-ci fait désormais partie intégrante de la plupart des programmes de recherche de composés bioactifs, que ceux-ci se déroulent en milieu académique ou industriel, car il constitue un complément essentiel au criblage biologique haut-débit. Elle permet l'exploration de grande chimiothèques à la recherche de composés actifs vis-à-vis d'une cible thérapeutique donnée. Le criblage *in silico* est maintenant devenu un élément indispensable du processus de découverte de médicaments [53]. Le rôle des méthodes de criblage est donc

d'éliminer les composés supposés inactifs ou les molécules indésirables tout en priorisant les composés les plus susceptibles d'être actifs [54].

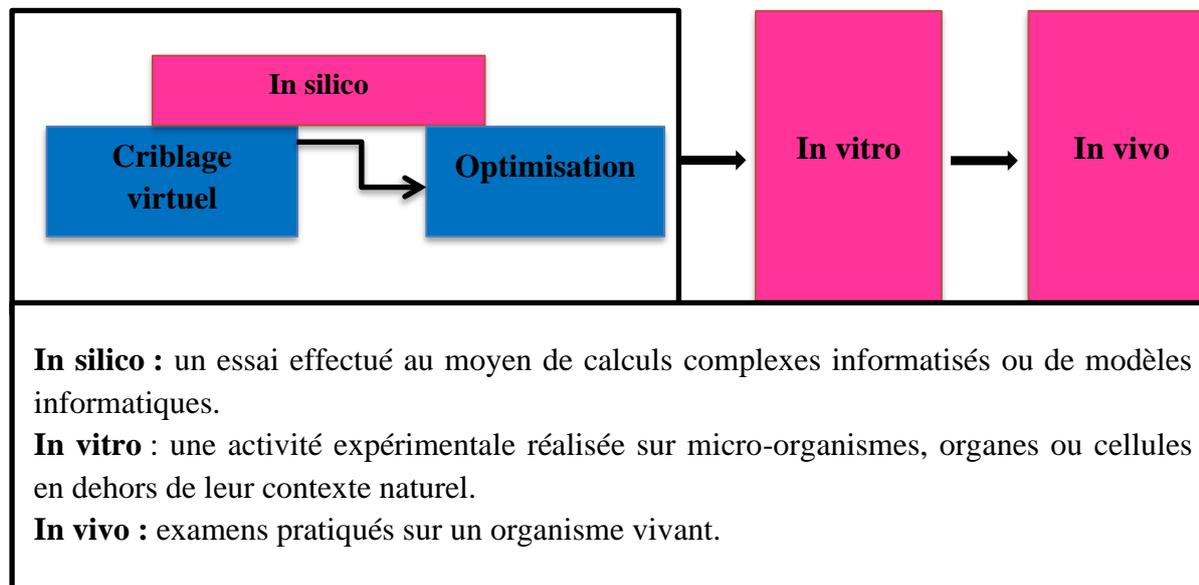


Figure III.1. Position du criblage virtuel dans la conception actuelle de médicament [55].

III. Les outils criblage virtuel

III.1. Structure de la cible protéique

Le criblage virtuel a été historiquement essentiellement basé sur la connaissance de la structure 3D de la cible [56], qui déterminer là au niveau de résolution de l'ordre de l'atome est utile pour l'identification de leur fonction, la conception de médicaments basée sur la structure et l'amarrage moléculaire. Les structures 3D sont principalement issues d'analyses par diffraction des rayons X, les autres par résonance magnétique nucléaire ou modélisation moléculaire [57]. La majorité des structures protéiques sont disponibles via la Protein Data Bank ou PDB.

III.2. Chimiothèque

La chimiothèque est collection de molécules (existantes ou non) dont les structures et éventuellement les propriétés sont archivées sous un format électronique. La plupart des chimiothèques couramment utilisées existent à la fois physiquement (molécules disponibles en poudre) et électroniquement [58].

Le criblage de molécules synthétiques regroupées en chimiothèques, offre la possibilité de découvrir des composés biologiquement actifs, qui, après optimisation, vont constituer des outils pour la biologie ou des médicaments futurs. En parallèle de la démarche de conception

rationnelle, la découverte de hasard dite « serendipity » est à l'origine de l'identification de nombreux principes actifs. Il s'agit en couplant chimiothèques et plateformes de criblage « d'accélérer le hasard » [59].

IL existe à l'heure actuelle deux grands types de chimiothèques : les chimiothèques réelles et les chimiothèques virtuelles. Les chimiothèques réelles sont souvent sous forme de plaques de puits contenant chacun un produit différent. Ces plaques sont donc prêtes à être testées. Les chimiothèques virtuelles qui nous intéressent dans le présent travail sont un ensemble d'informations plus ou moins organisées et hiérarchisées regroupant toute ou une partie des données concernant un ensemble de composés. Parmi les chimiothèques virtuelles nous citons : La chimiothèque Nationale Française, la chimiothèque de l'institut de curie, ZINC et PubChem [60].

III.3. Logiciels de criblage virtuel

De nombreux logiciels de docking sont actuellement disponibles et la plupart sont conçus pour le criblage virtuel. Les cinq les plus fréquemment cités présente 80% du total de citations trouvées dans la littérature : AutoDock (32%), GOLD (19%), Glide (14%), Surflex-dock (8%) et FlexX (7%). Ils permettent particulièrement un criblage rapide d'une chimiothèque. Ces programmes reposent le plus souvent sur des algorithmes spécifiques, et ils diffèrent les uns des autres sur la manière de montrer le système moléculaire et la manière de déterminer le score de docking moléculaire [61]. Le tableau I.1 suivant présente les principaux programmes de docking moléculaire.

Tableau III.1. Quelques exemples de logiciels virtuels [62].

Programme	Site internet	Algorithme de recherche	Fonction de score
FlexX	http://www.biosolveit.de/flexX/	Fragmentation /reconstruction	Basée sur les connaissances
Glide	http://www.schrodinger.com/products/glide.html	Monte Carlo	Empirique
Gold	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/	Génétique	Basée sur les champs de force
Surflex-Doc	http://www.biopharmics.com/products.html	Hammerhead modifié	Empirique
Autodock	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/	Génétique	Basée sur les champs de force
ICM	http://www.molsoft.com/products.html	Monte carlo	Basée sur les champs de force
FRED	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.htm	Recherche exhaustive	Basée sur les connaissances
Ligand Fit	http://www.accelrys.com/ceruis2/c2ligandfit.html	Commercial	Echantillonnage Monte Carlo

IV. Différentes stratégies du criblage virtuel

On distingue deux approches distinctes pour le criblage virtuel (figure III.2). La première se base sur la structure de la cible et est connue sous le nom de « structure-based virtual screening ». La seconde, reposant sur la connaissance d'un nombre suffisant d'informations concernant une ou plusieurs molécules actives de référence, est appelée « ligand-based virtual screening ». Bien que ces deux approches soient surtout utilisées de manière exclusive (souvent parce que la nature des données de départ ne laisse qu'un seul choix possible), leur combinaison lors d'une campagne de criblage permet de maximiser les chances de succès pour identifier de nouvelles touches [63].

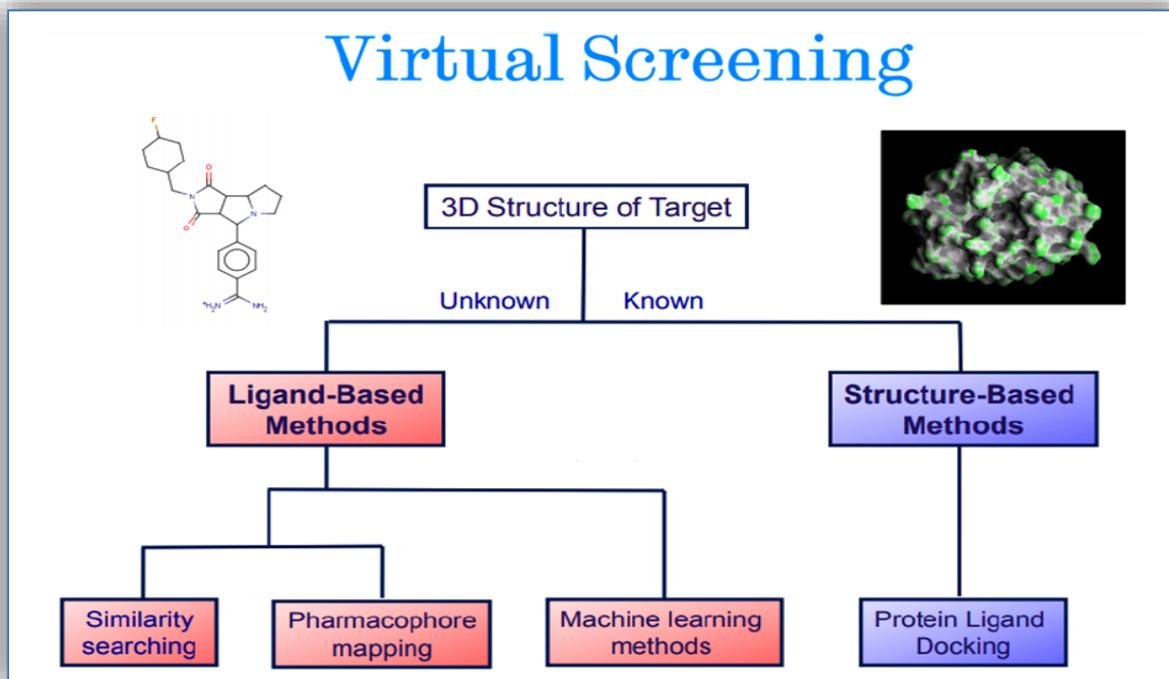


Figure III.2. Représentation schématique des stratégies du criblage virtuel [64].

IV.1. Le criblage virtuel « ligand-based »

Les méthodes ligand-based s'appuient sur le principe de similarité. Autrement dit, deux molécules structurellement similaires ont une forte probabilité d'avoir le même profil d'activité par rapport à une cible donnée. Ainsi en partant de molécules actives et en recherchant celles qui leur sont similaires, nous pouvons prétendre à retrouver de nouveaux composés actifs. Pour ce faire, il existe différentes approches et algorithmes pour calculer et opérer une recherche de similarité. Ce principe de similarité est aussi utilisé pour définir les propriétés communes entre ces différentes molécules actives et de les exprimer sous forme de modèles pharmacophoriques ou en d'équations mathématiques [65].

IV.2. Le criblage virtuel « structure-based »

Est basé sur la structure de la cible en évaluent la capacité des ligands à établir des interactions avec le site de liaison étudié et ainsi sélectionner les molécules capables de se lier à cette cible. Lorsque la structure 3D de la cible biologique d'intérêt est disponible, des méthodes dites basées sur la structure peuvent être employées [54].

V. Docking moléculaire

Le docking moléculaire est le nom des simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction pharmacologiques entre deux molécules un récepteur macromoléculaire (protéine cible) et une petite molécule (ligand). Le docking moléculaire a pour objectif essentiel de prédire la conformation définie par la position et l'orientation relative la plus favorable du ligand au sein de son récepteur. Au niveau du site actif, le processus d'interaction se fait par liaison complémentaire du ligand avec l'architecture protéique. Les forces intervenant dans la formation du complexe peuvent être de nature stérique, électronique ou les deux avec des contributions différentes, présentées par des liaisons non covalentes ; essentiellement de nature hydrogènes, van der waals, et liaisons électrostatiques [66]. L'amarrage moléculaire est devenu un outil de plus en plus important pour la découverte de médicaments.

V.1. Définition

Le docking moléculaire est une sorte de modélisation informatique des complexes, qui est formée à partir de l'interaction de deux molécules ou plus. Il prédit la tridimensionnelle structure des adduits, basée sur les propriétés de liaison du ligand participant et de la cible molécules. Le docking moléculaire génère différentes structures candidates possibles, qui sont classées et regroupées à l'aide de la fonction de notation dans le logiciel de l'outil d'amarrage moléculaire. Les simulations d'amarrage prédisent un conformateur ancré optimisé en fonction de l'énergie totale du système [67].

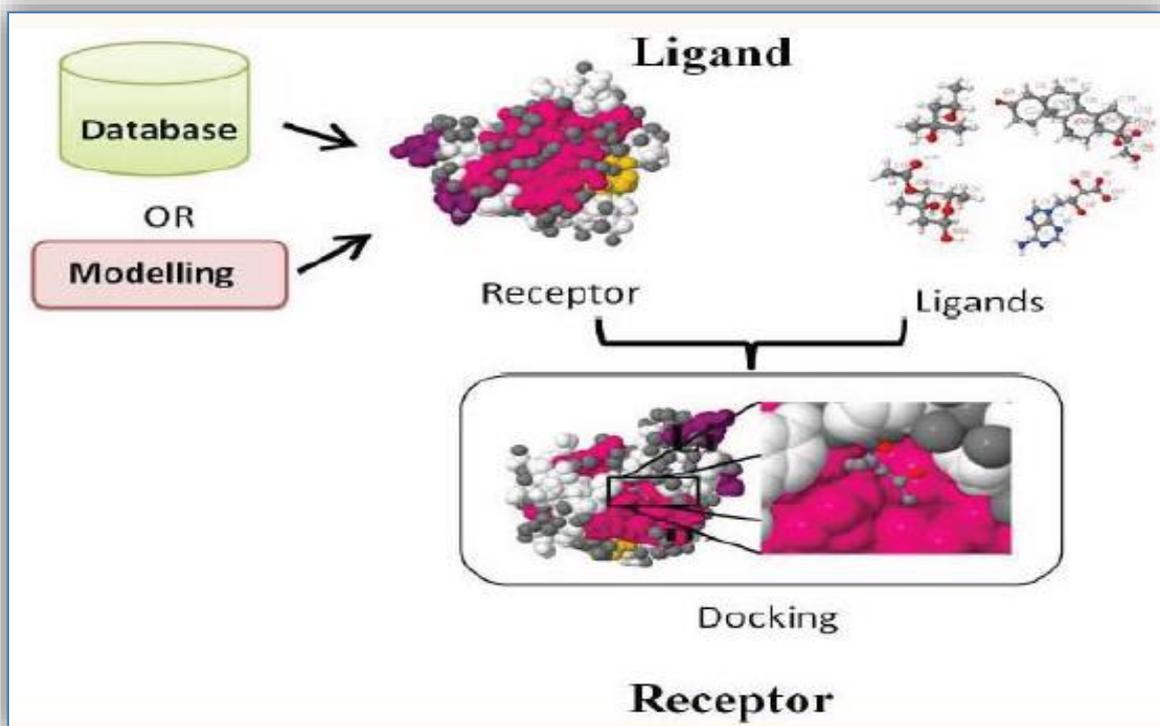


Figure III.3. Docking moléculaire [68].

V.2. Principe

Le docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur. Le processus de docking implique deux étapes fondamentales [69, 70] :

- **Le docking** : est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- **Le scoring** : est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine dans chacun des complexes sélectionnés lors de l'étape précédente. Cette tâche est accomplie par des outils informatiques nommés fonctions de score. Celles-ci évaluent d'abord les différentes contributions énergétiques (et parfois entropiques) pour la stabilisation du complexe protéine-ligand, et ordonnent ensuite ces complexes, permettant ainsi l'identification des modes d'interaction les plus probables.

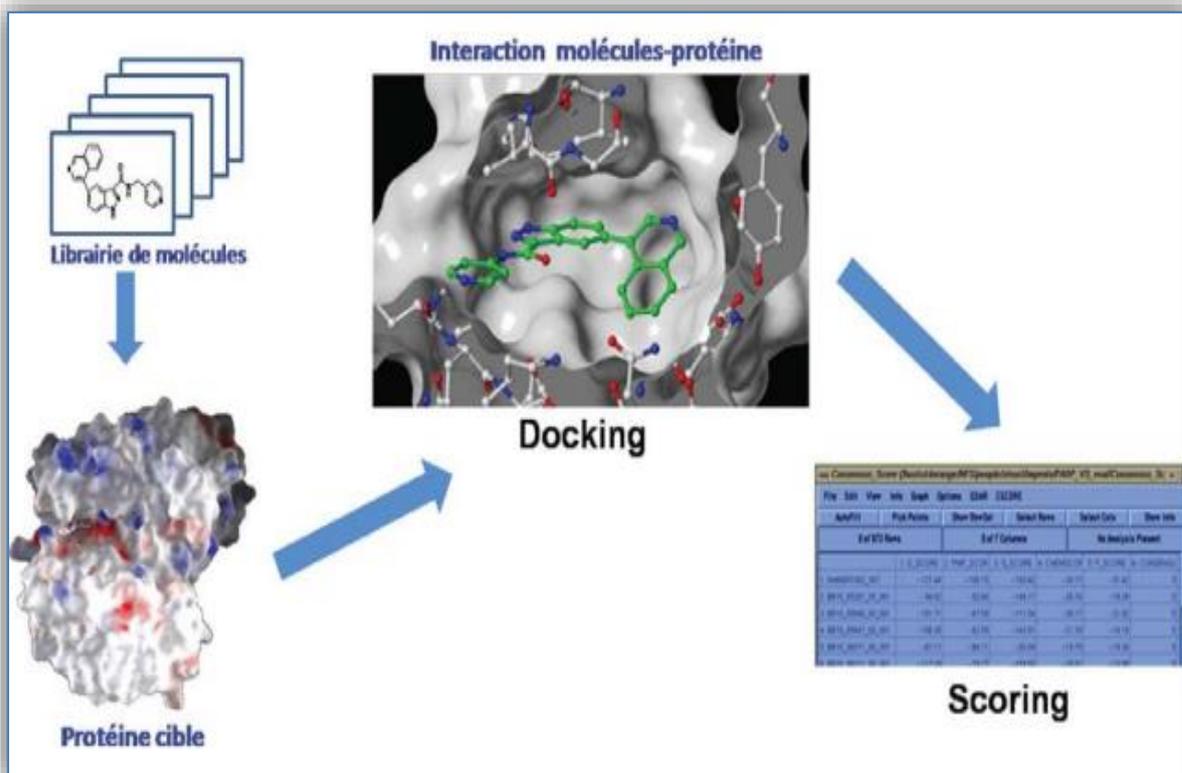


Figure III.4. Principe générale de la docking moléculaire [71].

V.3. Types de docking moléculaire

- **Docking rigide** : Il est utilisé pour trouver des complexes avec un haut degré de complémentarité de forme entre le ligand et le récepteur. Dans cette approche, le ligand et le récepteur restent des structures rigides et l'espace de recherche est très limité. Le premier programme d'amarrage développé par le groupe Kuntz nommé DOCK était basé sur ce mécanisme. Autre des programmes tels que Patchdock et SymmDock également utiliser des mécanismes similaires [72].
- **Docking semi-flexible** : le récepteur est conservé fixé tout en gardant le ligand flexible. La majorité des programmes de docking comme AutoDock et FlexX utilise ce mécanisme [72].
- **Doking flexible** : Cette méthode est également basée sur l'ajustement induit mécanique mais ici la flexibilité de la chaîne latérale joue un rôle crucial dans la formation des ligand-récepteur complexes. Ces changements permettent au récepteur de modifier son site de liaison selon l'orientation du ligand [72].

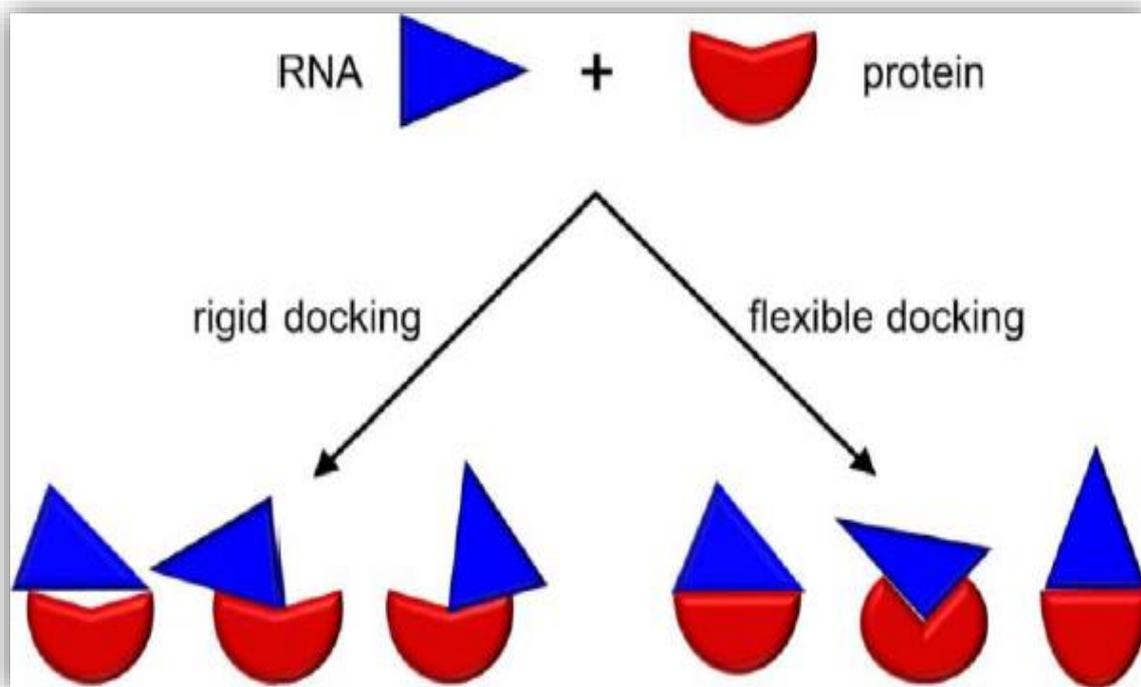


Figure III.5. Types de docking moléculaire [73].

V.4. Étapes impliquées dans le docking

- **Préparation de la protéine cible** : il faut choisir une structure 3D de haute qualité, avec une bonne résolution à partir de la banque de données PDB. Ensuite, la structure récupérée doit être prétraitée. Cela devrait permettre l'élimination des molécules d'eau de la cavité, stabiliser les charges, remplir les résidus manquants, générer les chaînes latérales, ...etc. selon les paramètres disponibles [74].
- **Déterminer les résidus d'acides aminés du site de liaison** : la protéine réceptrice peut avoir plusieurs sites de liaison, d'où la prédiction d'une cavité de liaison appropriée est essentielle pour un bon résultat d'amarrage qui se fait en utilisant les coordonnées de la structure co-cristallisé d'un récepteur-ligand [72].
- **Préparation du ligand** : les ligands peuvent être obtenus à partir de plusieurs chimiothèques comme ZINC, PubChem, DrugBank...etc. Le ligand peut être enregistré dans plusieurs formats de fichiers comme .mol, .mol2, .pdb, .sdf...etc [74].
- **Docking** : après la sélection du récepteur et du ligand, ils sont soumis à un amarrage avec quelques ajustements dans les paramètres comme le nombre de courses et le nombre de cycles. À ce stade l'interaction entre le ligand et le récepteur est analysée et

la fonction de notation donne des scores d'énergie pour les complexes formés sur la base de la liaison compatibilité [72].

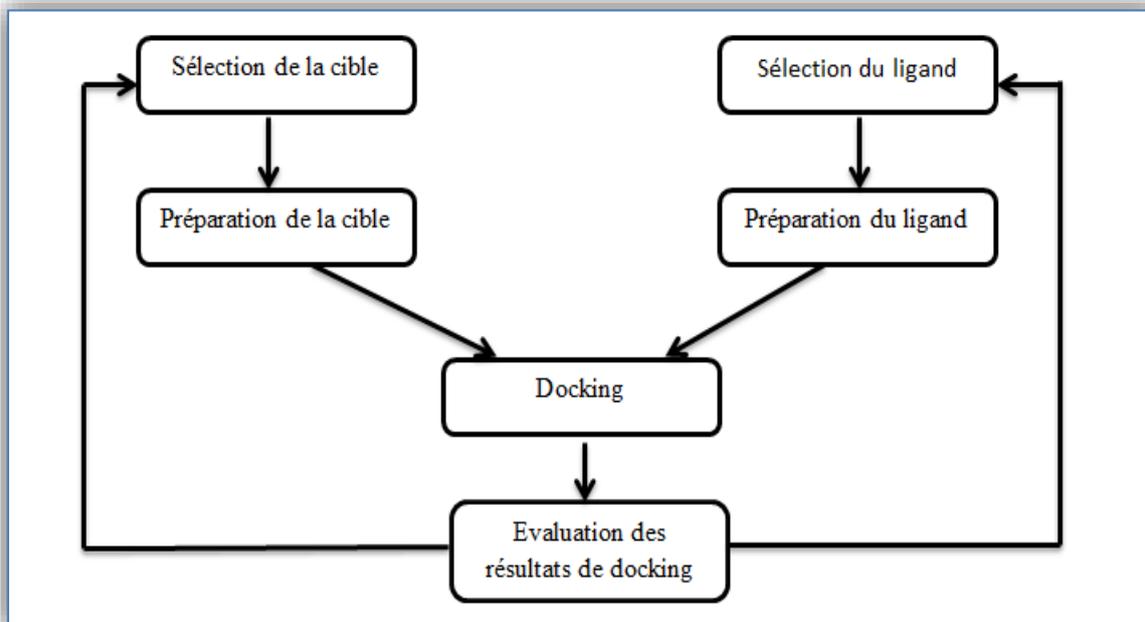


Figure III.6. Les étapes du docking moléculaire [75].

V.5. Applications de docking moléculaire

Le docking moléculaire a deux principales applications : la plus ancienne est la prédiction du mode d'interaction. La seconde consiste à optimiser des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur. L'optimisation de la structure du ligand déjà connu peut avoir plusieurs buts : l'amélioration de son score ou affinité, de sa spécificité ou encore de ses propriétés ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité) [76].

Dans le processus de conception d'un médicament, il peut par exemple être utilisé pour le virtuel screening et l'optimisation des composés « lead et hit ». Cette technique consiste à placer virtuellement une collection de milliards de composés (issus d'une chimiothèque) dans une cible protéique et d'évaluer leur affinité. L'évaluation est effectuée par un classement des ligands (scoring) en termes d'affinité dans le complexe ligand-récepteur. Cette procédure *in silico* est intéressante car elle permet l'évaluation rapide de grandes bibliothèques de composés, ce qui permet de diminuer le nombre de composés à tester expérimentalement *in vitro* [77].

VI. Programme de docking Surfex-Dock

Le programme de docking moléculaire Surfex-dock repose sur l'ajustement de fragments en commençant par construire un modèle du site actif dit « protomol ». Il se base sur la construction d'une pseudo-molécule comme cible sur laquelle aligner le ligand.

Surflex-dock est basé sur un algorithme de fragmentation/reconstruction Hammerhead modifié pour ancrer les composés de manière flexible dans le site de liaison. La molécule requête est décomposée en fragments rigides qui se superposent au protomol. Les fragments moléculaires recouvrant tout le site de liaison [78].

- **Algorithme de docking (construction incrémentale)**

Le logiciel Surfex-dock applique un algorithme de construction incrémental dans lequel le ligand est progressivement construit dans le site de liaison (figure III.7). Dans cette stratégie, la structure chimique est initialement divisée en plusieurs fragments (figure III.7.A). Ensuite, l'une de ces pièces est sélectionnée comme fragment d'ancrage et est ancrée dans une région complémentaire du site de liaison (figure III.7.B) tandis que les fragments restants sont séquentiellement ajoutés (Figure III.7.C–E). Le processus se poursuit jusqu'à ce que le ligand entier ait été construit [79].

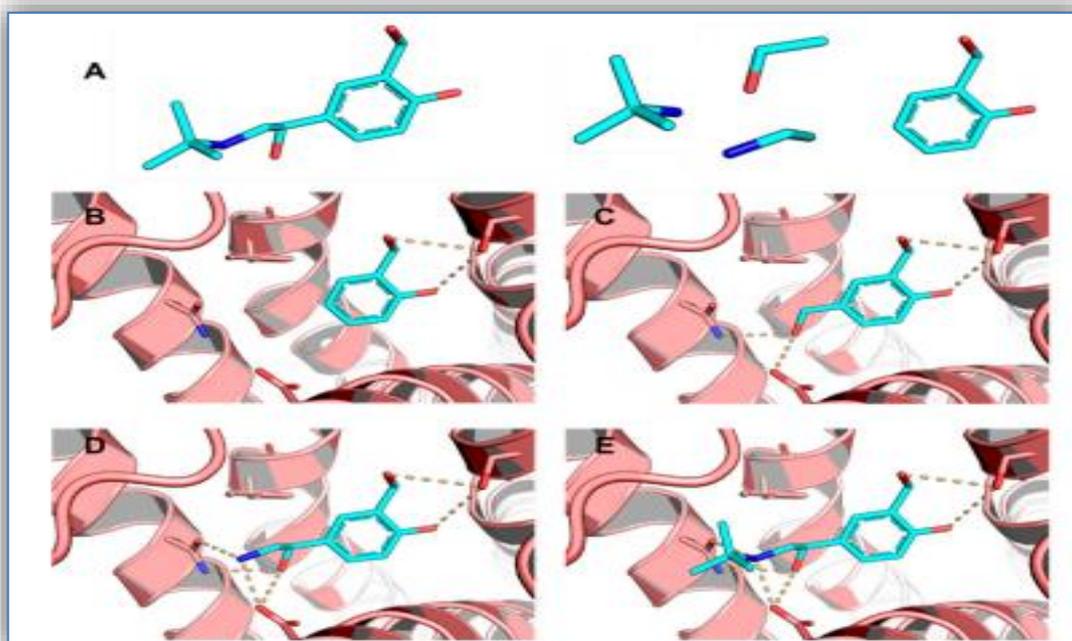


Figure III.7. La méthode de construction incrémentale [79].

(A) Le ligand est cassé en plusieurs fragments ; (B) Le fragment d'ancrage est ancré dans le site de liaison de la cible moléculaire ; (C) Le fragment suivant est amarré après le fragment d'ancrage ; (D et E) Les autres fragments sont ancrés séquentiellement pour construire le ligand entier dans sa conformation de liaison. Les résidus dans le site actif sont représentés en bâton. Les liaisons hydrogène sont indiquées par des lignes pointillées.

- **Fonction de score**

Les programmes d'amarrage moléculaire utilisent des fonctions de score pour estimer l'énergétique de liaison du complexes ligand-récepteur. La variation d'énergie, due à la formation de la structure ligand-récepteur, est donnée par la constante de liaison (K_d) et l'énergie libre de Gibbs (ΔG_L) [79]. Ce score permettra non seulement de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées, mais également de classer la meilleure pose de différents ligands pour identifier les meilleurs d'entre eux.

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique est le suivant [80] :

$$\Delta G = \Delta G \text{ complexe} - \Delta G \text{ ligand} - \Delta G \text{ protéine}$$

A decorative border with a central floral motif and symmetrical scrollwork on the top and bottom, framing the text.

Chapitre IV :
Matériel et Méthodes

L'objectif principal de notre travail est de découvrir de nouveaux inhibiteurs de la rénine en faisant appel à une étude théorique ou *in silico* qui permet de prédire la position, l'affinité, ainsi que les types d'interaction établis entre notre cible enzymatique et des petites molécules étudiées.

Afin de réaliser cette étude, nous avons utilisées des programmes installées dans trois microordinateurs qui présentent les performances suivantes :

- **Lenovo** avec un mémoire de 4.00 GO, et un processeur CORE I3 2.00 GHZ sous le système d'exploitation Windows 10 ; 64 bits version 2023.
- **HP** avec un mémoire de 6.00 GO, et un processeur 2.40 GHZ sous le système d'exploitation Windows 10 ; 64 bits version 2023.
- **Samsung** avec un mémoire de 6.00 GO, et un processeur 2.20 GHZ sous le système d'exploitation Windows 7 ; 64 bits version 2009.

I. Tests de fiabilité de programme Surfex-dock

Avant d'aborder l'étude de l'inhibition de la rénine par diverses molécules, nous avons tenté d'évaluer la fiabilité de programme Surfex-dock utilisé. Pour cela, nous avons fait appel à deux testes différents :

- L'écart quadratique moyen ou le RMSD ;
- Analyse visuelle.

I.1. Le RMSD (*Root Mean Square Deviation*)

C'est la capacité d'un programme à reproduire le mode de liaison expérimentale d'un ligand. Pour cela, un ligand dans sa structure obtenue par cristallographie aux rayons X est ancré dans son site de liaison, puis dans le mode de liaison amarré est comparé à celui obtenu expérimentalement et un RMSD entre les deux est calculé. Un bon RMSD est inférieur ou égal à 2 Å. La courante norme d'évaluation de la performance d'un amarrage le programme consiste à faire un test à partir de plusieurs centaines de complexes protéines-ligands cristallisés [81, 82].

Les calculs de RMSD ont été réalisés par Surflex-dock grâce à la commande suivante :

Surflex-dock rms final-0.mol2 ligand.mol2

Pour optimiser le RMSD on peut utiliser la commande suivante :

Surflex-dock oprms final-0.mol2 ligand.mol2

I.2. Analyses visuelles

L'analyse visuelle permet de déterminer si un ligand simulé se superpose avec le ligand Co-cristallisé. C'est le deuxième test utilisé pour juger la performance du programme Surflex-dock, montre que les modèles des ligands simulés par ce programme sont correctement placés dans le site actif de la cible enzymatique. Cela témoigne davantage de la fiabilité du logiciel utilisé pour prédire les différentes interactions enzyme-inhibiteur.

II. Criblage virtuel

II.1. Préparation de la cible enzymatique

Avant la réalisation de ce criblage par le logiciel Surflex-dock, il est nécessaire de simplifier le fichier originel de notre cible enzymatique. Le complexe 1HRN étant sous forme globulaire présente deux courtes séquences homologues, en faisant appel au programme Discovery Studio Visualizer, nous avons éliminé la chaîne B et gardé uniquement la chaîne A. Les molécules d'eau ont aussi été supprimées. L'inhibiteur 03D [(2R, 4S, 5S)-N-[(2S, 3R, 4S)-1-cyclohexyl-3,4-dihydroxy-6-methylheptan-2-yl]-2-(cyclopropylmethyl)-4,5-dihydroxy-6-phenylhexanamide] complexant l'enzyme ainsi que les autres ligands ont également été retirés (figure IV.1). Le programme Surflex-dock fonctionne mieux avec le format .mol2, donc les molécules sont protonées et transformées dans le format .mol2 par le programme Open Babel.

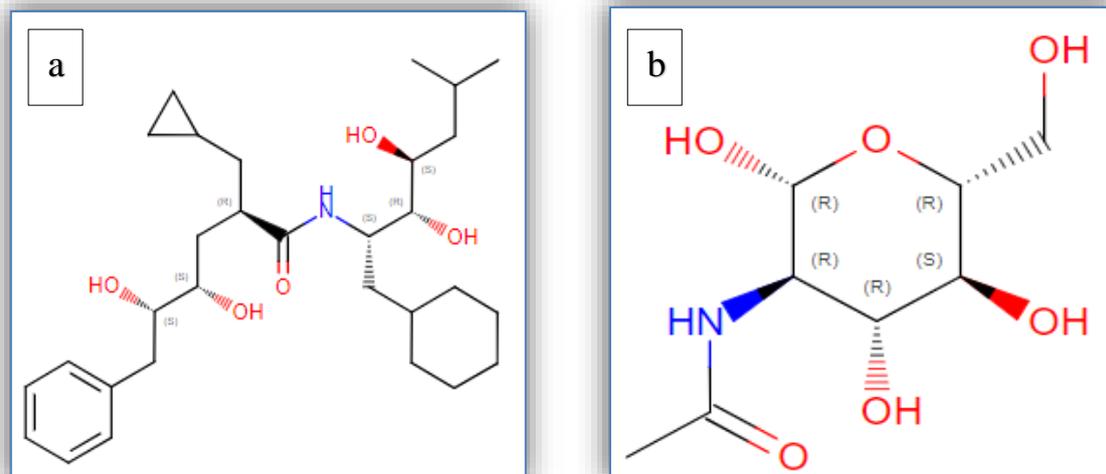


Figure IV.1. Structure des ligands existants dans le complexe 1HRN de l'enzyme rénine. a : 03D [(2R,4S,5S)-N-[(2S,3R,4S)-1-cyclohexyl-3,4-dihydroxy-6-methylheptan-2-yl]-2-(cyclopropylmethyl)-4,5-dihydroxy-6-phenylhexanamide]. b : NAG (2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose).

II.2. Préparation des ligands

Pour réaliser le criblage virtuel, nous avons fait appel à la PubChem. Nous avons téléchargée 292 similaires de l'inhibiteur de référence PZ1 sous le format .sdf puis convertis au format .mol2 par le programme Open Babel.

II.3. Réalisation du criblage virtuel

Le criblage virtuel est la stratégie utilisée dans le cadre de projets de *drug design* prospectifs pour identifier de nouveaux hits potentiels à confirmer de manière expérimentale [83]. Au cours de ce travail, nous avons réalisé un criblage *in silico* dans le but de dégager une liste restreinte des inhibiteurs potentiellement actifs à l'égard de la rénine.

La banque de donnée PubChem fournit un nombre de similaires coordonné avec le taux de similarité structurale désiré au ligand de référence. Cette dernière nous a proposé 292 composés présentant 88 % d'homologie à notre ligand de référence. Les inhibiteurs retenus suite au criblage sont ensuite soumis à une analyse visuelle pour visualiser les différentes liaisons qu'elles impliquent avec le site actif de cette enzyme.

Pour le programme Surflex-dock, nous avons utilisé le docking moléculaire semi-flexible qui tient compte de la flexibilité du ligand ou l'inhibiteur mais considère la cible enzymatique comme élément rigide.

III. Banques de données

III.1. PDB (*Protein Data Bank*)

La structure de l'enzyme rénine, objet de notre étude, provient de la Protein Data Bank (PDB). La PDB est une banque mondiale de données de structures tridimensionnelles de macromolécules biologiques, essentiellement des protéines et des acides nucléiques. Ces structures sont principalement déterminées par les deux méthodes la cristallographie à rayons X et la résonance magnétique nucléaire. Les structuralistes du monde entier sont tenus d'y déposer leurs données expérimentales, de cette façon elles appartiennent au domaine public. La consultation des structures est gratuite et peut se faire *via* l'internet. Son adresse électronique est : <http://www.rcsb.org/pdb> [84].



The screenshot displays the RCSB PDB website interface. At the top, there is a navigation bar with links for Deposit, Search, Visualize, Analyze, Download, Learn, About, Documentation, Careers, and COVID-19. The main header shows the PDB logo and statistics: 204,826 Structures from the PDB and 1,068,577 Computed Structure Models (CSM). A search bar is present with the text 'Enter search term(s), Entry ID(s), or sequence'. Below the header, there are tabs for Structure Summary, 3D View, Annotations, Experiment, Sequence, Genome, and Versions. The main content area shows the entry for 1HRN, titled 'HIGH RESOLUTION CRYSTAL STRUCTURES OF RECOMBINANT HUMAN RENIN IN COMPLEX WITH POLYHYDROXYMONOAMIDE INHIBITORS'. It includes the PDB DOI, classification as 'HYDROLASE/HYDROLASE INHIBITOR', organism as 'Homo sapiens', and deposition details. A 'wwPDB Validation' section shows a table of metrics:

Metric	Percentile Ranks	Value
Clashscore	21	
Ramachandran outliers	0.8%	
Sidechain outliers	14.2%	

Figure IV.2. Site de la base des données PDB.

III.2. PubChem

PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) est une base de données chimique publique de la National Library of Medicine (NLM), un institut des National Institutes of Health (NIH) des États-Unis. Elle collecte des informations chimiques à partir de plus de 750 sources de données et les diffuse gratuitement au public. Avec plus de quatre millions d'utilisateurs interactifs uniques par mois aux heures de pointe, PubChem est l'un des sites

Web de chimie les plus visités au monde. PubChem sert de ressource d'information clé sur les produits chimiques pour les communautés de recherche biomédicale dans de nombreux domaines tels que l'informatique chimique, la biologie chimique, la chimie médicinale et la découverte de médicaments. Il est important de noter que PubChem est largement utilisé comme source de « mégadonnées » dans les études d'apprentissage automatique et de science des données pour le dépistage virtuel [85].

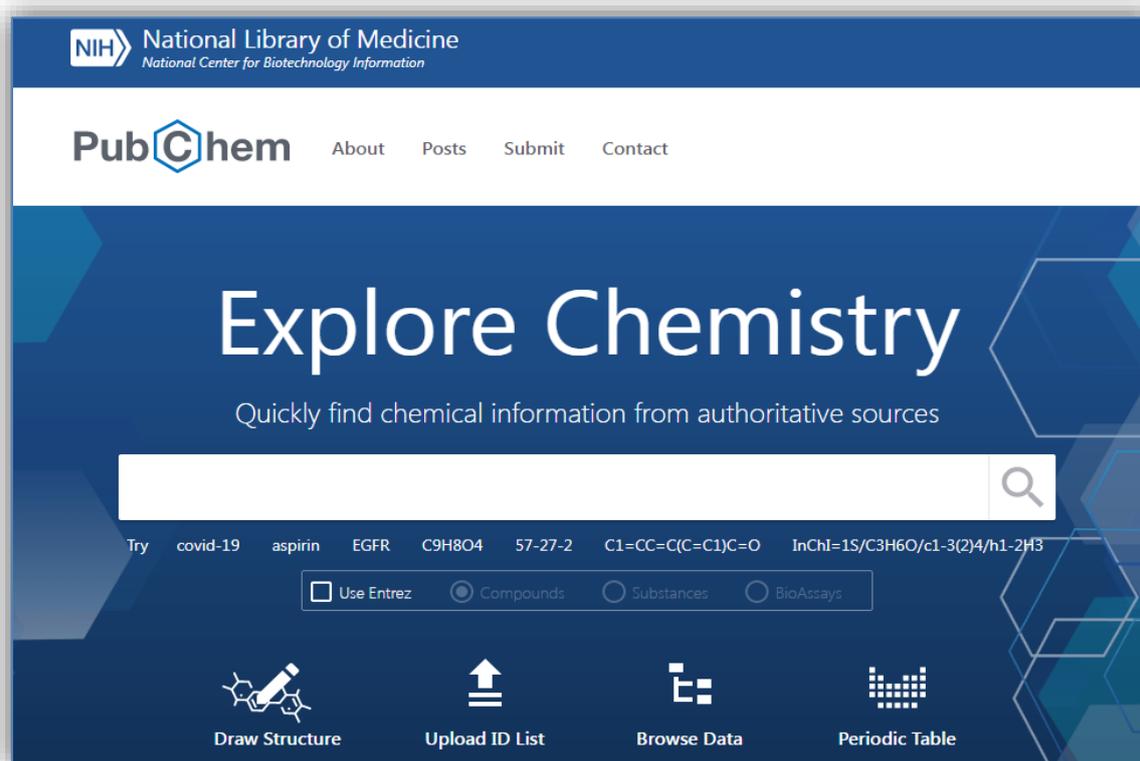


Figure IV.3. Page d'accueil de la chimiothèque PubChem.

IV. Programmes utilisés

IV.1. Surflex-dock

IV.1.1. Définition

Surflex-dock (1.3 .2005) est un algorithme d'amarrage moléculaire flexible entièrement automatique qui combine la fonction de notation du système d'amarrage Hammerhead avec un moteur de recherche qui s'appuie sur une méthode de similarité moléculaire basée sur la surface comme moyen de générer rapidement des poses putatives appropriées pour les fragments moléculaires [86].

Le docking moléculaire est réalisé en 3 étapes [76,87] :

- 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.

IV.1.2. Etapes de docking par Surflex-dock

- **Génération du protomol**

Un protomol avec la formule moléculaire mol.2 qui renforce une cible sur laquelle des ligands hypothétiques ou des fragments de ligand sont disposés. Surflex-dock utilise trois types de fragments (CH₄, C=O et NH) qu'il place dans le site actif sous différentes positions pour former un pseudo molécule appelée «protomol». La structure des protéines seule a été utilisée pour créer le protomol. L'emplacement du protomol a été identifié en mettant en évidence les résidus protéiques proches du ligand naturel [88].

Cette étape est réalisée grâce à la commande suivante :

Surflex-dock proto ligand.mol2 protéine.mol2 pl

Avant le lancement le docking ou passer au deuxième commande, il est recommandé de visualiser d'abord le *protomol* avec l'inhibiteur de référence pour s'assurer que son volume et son extension sont correctement placés au site actif de l'enzyme ciblée.

- **Docking d'un composé**

Cette étape nécessite la présence de la protéine dans format .mol2, du protomol généré par l'étape précédente et un inhibiteur dans format .mol2. L'amarrage par Surflex-dock permet de donner dix meilleures conformations de chaque ligand dans le site actif de l'enzyme ciblée, classées par leur score ou affinité (Figure IV.4.).

Pour le docking d'une seule molécule nous avons utilisé la commande :

Surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2

```

Times (total 3): search 1 align1 1 merge+chain 0 polish 1
Nconfs (final 73): 3 24 2424 2074
rot_conf -2.46 [...]
1) final-0: 2.78 (2) crash -0.77 (3) self -0.04)
final-1: 2.57 (crash -1.00 (self -0.04))
final-2: 2.36 (crash -0.25 (self -0.04))
final-3: 2.25 (crash -0.19 (self -0.04))
final-4: 2.24 (crash -1.02 (self -0.04))
final-5: 2.24 (crash -0.31 (self -0.04))
final-6: 2.23 (crash -0.19 (self -0.04))
final-7: 2.19 (crash -0.54 (self -0.04))
final-8: 2.17 (crash -0.30 (self -0.05))
final-9: 2.17 (crash -0.53 (self -0.04))

```

Figure IV.4. Résultat de docking avec Surflex-dock.

La fonction de score du programme Surflex-dock évalue et classe les poses du ligand selon leur affinité (en M^{-1}). Les résultats de docking sont générés dans un 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 [89].

IV.2. Open Babel

Est une boîte à outils chimique conçue pour parler les nombreux langages des données chimiques. Il s'agit d'un projet collaboratif ouvert permettant à quiconque de rechercher, convertir, analyser ou stocker des données issues de la modélisation moléculaire, de la chimie, de la biochimie ou de domaines connexe, Pour convertir les données chimiques d'un format à un autre (pdb, mol, mol2, sdf.....etc.) , il fournit une variété d'utilitaires utiles allant de la recherche de conformateurs et de la représentation 2D au filtrage, à la conversion par lots et recherche de sous-structure et de similarité. C'est librement disponible sous une licence open-source sur <http://openbabel.org> [90, 91].

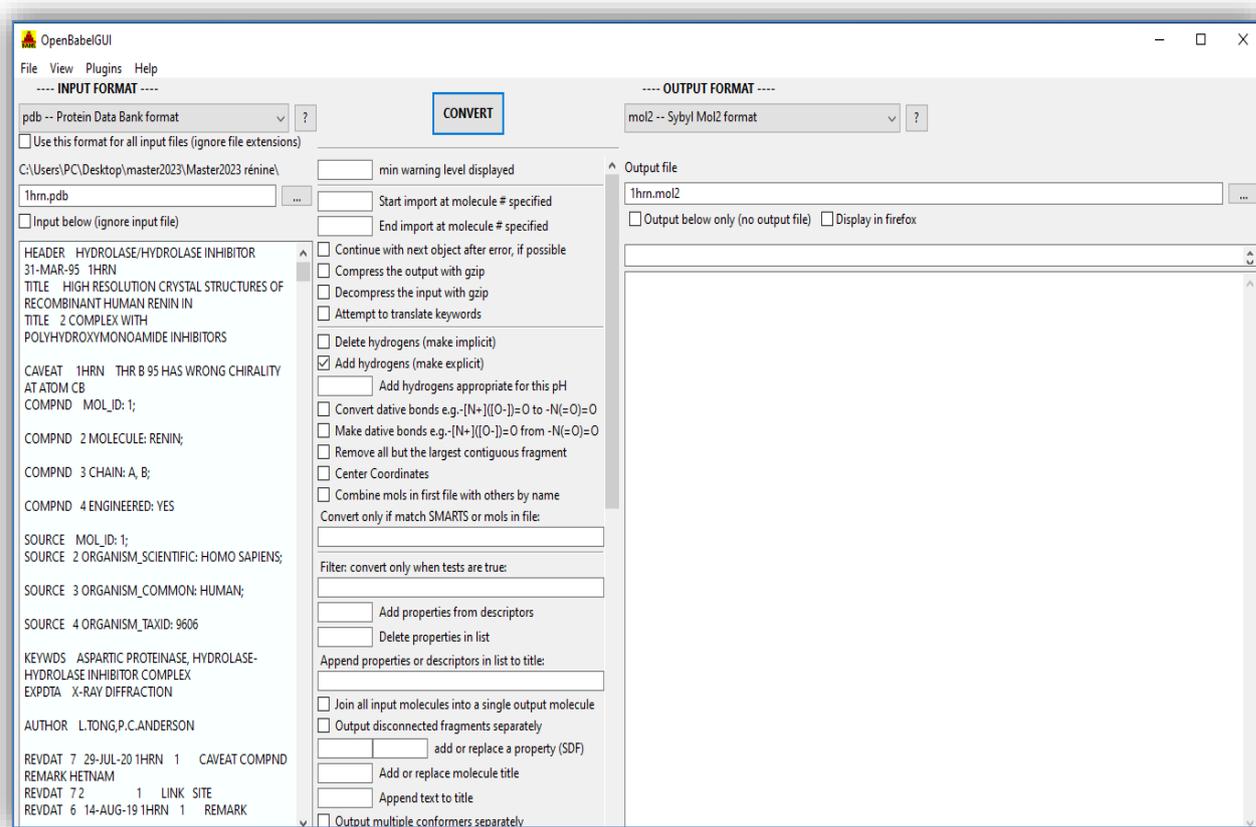


Figure IV.5. Capture d'écran du logiciel Open Babel.

IV.3. Discovery studio visualizer

Discovery Studio Visualizer version 2021.1.0.20298 est un programme libre de visualisation, est un excellent logiciel pour tous ceux qui peuvent avoir des difficultés à localiser un fichier ou un dossier spécifique permettant un affichage 3D d'une structure de molécule biologique. Ils lisent plusieurs formats de fichier (.pdb, .mol, .mol2, .sdf...etc). Ce programme propose plusieurs fonctions telles que : la présentation des liaisons chimiques (liaison hydrogène et interaction hydrophobiques), la mesure de distances interatomiques, l'annotation des acides aminés et des atomes (nom, numéro), créations de surfaces, choix de couleur (selon les atomes, les structures... etc), la capacité de cacher et puis afficher à nouveau les différentes molécules [92].

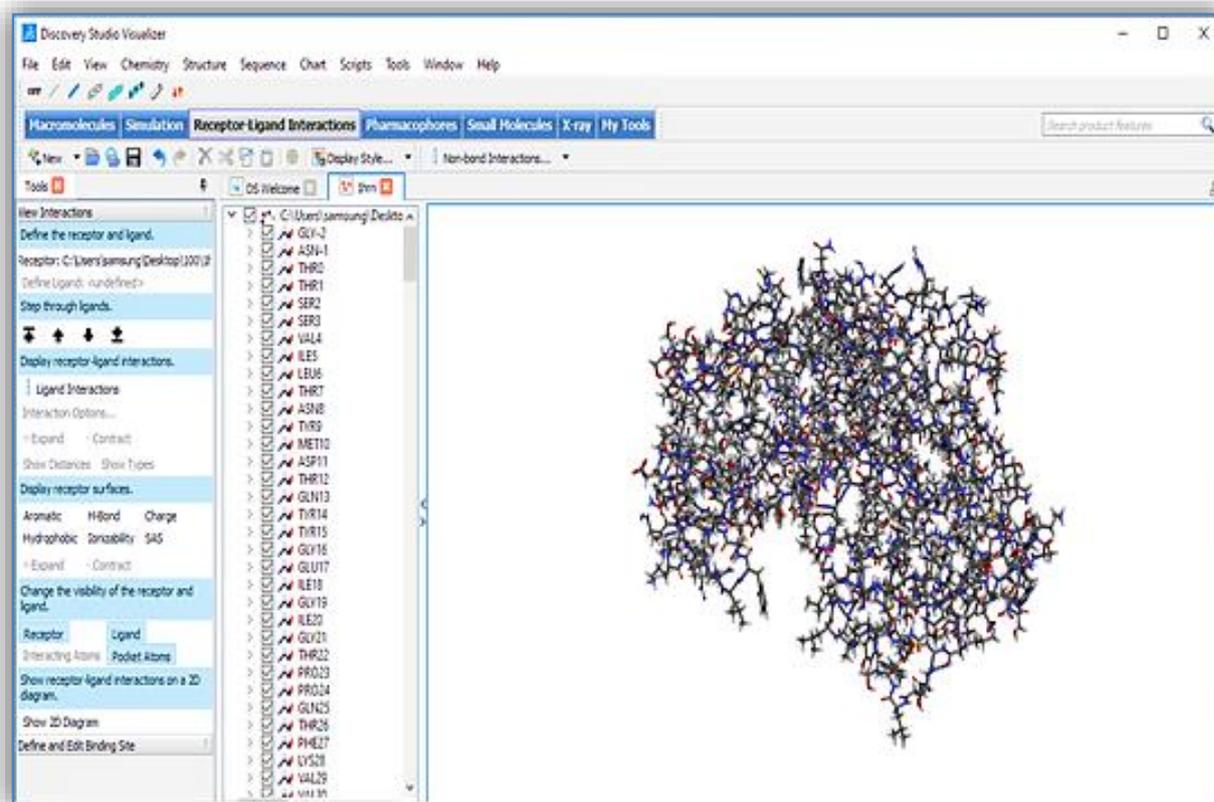


Figure IV.6. Interface graphique de logiciel Discovery studio visualizer.

IV.4. Le serveur SwissADME

SwissADME est une plateforme en ligne gratuite permettant de déterminer les propriétés physicochimiques, les propriétés pharmacocinétiques ainsi que la ressemblance d'un composé à un médicament. Une saisie et une interprétation simples et efficaces sont assurées grâce à une interface conviviale via le site internet <http://www.swissadme>. Les spécialistes, mais aussi les non experts en informatique chimique ou en chimie computationnelle peuvent prédire rapidement les paramètres clés d'un ensemble de molécules pour soutenir leurs efforts de découverte de médicaments [93].

swissadme.ch

Facebook Authentication - F... إستمارة المعلومات ... Tableau de bord ScholarOne Manus... Cancer Informatics... Language

SIB
Swiss Institute of Bioinformatics

SwissADME

Home FAQ Help Contact Terms of Use

This website allows you to compute physicochemical descriptors as well as to predict ADME parameters, pharmacokinetic properties, druglike nature and medicinal chemistry friendliness of one or multiple small molecules to support drug discovery.

The main article describing the web service and its underlying methodologies is [SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* \(2017\) 7:42717.](#)
For details about development and validation of iLOG, please refer to this article: [iLOGP: a simple, robust, and efficient description of *n*-octanol/water partition coefficient for drug design using the GB/SA approach. *J. Chem. Inf. Model.* \(2014\) 54\(12\):3284-3301.](#)
For details about development and validation of the BOILED-Egg, please refer to this article: [A BOILED-Egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. *ChemMedChem* \(2016\) 11\(11\):1117-1121.](#)

Developed and maintained by the [Molecular Modeling Group](#) of the SIB | Swiss Institute of Bioinformatics.

Enter a list of SMILES here:
C1CCC(C1)C1=CC=CC(=C1)C1=C2C=CC=CC=C1

Figure IV.7. Page d'accueil du serveur SwissADME.

IV.5. Le serveur PreADMET

PreADMET est une application Web pour la prédiction de diverses propriétés basées sur la structure conçue des composés chimiques. Il prend en charge une interface utilisateur conviviale et une architecture logicielle optimisée pour MS-Windows, qui fournissent facilement des informations numériques utiles liées à l'absorption, distribution, métabolisme, excrétion (ADME) et à la toxicité des composés chimiques, dès les premières étapes de la découverte de médicaments à l'aide de la méthode *in silico* [94].

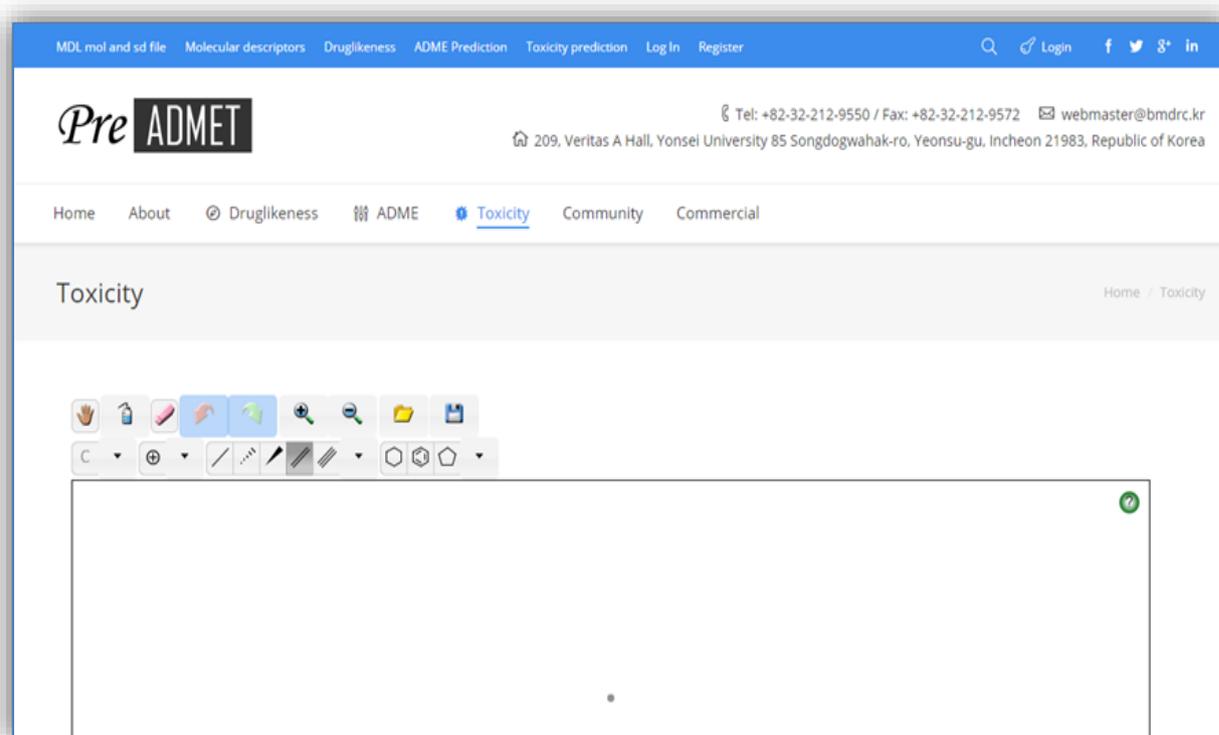


Figure IV.8. Page d'accueil du serveur PreADMET.

V. Filtrage ADME-Tox

Le profil ADME/Tox *in silico* est un outil utile pour prédire les propriétés pharmacologiques et toxicologiques des candidats médicaments, en particulier dans les phases précliniques. Pour améliorer les prédictions ADME/Tox, des modèles *in silico* ont été déployés. L'utilisation de ces modèles a spécifiquement contribué à l'optimisation des médicaments et à la prévention des échecs à un stade avancé, ce qui est également important car ces échecs entraînent un investissement improductif considérable en temps et en argent [95].

V.1. Propriétés physico-chimiques

V.1.1. Règle de *Lipinski*

En 1997, *Lipinski* et ses collègues ont développé quatre critères de règle de 5. Ces critères sont [82] :

- Un maximum de poids moléculaire ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da) ;
- Un coefficient de partage ($\log P$) ≤ 5 ;
- Un nombre de donneurs de liaisons hydrogène ≤ 5 ;

- Un nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène ≤ 10 .

Les composés dont les caractéristiques physico-chimiques ne répondent pas à au moins deux des exigences sont certainement susceptibles de présenter des problèmes d'absorption ou de perméabilité.

V.1.2. Règle de *Veber*

Les règles *Veber* suggèrent que la flexibilité moléculaire et la surface polaire (PSA) sont des déterminants importants de la biodisponibilité orale. Il est bien connu qu'une biodisponibilité orale élevée est un facteur important pour le développement de molécules bioactives en tant qu'agents thérapeutiques. La réduction de la flexibilité moléculaire (mesurée par le nombre de liaisons rotatives) et la faible surface polaire sont des prédicateurs importants de la bonne biodisponibilité orale [96]. Pour une biodisponibilité orale idéale, il existe deux autres descripteurs identifiés par *Veber* et ses collègues :

- Les liaisons rotatives sont inférieures à 10.
- La surface polaire est inférieure à 140 Å².

Le nombre de liaisons rotatives a été défini comme une simple liaison, non pas dans un cycle, liée à un atome non terminal (c'est-à-dire non hydrogène). Sont exclues les liaisons amide C-N en raison de leur barrière à l'énergie de rotation élevée. D'autre part, la surface polaire (PSA) qui est formée par des atomes polaires d'une molécule. C'est un descripteur qui montre une bonne corrélation avec le transport moléculaire passif à travers les membranes, et permet donc d'estimer les propriétés de transport des médicaments [97].

V.2. Propriétés pharmacocinétiques

La pharmacocinétique, décrite parfois comme l'action de l'organisme sur un médicament, se réfère au devenir du médicament, depuis son entrée jusqu'à sa sortie de l'organisme, l'évolution en fonction du temps de son absorption, sa biodisponibilité, sa distribution, son métabolisme, et son excrétion [98].

❖ Absorption

L'absorption est l'incorporation d'une substance par l'organisme, correspond à l'ensemble des phénomènes intervenant dans le transfert du principe actif médicamenteux depuis son site d'administration jusqu'à la circulation sanguine, la plupart des substances sont absorbées par diffusion passive à travers les membranes ; un petit nombre d'atomes et de

molécules biologiquement important est activement absorbé par les cellules. La solubilité dans les membranes étant le principal facteur affectant l'absorption [99].

❖ La perméabilité de la barrière hémato-encéphalique

La barrière hémato-encéphalique (BHE) est la structure qui forme les capillaires du système nerveux central. Le rôle majeur de la BHE est de maintenir l'homeostasie cérébrale en régulant précisément les échanges entre le sang et les tissus cérébraux. Le franchissement de la BHE par les médicaments ne peut donc être réalisé qu'au travers des cellules endothéliales (par la voie transcellulaire) et dépend de leurs propriétés physico-chimiques et ou de leur affinité pour les systèmes de transport qui sont exprimés sur la face liminale (face sanguine) ou abluminale (face cérébrale) des cellules endothéliales constituant le BHE [100].

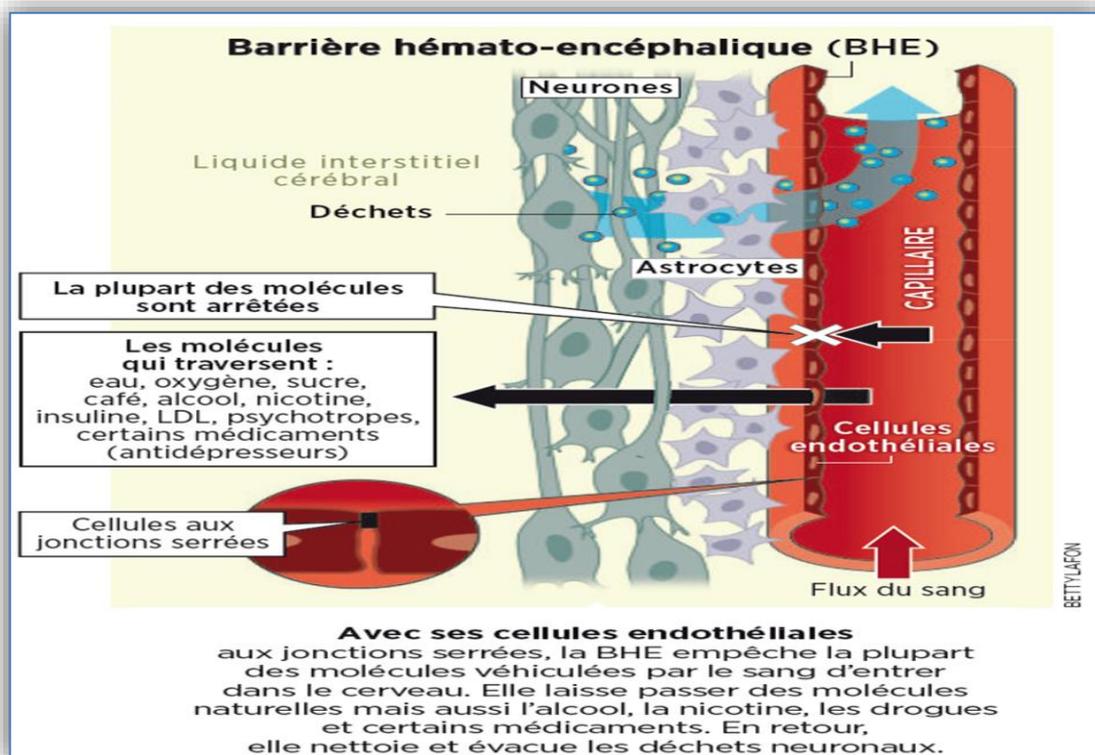


Figure IV.9. La barrière hémato-encéphalique [101].

❖ Inhibition CYP450

Les cytochromes P450 (ou CYP) sont une famille d'hémo protéines impliquées dans les réactions de phase I, lors des processus enzymatiques qui se déroulent dans les intestins et le foie. Le génome humain contient 57 gènes exprimant divers cytochromes 69.

Les isoenzymes les plus impliquées dans le métabolisme des médicaments chez l'homme sont les CYP 3A4, CYP 2D6, CYP 2C9, CYP1A2, CYP 2C19 [102].

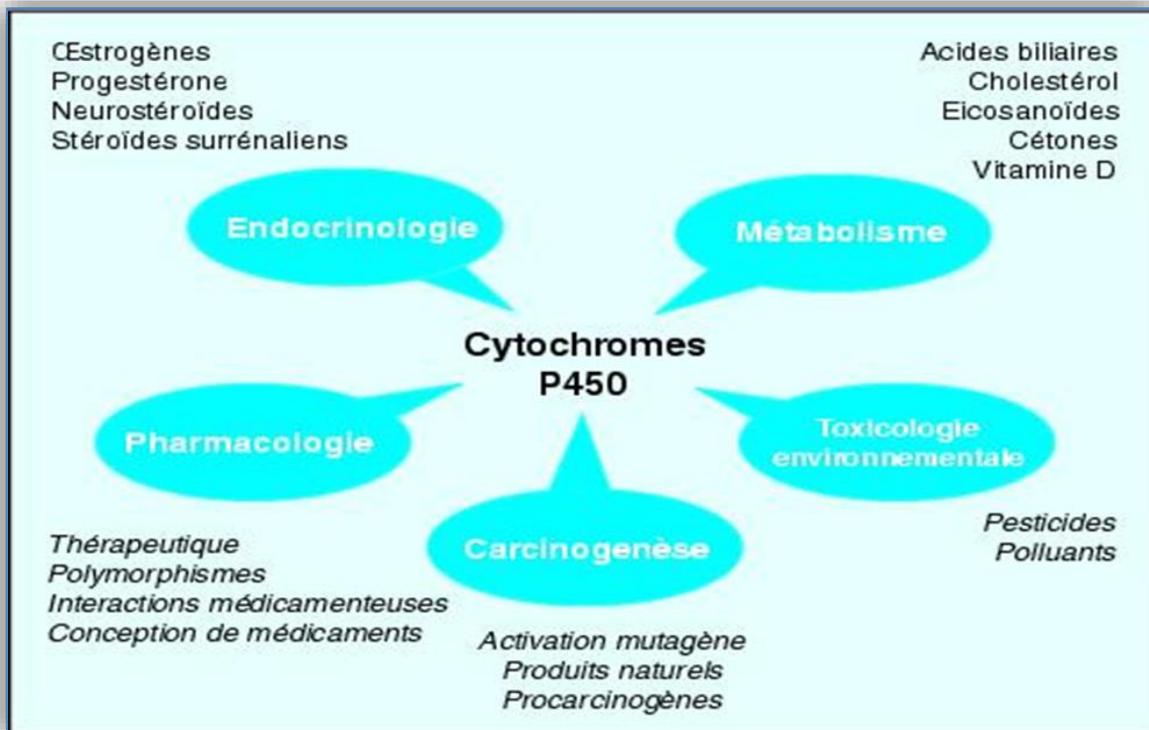


Figure IV.10. Le rôle des cytochromes P450 [103].

V.3. La Toxicité

La toxicité est la mesure de la capacité d'une substance à provoquer des effets néfastes et mauvais pour la santé sur toute forme de vie. Tous les produits chimiques n'ont pas la même toxicité. Certains doivent être absorbés en quantité importante pour causer une intoxication alors que pour d'autres, de petites doses suffisent. Elle varie selon la dose, la fréquence, la durée d'exposition, et le temps d'apparition des signes cliniques. Un candidat médicament doit présenter un profil de sécurité acceptable dans toutes les études toxicologiques requises. Plusieurs tests permettent d'étudier le profil de sécurité et les degrés des effets toxiques potentiels d'un composé qui sont [104] :

- **Génotoxicité et le test d'Ames**

Le test d'Ames est un test de mutagenèse proprement dit. Il consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *Salmonella typhimurium* [105]. Les souches utilisées dans le test sont des souches porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide

aminé histidine. Cette mutation His⁻ rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, ces mutations His⁻ reversent spontanément vers His⁺ et donc les cellules retrouvent leur capacité à pousser sur un milieu dépourvu d'histidine. Cette fréquence de réversion peut augmenter en exposant les bactéries His⁻ à des agents mutagènes. Ainsi, le test d'Ames permet de quantifier l'induction de ces mutations réverses His⁺.

Cette méthode est peu coûteuse, facile à mettre en œuvre, et permet de tester rapidement le pouvoir génotoxique d'un composé [106].

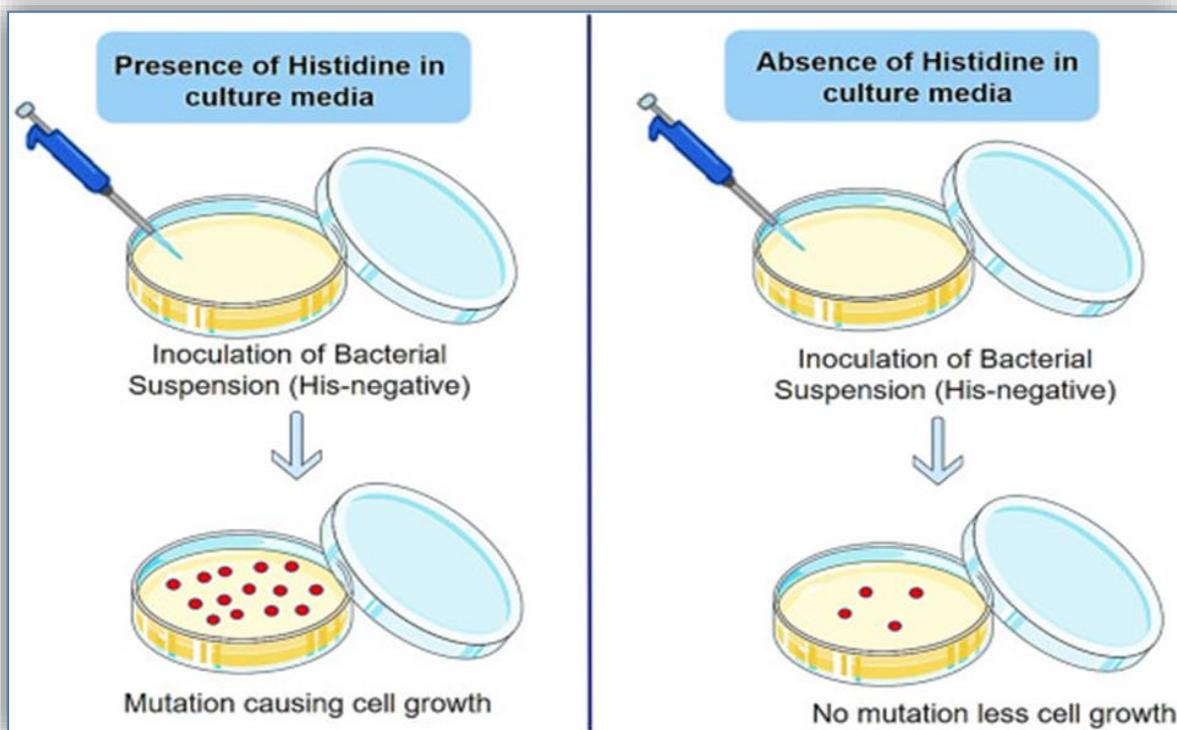


Figure IV.11. Schéma explicatif de test d'Ames [107].

- **La carcinogénicité**

Un carcinogène est un agent capable de provoquer le cancer et l'un des paramètres toxicologiques les plus préoccupants pour la santé humaine [108].

Les études de carcinogénicité sont normalement réalisées pour soutenir la demande d'autorisation de mise sur le marché d'un nouveau médicament. En cas de préoccupation réellement importante, des études de carcinogénicité doivent être effectuées pour assurer la sécurité lors des essais cliniques. Un essai clinique à plus long terme avec contrôles fréquents peut alors avoir lieu. Lorsque des médicaments sont indiqués dans le traitement de maladies

graves de l'adulte ou de l'enfant, des tests de carcinogénicité peuvent généralement être effectués après l'autorisation, en partant du principe que l'accès rapide aux médicaments est plus important pour les patients que le risque éventuel, mais il est préférable que ces tests aient lieu le plus tôt possible [109].

- **La toxicité de hERG**

Le canal hERG est l'un des nombreux canaux voltage-dépendants sélectifs au potassium qui participent au contrôle de l'activité électrique du cœur humain. La protéine hERG joue un rôle central dans le cycle de contraction/relaxation du cœur puisqu'elle forme un canal potassique ayant pour rôle d'assurer la relaxation des cardiomyocytes suite à leur excitation [110].

Les candidats-médicaments provoquent souvent un blocage indésirable du canal ionique potassium du gène humain lié à l'éther-a-go-go (hERG). Le blocage conduit au syndrome du QT long (LQTS), qui est un effet secondaire cardiaque grave mettant la vie en danger. Par conséquent, une méthode de criblage virtuel pour prédire la cardiotoxicité liée au hERG induite par les médicaments pourrait faciliter la découverte de médicaments en filtrant les candidats-médicaments toxiques [111].



Chapitre V :
Résultats et Discussions

L'objectif principal de notre recherche est de trouver des nouvelles molécules qui peuvent interagir avec une cible enzymatique qui est la rénine et qui rentre dans le traitement de l'hypertension artérielle. C'est dans ce contexte que nous avons divisé ce travail en deux parties : la première partie focalise sur les tests de fiabilité du programme de criblage Surflex-dock, et la deuxième partie servie pour l'étude des interactions intervenant dans l'inhibition de la rénine par divers inhibiteurs.

I. Testes de fiabilité du programme Surflex-dock

La fiabilité du logiciel Surflex-dock est jugée au moyen de la déviation quadratique moyenne (RMSD) de la position du ligand donnée par le logiciel par rapport au ligand de référence. De plus, il est nécessaire de faire une analyse visuelle pour confirmer les résultats du test RMSD.

I.1. Le test RMSD

L'efficacité d'un programme à prédire le positionnement exact d'un ligand dans le site actif d'une cible enzymatique est évalué par la déviation quadratique moyenne ou RMSD entre la molécule dockée ou simulée par le programme Surflex-dock et celle déterminée expérimentalement qu'on retrouve dans la PDB. Une prédiction d'un mode de liaison est considérée réussie si le RMSD est au-dessous d'une certaine valeur (généralement 2,0 Å) [112].

Ce test a été effectué sur 150 complexes protéine-ligand pris de manière aléatoire de la banque des données protéiques (PDB). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau V.1 ci-dessous ;

Tableau V.1. Liste de 150 complexes utilisés pour tester la fiabilité de logiciel Surflex-dock avec le test RMSD.

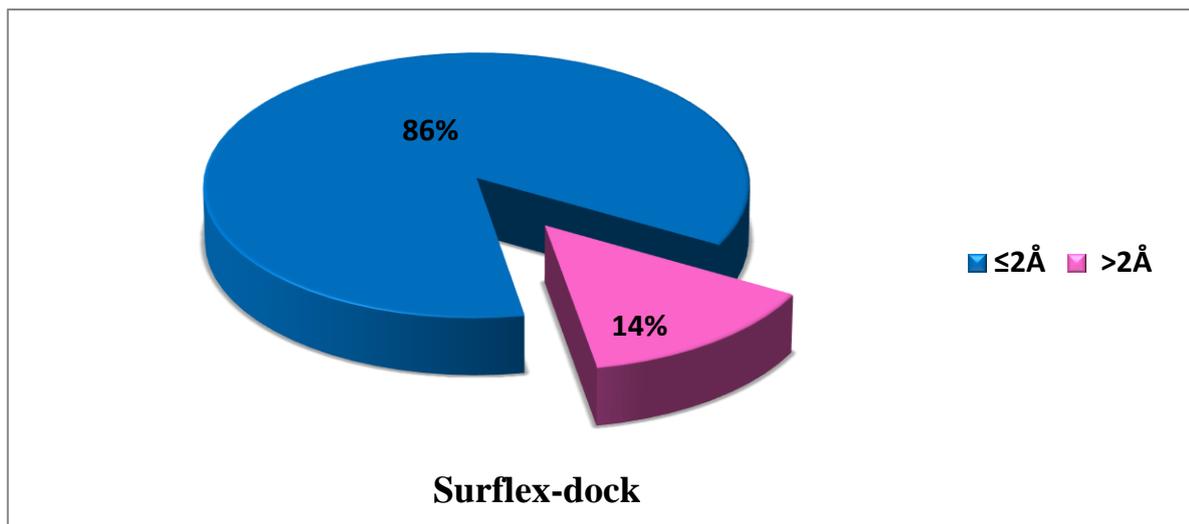
NUMERO	CODE	RMSD Å	NUMERO	CODE	RMSD Å
1	2V0Z	2.086	76	2EVM	0.064
2	1RNE	1.434	77	2GG7	1.211
3	3D91	1.889	78	2ADU	0.051
4	1HRN	1.117	79	2EVO	1.148
5	2V16	1.662	80	2OAZ	1.129

6	2V10	1.796	81	3IU8	1.242
7	2V11	1.215	82	4IU6	9.519
8	2V13	1.780	83	3FMQ	1.488
9	2V12	1.421	84	3FMR	0.515
10	3VUC	0.768	85	4U96	0.390
11	4GJ6	1.531	86	2Q93	1.352
12	4GJ7	1.158	87	5JI6	1.158
13	3OOT	2.220	88	5JFR	0.704
14	3OQF	1.684	89	1XNZ	0.083
15	3VSW	1.809	90	1YVM	0.055
16	3VSX	1.342	91	2GG0	1.636
17	4RYC	0.616	92	2GG3	0.446
18	4RYG	2.388	93	2GG2	0.155
19	3G6Z	1.883	94	6DZX	0.119
20	3KM4	0.807	95	1YW8	0.152
21	3G70	2.356	96	3I68	1.335
22	3G72	1.376	97	3I6R	0.244
23	2IKO	2.352	98	3I65	0.738
24	1BIL	0.966	99	1TV5	0.396
25	2IKU	1.079	100	4CQ8	0.795
26	2I4Q	1.177	101	4CQ9	0.739
27	3VYD	1.183	102	4CQA	0.841
28	3VYE	10.863	103	6I55	0.538
29	3VYF	0.800	104	6I4B	1.062
30	3OWN	0.846	105	4ORI	0.79

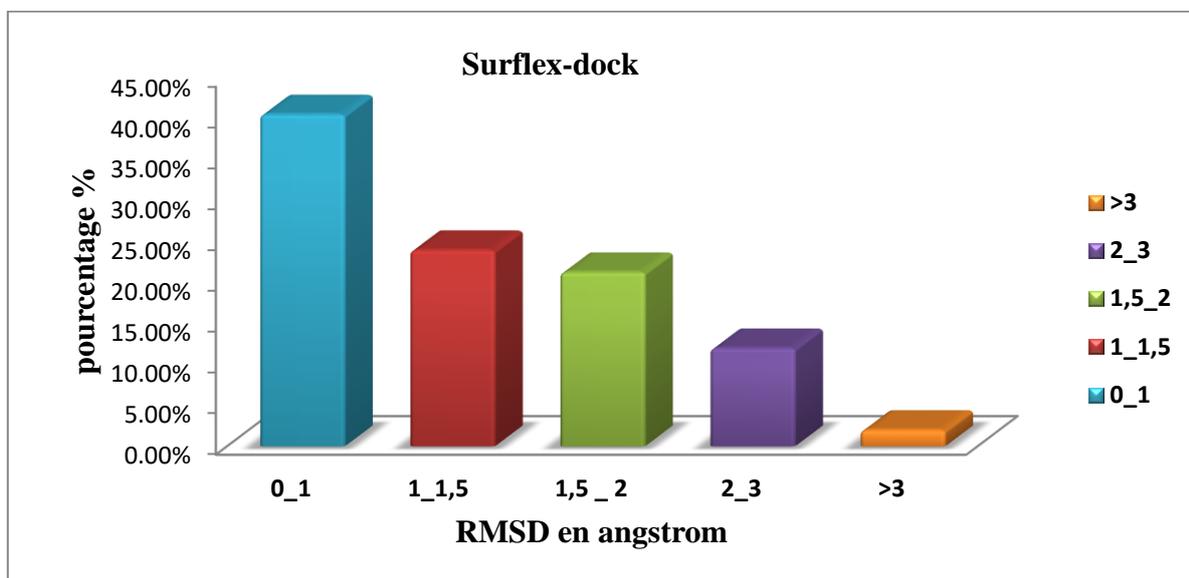
31	3Q5H	1.662	106	3SFK	1.948
32	4RZ1	0.672	107	4ORM	2.425
33	5KOQ	0.825	108	4OQV	0.622
34	4XX3	1.313	109	3ZWT	0.902
35	4XX4	1.633	110	3ZWS	1.715
36	4Q1N	1.786	111	1QZY	1.511
37	3Q4B	0.534	112	4FYR	1.261
38	4S1G	2.259	113	2GG8	1.815
39	5SXN	0.501	114	2GG9	1.708
40	5SY3	2.411	115	2GGB	1.237
41	5SZ9	1.425	116	3IU7	0.083
42	4PYV	2.553	117	3D27	1.516
43	5SY2	2.127	118	2Q96	1.185
44	5KOS	0.380	119	2Q95	1.930
45	2IL2	2.235	120	2Q94	1.62
46	5KOT	1.696	121	2Q92	1.863
47	5TMG	0.464	122	2P98	0.890
48	5TMK	1.774	123	2P9A	0.167
49	2G24	2.493	124	2GG5	0.16
50	2BKT	1.647	125	7A16	0.895
51	3GW5	0.519	126	7A12	1.494
52	3Q3T	0.449	127	7A14	0.987
53	3OQK	1.609	128	7A15	0.333
54	3SFC	1.904	129	7A16	0.895
55	4GJD	1.250	130	3B3C	0.343

56	4GJC	2.515	131	6QEF	2.154
57	4GJB	1.566	132	6QED	2.494
58	4GJA	2.505	133	6QEG	1.818
59	4GJ9	0.429	134	6QEH	0.051
60	4GJ8	0.762	135	1O3P	0.496
61	3OAG	2.166	136	1O5A	0.089
62	3O9L	1.33	137	1O5B	0.063
63	2FS4	1.066	138	1O5C	0.089
64	3OAD	0.789	139	1GI7	1.243
65	2G1O	0.937	140	1GI8	0.052
66	2G1R	2.375	141	1GI9	0.072
67	2G1S	0.327	142	1R5G	1.515
68	2BKS	1.066	143	1R5H	0.815
69	2G1Y	6.973	144	1YW7	1.182
70	1QXW	0.886	145	5LYW	1.421
71	1QXY	1.021	146	5LYX	1.308
72	1QXZ	0.892	147	2G6P	1.486
73	1WKM	0.237	148	2NQ6	1.640
74	2BB7	0.924	149	2NQ7	0.509
75	2EVC	0.063	150	4FLI	1.747

Les graphes V.1 et V.2 suivants, présentent les résultats obtenus par le programme Surfex-dock en pourcent (%), à divers intervalles de RMSD représentés par différentes couleurs.



Graphique V.1. Résultat global du RMSD en % à deux intervalles.



Graphique V.2. Résultats en % obtenus par surflex-dock à divers intervalles de RMSD (Å).

La représentation graphique V.1 de ce test montre que le logiciel Surflex-dock peut être suffisamment performant puisqu'il reproduit assez bien les résultats expérimentaux. Effectivement, parmi les 150 complexes utilisés, 129 complexes ont une valeur de RMSD inférieure ou égales à 2 Å, ce qui donne un pourcentage de 86 %. Et que seulement 21 complexes ont une valeur de RMSD supérieurs à 2 Å, ce qui donne un pourcentage de 14 %.

D'après le graphique V.2 la majorité des résultats acceptables se situe dans l'intervalle [0 – 1]. Le RMSD minimum des complexes testés est de 0.327 Å alors que le maximum est de 10.863 Å.

Notre résultat est en accord avec les résultats obtenus par Chikhi A, (2007) ou le programme Surflex-dock avec deux autres logiciels (FlexX et Arguslab) ont été testé avec l'utilisation de 126 complexes, il a montré que 88.4 % des valeurs de RMSD calculé par le surflex-dock sont inférieures ou égales à 2 Å [76]. Le même logiciel, est utilisé par Teniou S, (2012) et Boucherit H et *al*, (2014) où la performance de programme Surflex-dock a été évalué. Ils révèlent un pourcentage de 85.8 % des valeurs de RMSD inférieures ou égale à 2 Å sur 134 complexes testés pour le premier et 66% pour le second sur 144 complexes étudiés [113, 114].

I.2. Analyse Visuelle

L'analyse visuelle associée au test RMSD est une étape essentielle permettant une meilleure appréciation des résultats de RMSD obtenus avec le programme Surflex-dock. Elle permet la vérification de la superposition du ligand expérimental par rapport à celui docké et la visualisation du résultat décrit par la valeur numérique RMSD.

Les résultats du docking de trois complexes de notre cible enzymatique (la rénine), portés les codes : 2G1S, 5SY3 et 3VYE sont montrés dans les figures V.1, V.2 et V.3 suivantes. La conformation des ligands générés par le docking moléculaire (bleu) est comparée avec la pose expérimentale du ligand (rose), est montrée dans le tableau V.2 ci-dessous.

Tableau V.2. Valeurs de RMSD des 3 complexes étudiés.

Code PDB de complexe Protéine-ligand	Code de ligand	RMSD (Å)
2G1S	4IG	0.327
5SY3	74Z	2.411
3VYE	VYE	10.863

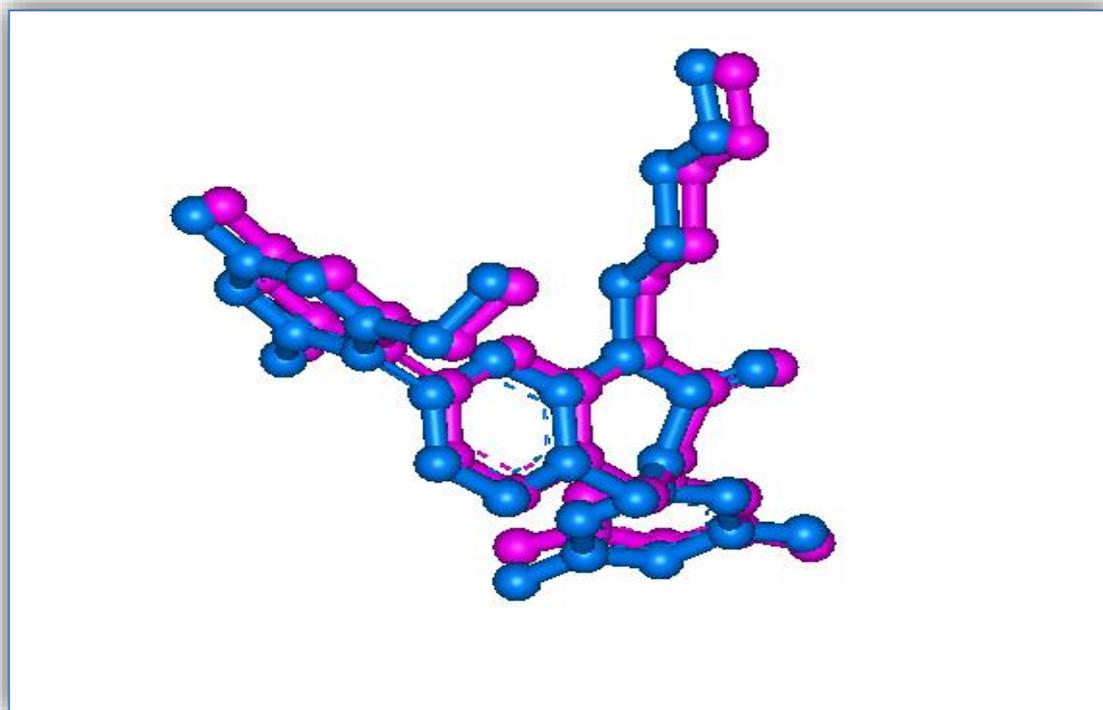


Figure V.1. Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surflex-dock (coloré en bleu) du complexe 2G1S.

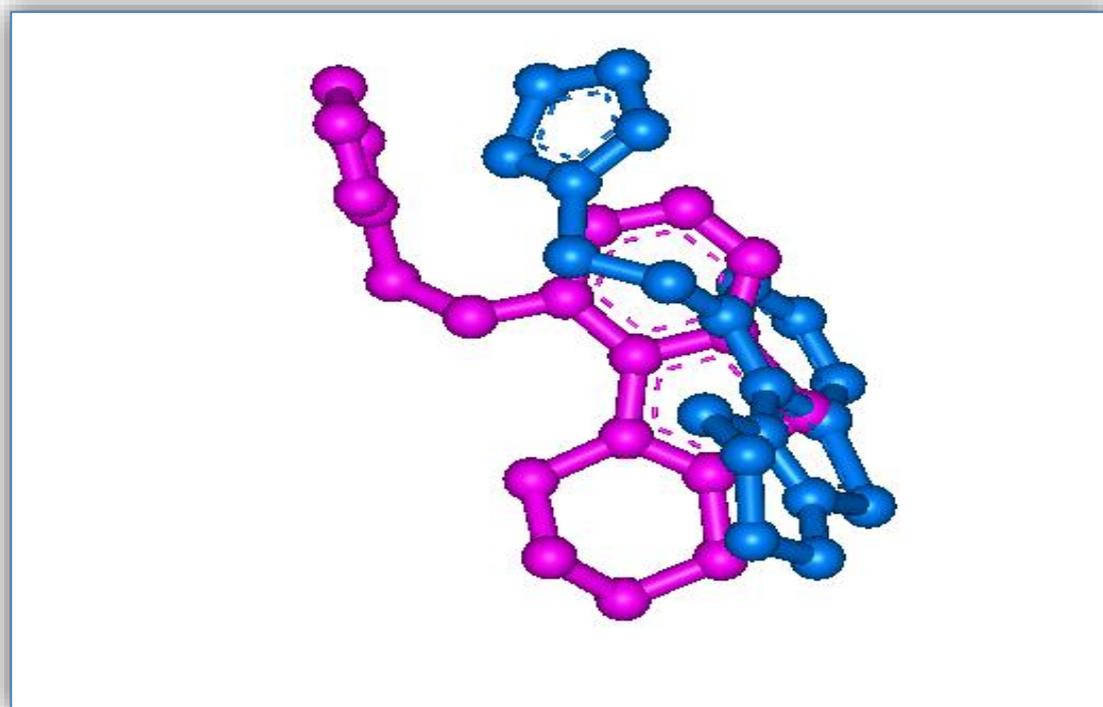


Figure V.2. Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surflex-dock (coloré en bleu) du complexe 5SY3.

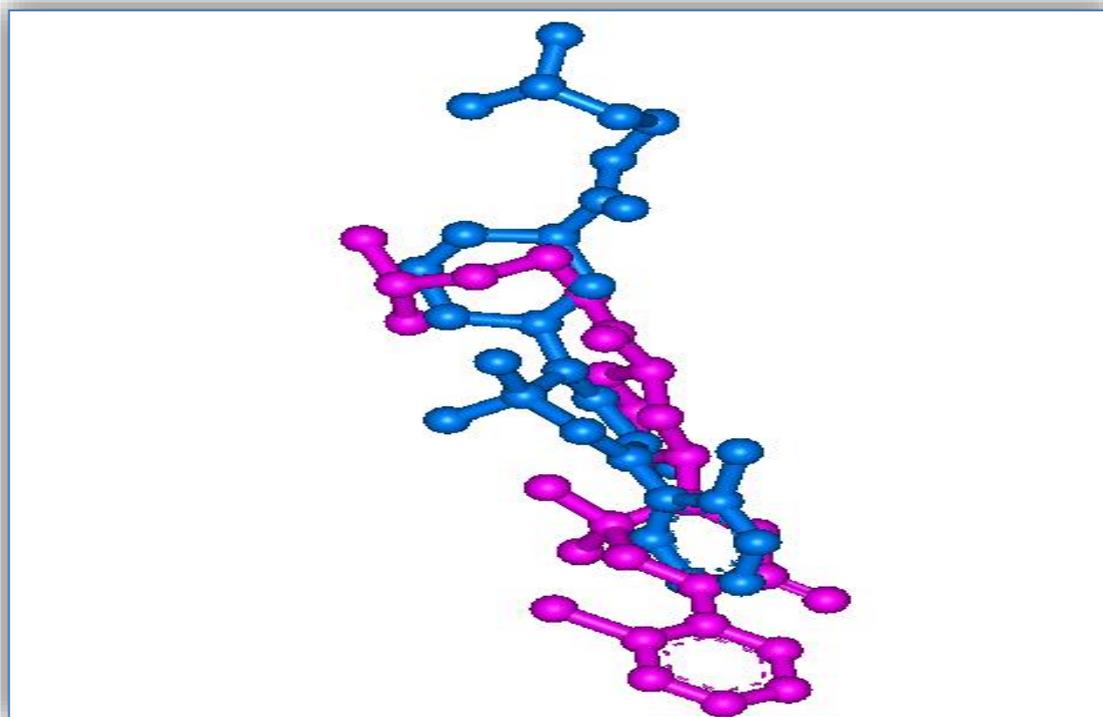


Figure V.3. Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surflex-dock (coloré en bleu) du complexe 3VYE.

- Dans le premier cas, avec un RMSD de 0.327 Å, qui se traduit visuellement par une superposition de la conformation presque parfaite de ce ligand simulé par Surflex-dock avec celui observée expérimentalement (figure V.1).
- Dans le deuxième cas, avec un RMSD de 2.411 Å, la superposition de la conformation est moindre que dans le premier cas (figure V.2).
- Dans le troisième cas, avec un RMSD de 10.863 Å, elle est mauvaise, c'est à dire le ligand simulé avec Surflex-dock se place très mal affirmant qu'il n'existe aucune superposition avec le ligand de référence (figure V.3).

I.3. Conclusion

Le test RMSD et l'analyse visuelle nous permet de conclure, que le logiciel Surflex-dock est fonctionné correctement et peut être utilisé pour prédire *in silico* et modéliser le mode d'interaction de différents inhibiteurs testés avec la cible rénine d'une part, et l'évaluation de l'affinité de complexes protéine-ligand obtenus d'autre part.

II. Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de la rénine par divers inhibiteurs provenant de la PDB

II.1. Choix du complexe 1HRN

La structure de l'enzyme rénine, objet de notre étude, provient de la PDB. Parmi les nombreux complexes de l'enzyme qu'offre cette banque (68 complexe rénine-inhibiteur), nous nous sommes choisis le code 1HRN qui possède une bonne résolution 1.80 Å qui fut notre premier critère de choix. L'autre critère pareillement de grande importance est la présence d'un inhibiteur dans le site actif de notre cible. Les caractéristiques de cette enzyme sont regroupées dans le tableau V.3 ci-dessous.

Tableau V.3. Principales caractéristiques du code 1HRN [5].

Code	Résolution Å	Facteur R	Nombre de chaîne	Nombre d'AA par chaîne	Nombre d'atome par chaîne
1HRN	1.80	0.215	A, B	326	2577

II.2. Site actif de la rénine

Le site actif est la région de l'enzyme qui permet la reconnaissance et la fixation de substrat. Ceci est essentiel pour l'activité catalytique de l'enzyme. Schématiquement, il a la forme d'une cavité ou d'un sillon dans lequel vont se fixer les substrats grâce à plusieurs liaisons chimiques faibles. Une fois fixés, les substrats vont agir et se transformer en produits. Il est constituée d'un petit nombre d'acides aminés qui le plus souvent ne sont pas contigus dans l'enchaînement de la chaîne polypeptidique. Le site actif est subdivisé en deux partis [6] :

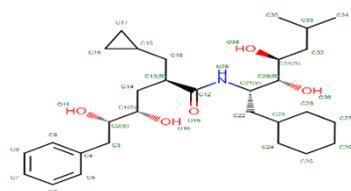
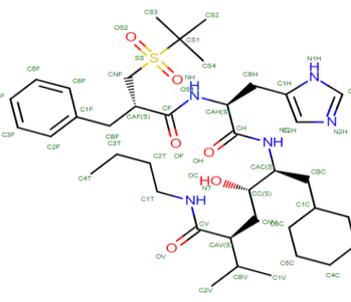
- Le site de liaison /fixation/reconnaissance : il reconnaît la complémentarité de forme avec un substrat spécifique à l'enzyme ;
- Le site catalytique : il permet la réaction transformant le substrat en produit.

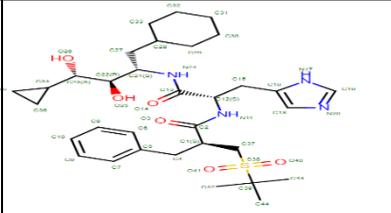
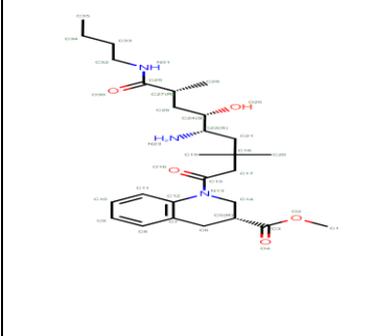
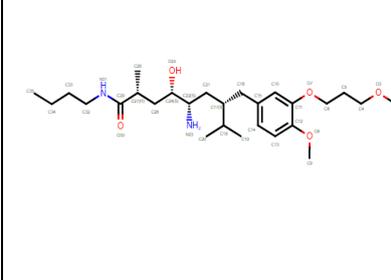
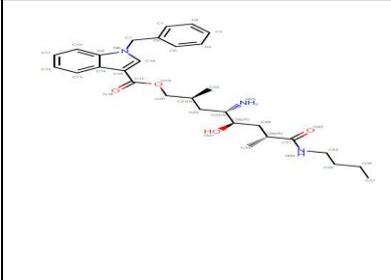
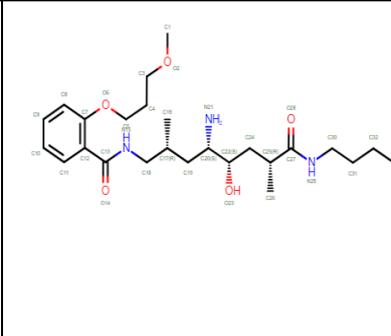
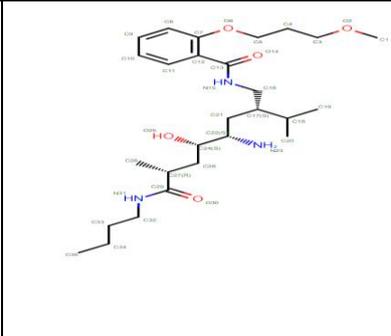
II.3. Interaction 1HRN-inhibiteur provenant de la PDB

Dans le but de découvrir de nouveaux inhibiteurs de l'enzyme rénine, nous avons étudiés, le mode d'interaction mis en place par des inhibiteurs qu'on retrouve au niveau de la PDB et de proposer le meilleur inhibiteur de notre enzyme.

Le docking de 68 molécules téléchargées à partir de la banque PDB avec le format .mol2, portant des codes différents est effectué sur la structure cristallographique 1HRN. Les résultats de docking (affinité), ainsi que les structures chimiques de ces inhibiteurs sont présentés dans le tableau V.4 suivant :

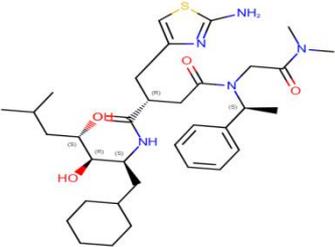
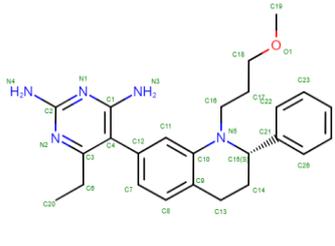
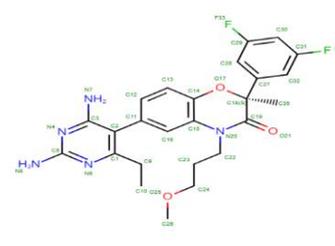
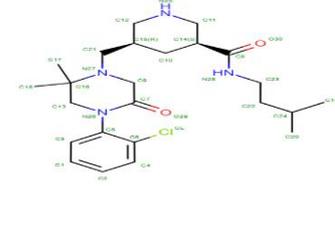
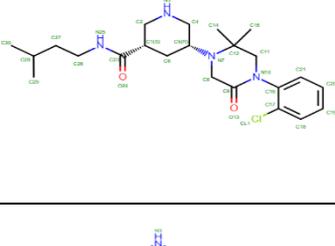
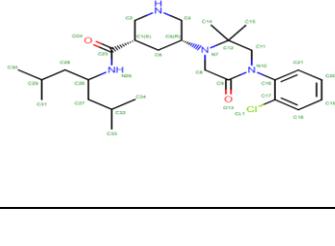
Tableau V.4. Les scores de docking (affinité) des complexes 1HRN-inhibiteur étudiés.

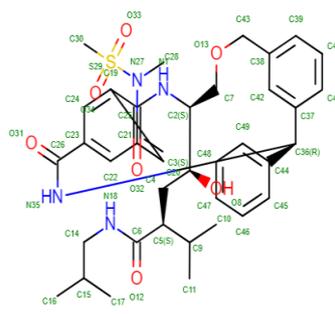
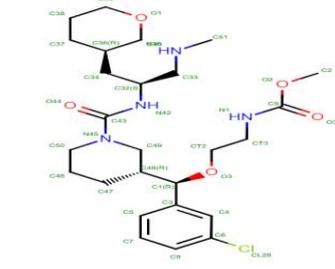
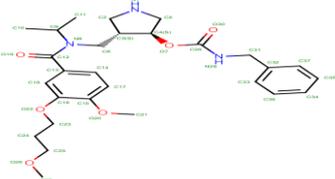
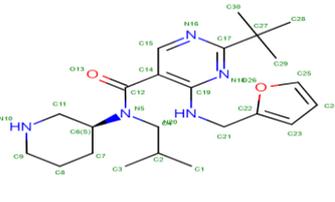
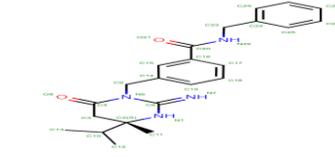
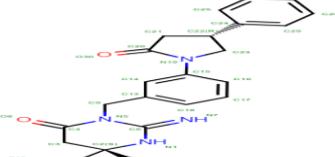
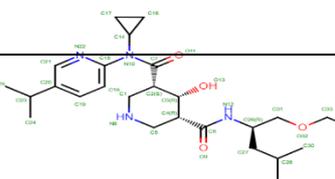
inhibiteur	Affinité (M ⁻¹)	Nom chimique	Structure chimique
03D	2.57	(2R,4S,5S)-N-[(2S,3R,4S)-1-cyclohexyl-3,4-dihydroxy-6-methylheptan-2-yl]-2-(cyclopropylmethyl)-4,5-dihydroxy-6-phenylhexanamide	
C41	0.51	(2S,4S,5S,7S)-5-amino-N-(3-amino-2,2-dimethyl-3-oxo-propyl)-4-hydroxy-7-[[4-methoxy-3-(3-methoxypropoxy)phenyl]methyl]-8-methyl-2-propan-2-yl-nonanamide	
C60	1.97	[[[3-(2-METHYL-PROPANE-2-SULFONYL)-1-BENZENYL]-2-PROPYL]-CARBONYL-HISTIDYL]-AMINO-[CYCLOHEXYLMETHYL]-[2-HYDROXY-4-ISOPROPYL]-PENTAN-5-OIC ACID BUTYLAMIDE	
REM	1.20	Nalpha-[(2S)-2-benzyl-3-(tert-	

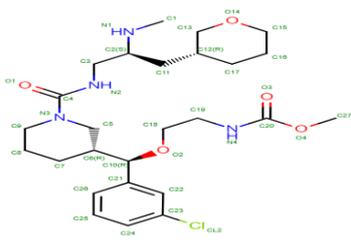
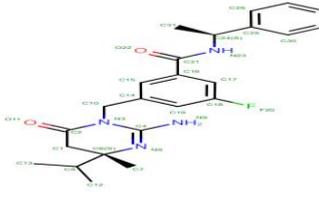
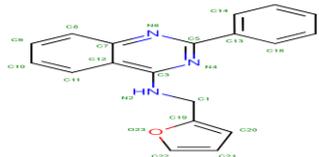
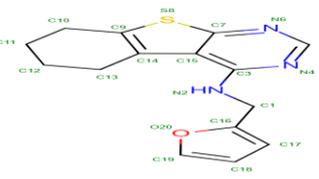
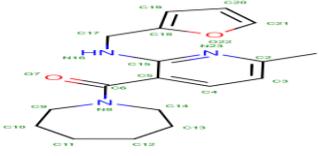
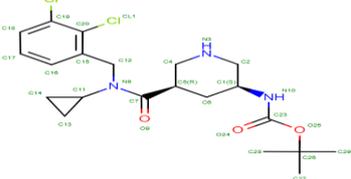
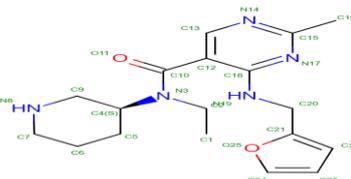
		butylsulfonyl)propanoyl]-N-[(1S,2R,3S)-1-(cyclohexylmethyl)-3-cyclopropyl-2,3-dihydroxypropyl]-L-histidinamide	
C47	1.14	METHYL (3R)-1-[(5S,6S,8R)-5-AMINO-9-BUTYLAMINO-6-HYDROXY-3,3,8-TRIMETHYL-9-OXO-NONANOYL]-3,4-DIHYDRO-2H-QUINOLINE-3-CARBOXYLATE	
C61	2.94	(2R,4S,5S,7S)-5-AMINO-N-BUTYL-4-HYDROXY-7-[4-METHOXY-3-(3-METHOXYPROPOXY)BENZYL]-2,8-DIMETHYLNONANAMIDE	
C80	4.02	(2S,4S,5R,7R)-4-AMINO-8-(BUTYLAMINO)-5-HYDROXY-2,7-DIMETHYL-8-OXOOCTYL 1-BENZYL-1H-INDOLE-3-CARBOXYLATE	
C40	4.15	N-[(2R,4S,5S,7R)-4-AMINO-8-(BUTYLAMINO)-5-HYDROXY-2,7-DIMETHYL-8-OXOOCTYL]-2-(3-METHOXYPROPOXY)BENZAMIDE	
C39	2.55	N-[(2S,4S,5S,7R)-4-AMINO-8-(BUTYLAMINO)-5-HYDROXY-7-METHYL-2-(1-METHYLETHYL)-8-OXOOCTYL]-2-(3-METHOXYPROPOXY)BENZAMIDE	

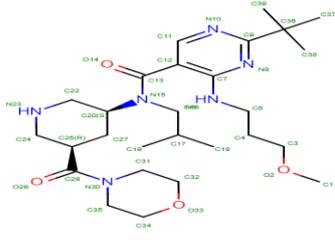
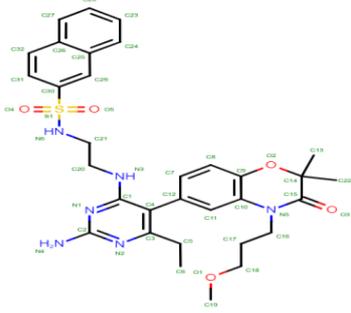
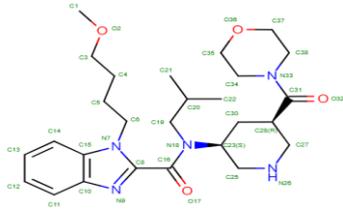
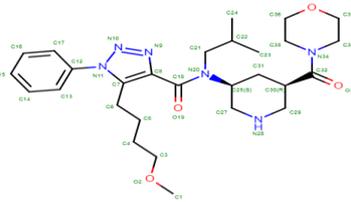
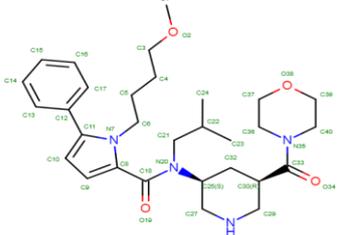
HHE	3.14	(2R,4S,5S)-5-amino-6-[4-(2-chlorophenyl)-2,2-dimethyl-5-oxopiperazin-1-yl]-2-ethyl-4-hydroxy-N-[(1R,2S,3S,5S,7S)-5-hydroxytricyclo[3.3.1.1 ^{3,7}]dec-2-yl]hexanamide	
OLS	2.23	N-[[[(3S,4S)-4-benzylpyrrolidin-3-yl]methyl]-4-chloro-N-phenylaniline	
OLT	2.90	N-[[[(3S,4S)-4-benzylpyrrolidin-3-yl]methyl]-4-methoxy-3-(3-methoxypropoxy)-N-(propan-2-yl)benzamide	
SSR	3.66	2-(3-fluoro-2-methylbenzyl)-4-methyl-1-phenyl-3-(piperazin-1-ylcarbonyl)-1H-indol-5-ol	
S51	2.87	2-benzyl-1-phenyl-3-(piperazin-1-ylcarbonyl)-1H-indole	
R31	2.28	(2S,4S,5S)-5-amino-N-(3-amino-2,2-dimethyl-3-oxopropyl)-4-hydroxy-6-{4-[2-(3-methoxypropoxy)phenyl]-3-oxopiperazin-1-yl}-2-(propan-2-yl)hexanamide	
R32	3.35	(2S,4S,5S)-5-amino-N-(3-amino-2,2-dimethyl-3-oxopropyl)-6-[4-(2-chlorophenyl)-2,2-dimethyl-5-oxopiperazin-1-yl]-4-hydroxy-2-(propan-2-yl)hexanamide	
3ZK	2.82	4-methoxy-3-(3-methoxypropoxy)-N-[[[(3S,4S)-4-[[[4-methylphenyl]sulfonyl]amino]pyrrol	

		idin-3-yl)methyl}-N-(propan-2-yl)benzamide	
3ZJ	2.47	N-((3S,4S)-4-[(benzylsulfonyl)amino]pyrrolidin-3-yl)methyl)-4-methoxy-3-(3-methoxypropoxy)-N-(propan-2-yl)benzamide	
A7T	1.68	(1R,5S)-N-cyclopropyl-7-{4-[2-(2,6-dichloro-4-methylphenoxy)ethoxy]phenyl}-N-(2,3-dimethylbenzyl)-3,9-diazabicyclo[3.3.1]non-6-ene-6-carboxamide	
22X	3.13	(3R)-3-[(1S)-4-(acetylamino)-1-(3-chlorophenyl)-1-hydroxybutyl]-N-[(1S)-2-cyclohexyl-1-[(methylamino)methyl]ethyl]piperidine-1-carboxamide	
A5T	2.32	(1R,5S)-7-{4-[3-(2-chloro-3,6-difluorophenoxy)propyl]phenyl}-N-cyclopropyl-N-(2,3-dichlorobenzyl)-3,9-diazabicyclo[3.3.1]non-6-ene-6-carboxamide	
A6T	1.32	(1S,5R)-7-{4-[3-(2-chloro-3,6-difluorophenoxy)propyl]phenyl}-N-cyclopropyl-N-(2,3-dichlorobenzyl)-3,9-diazabicyclo[3.3.1]non-6-ene-6-carboxamide	
7IG	4.12	5-{4-[(3,5-DIFLUOROBENZYL)AMINO]PHENYL}-6-ETHYLPYRIMIDINE-2,4-DIAMINE	

<p>OIU</p>	<p>2.30</p>	<p>(2S)-2-[(2-amino-1,3-thiazol-4-yl)methyl]-N~1~-[(1S,2R,3R)-1-(cyclohexylmethyl)-2,3-dihydroxy-5-methylhexyl]-N~4~-[2-(dimethylamino)-2-oxoethyl]-N~4~-[(1S)-1-phenylethyl]butanediamide</p>	
<p>LIY</p>	<p>2.45</p>	<p>6-ETHYL-5-[(2S)-1-(3-METHOXYPROPYL)-2-PHENYL-1,2,3,4-TETRAHYDROQUINOLIN-7-YL]PYRIMIDINE-2,4-DIAMINE</p>	
<p>UA4</p>	<p>3.27</p>	<p>(2S)-6-(2,4-DIAMINO-6-ETHYLPYRIMIDIN-5-YL)-2-(3,5-DIFLUOROPHENYL)-4-(3-METHOXYPROPYL)-2-METHYL-2H-1,4-BENZOXAZIN-3(4H)-ONE</p>	
<p>VYD</p>	<p>3.92</p>	<p>(3S,5R)-5-{[4-(2-chlorophenyl)-2,2-dimethyl-5-oxopiperazin-1-yl]methyl}-N-(3-methylbutyl)piperidine-3-carboxamide</p>	
<p>VYE</p>	<p>4.43</p>	<p>(3S,5R)-5-[4-(2-chlorophenyl)-2,2-dimethyl-5-oxopiperazin-1-yl]-N-(3-methylbutyl)piperidine-3-carboxamide</p>	
<p>VYF</p>	<p>1.73</p>	<p>(3S,5R)-5-[4-(2-chlorophenyl)-2,2-dimethyl-5-oxopiperazin-1-yl]-N-(2,6-dimethylheptan-4-yl)piperidine-3-carboxamide</p>	

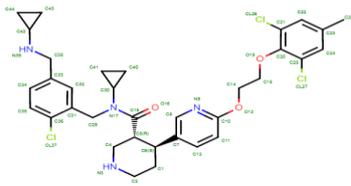
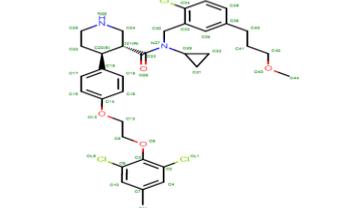
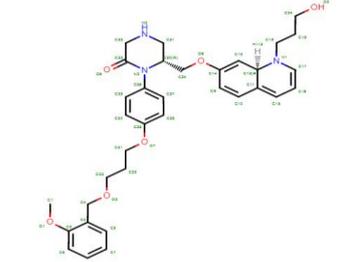
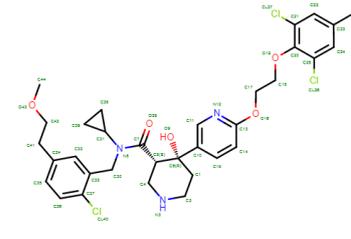
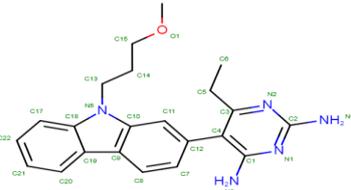
<p>30X</p>	<p>0.75</p>	<p>(2S,4S)-4-hydroxy-2-(1-methylethyl)-4-[(4R,13S)-18-[methyl(methylsulfonyl)amino]-2,15-dioxo-4-phenyl-11-oxa-3,14-diazatricyclo[14.3.1.1~5,9~]henicos-1(20),5(21),6,8,16,18-hexaen-13-yl]-N-(2-methylpropyl) butanamide</p>	
<p>RX6</p>	<p>3.52</p>	<p>methyl (2-{(R)-(3-chlorophenyl)[(3R)-1-((2S)-1-(methylamino)-3-[(3R)-tetrahydro-2H-pyran-3-yl]propan-2-yl} carbamoyl)piperidin-3-yl)methoxy} ethyl) carbamate</p>	
<p>3ZN</p>	<p>2.33</p>	<p>(3S,4S)-4-({[4-methoxy-3-(3-methoxypropoxy)benzoyl](propan-2-yl)amino}methyl)pyrrolidin-3-yl benzylcarbamate</p>	
<p>6VR</p>	<p>3.83</p>	<p>2-~{tert}-butyl-4-(furan-2-ylmethylamino)-~{N}-(2-methylpropyl)-~{N}-[(3~{S})-piperidin-3-yl]pyrimidine-5-carboxamide</p>	
<p>70X</p>	<p>2.49</p>	<p>N-benzyl-3-{[(2Z,4S)-2-imino-4-methyl-6-oxo-4-(propan-2-yl)tetrahydropyrimidin-1(2H)-yl]methyl}benzamide</p>	
<p>70Y</p>	<p>3.02</p>	<p>(2Z,6S)-2-imino-6-methyl-3-{3-[(4R)-2-oxo-4-phenylpyrrolidin-1-yl]benzyl}-6-(propan-2-yl)tetrahydropyrimidin-4(1H)-one</p>	
<p>2Y9</p>	<p>1.40</p>	<p>(3S,4R,5R)-N-cyclopropyl-N'-[(2R)-</p>	

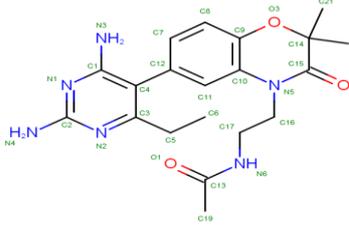
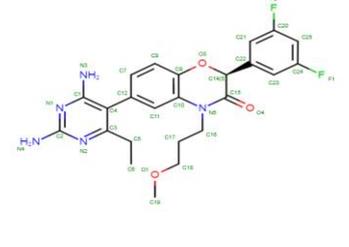
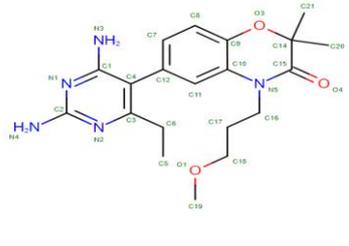
		1-ethoxy-4-methylpentan-2-yl]-4-hydroxy-N-[5-(propan-2-yl)pyridin-2-yl]piperidine-3,5-dicarboxamide	
RX5	1.84	methyl (2-{(R)-(3-chlorophenyl)[(3R)-1-((2S)-2-(methylamino)-3-[(3R)-tetrahydro-2H-pyran-3-yl]propyl} carbamoyl)piperidin-3-yl] methoxy)ethyl) carbamate	
43T	2.89	3-{[(4S)-2-amino-4-methyl-6-oxo-4-(propan-2-yl)-5,6-dihydropyrimidin-1(4H)-yl]methyl}-5-fluoro-N-[(1S)-1-phenylethyl]benzamide	
74U	3.43	N-[(furan-2-yl)methyl]-2-phenylquinazolin-4-amine	
74Z	4.35	N-[(furan-2-yl)methyl]-5,6,7,8-tetrahydro[1]benzothieno[2,3-d]pyrimidin-4-amine	
74Y	3.15	(azepan-1-yl)(2-{[(furan-2-yl)methyl]amino}-6-methylpyridin-3-yl)methanone	
2XF	3.10	tert-butyl {(3S,5R)-5-[cyclopropyl(2,3-dichlorobenzyl)carbamoyl]piperidin-3-yl} carbamate	
74V	3.37	N-ethyl-4-{[(furan-2-yl)methyl]amino}-2-methyl-N-[(3S)-piperidin-3-yl]pyrimidine-5-carboxamide	

<p>6VS</p>	<p>4.13</p>	<p>2-~{tert}-butyl-4-(3-methoxypropylamino)-~{N}-(2-methylpropyl)-~{N}-[(3~{S},5~{R})-5-morpholin-4-ylcarbonylpiperidin-3-yl]pyrimidine-5-carboxamide</p>	
<p>LIX</p>	<p>2.06</p>	<p>N-[2-((2-AMINO-6-ETHYL-5-[4-(3-METHOXYPROPYL)-2,2-DIMETHYL-3-OXO-3,4-DIHYDRO-2H-1,4-BENZOXAZIN-6-YL]PYRIMIDIN-4-YL)AMINO)ETHYL]NAPHTHALENE-2-SULFONAMIDE</p>	
<p>6VU</p>	<p>3.12</p>	<p>1-(4-methoxybutyl)-~{N}-(2-methylpropyl)-~{N}-[(3~{S},5~{R})-5-morpholin-4-ylcarbonylpiperidin-3-yl]benzimidazole-2-carboxamide</p>	
<p>7EK</p>	<p>4.45</p>	<p>5-(4-methoxybutyl)-N-(2-methylpropyl)-N-[(3S,5R)-5-(morpholine-4-carbonyl)piperidin-3-yl]-1-phenyl-1H-1,2,3-triazole-4-carboxamide</p>	
<p>7EJ</p>	<p>2.35</p>	<p>1-(4-methoxybutyl)-N-(2-methylpropyl)-N-[(3S,5R)-5-(morpholine-4-carbonyl)piperidin-3-yl]-5-phenyl-1H-pyrrole-2-carboxamide</p>	

7IG	3.78	5-{4-[(3,5-DIFLUOROBENZYL)AMINO]PHENYL}-6-ETHYLPYRIMIDINE-2,4-DIAMINE	
RPF	5.96	1-{4-[3-(2-METHOXY-BENZYLOXY)-PROPOXY]-PHENYL}-6-(1,2,3,4-TETRAHYDRO-QUINOLIN-7-YLOXYMETHYL)-PIPERAZIN-2-ONE	
72X	2.49	(3R)-3-[(1S)-1-(3-chlorophenyl)-1-hydroxy-5-methoxypentyl]-N-[(1S)-2-cyclohexyl-1-[(methylamino)methyl]ethyl]piperidine-1-carboxamide	
RX0	1.85	[(1S,3R,4S)-3-amino-4-hydroxycyclopentyl]{(3R)-3-[(1S)-1-(biphenyl-2-yl)-1-hydroxy-5-methoxypentyl]piperidin-1-yl}methanone	
S52	3.55	2-phenoxy-1-phenyl-3-(piperazin-1-ylcarbonyl)-1H-indole	
S53	4.40	[7-benzyl-2-(5-fluoro-2-methylphenoxy)-1-phenyl-1H-pyrrolo[2,3-c]pyridin-3-yl](piperazin-1-yl)methanone	

0N0	3.46	(3S,5R)-N-[[9-(4-methoxybutyl)-9H-xanthen-9-yl]methyl]-5-[[4-methylphenyl)sulfonyl]amino]piperidine-3-carboxamide	
0MJ	3.41	(3S,5R)-5-[[4-methylphenyl)sulfonyl]amino]-N-(9H-xanthen-9-ylmethyl)piperidine-3-carboxamide	
0ME	3.45	(3S)-N-(9H-xanthen-9-ylmethyl)piperidine-3-carboxamide	
0M3	2.85	(3S,5R)-N-(2,2-diphenylethyl)-5-[[4-methylphenyl)sulfonyl]amino]piperidine-3-carboxamide	
0M2	2.98	(2R)-1-(3,8-dihydrodibenzo[b,f]pyrrolo[3,4-d]azepin-2(1H)-yl)propan-2-ol	
0LW	2.87	(2R)-1-(pyrrolidin-1-yl)-3-(9H-thioxanthen-9-yl)propan-2-ol	

<p>LPQ</p>	<p>2.08</p>	<p>(3R,4S)-N-{2-chloro-5-[(cyclopropylamino)methyl]benzyl}-N-cyclopropyl-4-{6-[2-(2,6-dichloro-4-methylphenoxy)ethoxy]pyridin-3-yl}piperidine-3-carboxamide</p>	
<p>LPN</p>	<p>3.40</p>	<p>(3R,4S)-N-[2-chloro-5-(3-methoxypropyl)benzyl]-N-cyclopropyl-4-{4-[2-(2,6-dichloro-4-methylphenoxy)ethoxy]phenyl}piperidine-3-carboxamide</p>	
<p>PZ1</p>	<p>6.49</p>	<p>(6R)-6-([1-(3-HYDROXYPROPYL)-1,7-DIHYDROQUINOLIN-7-YL]OXY)METHYL)-1-(4-{3-[(2-METHOXYBENZYL)OXY]PROPOXY}PHENYL)PIPERAZIN-2-ONE</p>	
<p>LPO</p>	<p>2.25</p>	<p>(3S,4R)-N-[2-chloro-5-(2-methoxyethyl)benzyl]-N-cyclopropyl-4-{6-[2-(2,6-dichloro-4-methylphenoxy)ethoxy]pyridin-3-yl}-4-hydroxypiperidine-3-carboxamide</p>	
<p>2IG</p>	<p>3.26</p>	<p>6-ETHYL-5-[9-(3-METHOXYPROPYL)-9H-CARBAZOL-2-YL]PYRIMIDINE-2,4-DIAMINE</p>	

3IG	1.72	N-{2-[6-(2,4-DIAMINO-6-ETHYLPYRIMIDIN-5-YL)-2,2-DIMETHYL-3-OXO-2,3-DIHYDRO-4H-1,4-BENZOXAZIN-4-YL]ETHYL}ACETAMIDE	
4IG	2.84	2S)-6-(2,4-DIAMINO-6-ETHYLPYRIMIDIN-5-YL)-2-(3,5-DIFLUOROPHENYL)-4-(3-METHOXYPROPYL)-2H-1,4-BENZOXAZIN-3(4H)-ONE	
5IG	2.00	6-(2,4-DIAMINO-6-ETHYLPYRIMIDIN-5-YL)-4-(3-METHOXYPROPYL)-2,2-DIMETHYL-2H-1,4-BENZOXAZIN-3(4H)-ONE	

D'après le tableau V.4, il est utile de rappeler que parmi les 68 inhibiteurs dockés, le composé PZ1 dont le nom chimique (6R)-6-([1-(3-HYDROXYPROPYL)-1,7-DIHYDROQUINOLIN-YL]OXY)METHYL)-1-(4-{3[(2METHOXYBENZYL)OXY]PROMETHYL}PHENYL)PIPERAZIN-2-ONE avec une affinité égale à 6.49 M^{-1} se présente comme l'inhibiteur le plus puissant de la rénine. Pour cela nous avons choisi ce composé comme modèle afin d'interpréter leurs différentes interactions établies entre la rénine et cet inhibiteur.

II.4. Analyse visuelle des interactions « 1HRN-inhibiteur PZ1 »

II.4.1. Interaction complexe 1HRN- PZ1

Dans la perspective de proposer de nouveaux inhibiteurs de la rénine, il nous a semblé judicieux d'étudier, en premier lieu, le mécanisme d'inhibition mis en place par le meilleur inhibiteur de notre cible enzymatique. Il s'agit de la molécule PZ1 issue de la PDB dont l'affinité égale à 6.49 M^{-1} . La visualisation des interactions de ce composé au sein du site actif de la rénine a été réalisée à l'aide des programmes Discovery Studio Visualizer pour visualiser et analyser le nombre et le type de liaison formant ce complexe (Figure V.5)

L'avantage majeur de ce programme est de donner des informations détaillées sur les liaisons hydrogène ainsi que les interactions hydrophobiques établies. En effet :

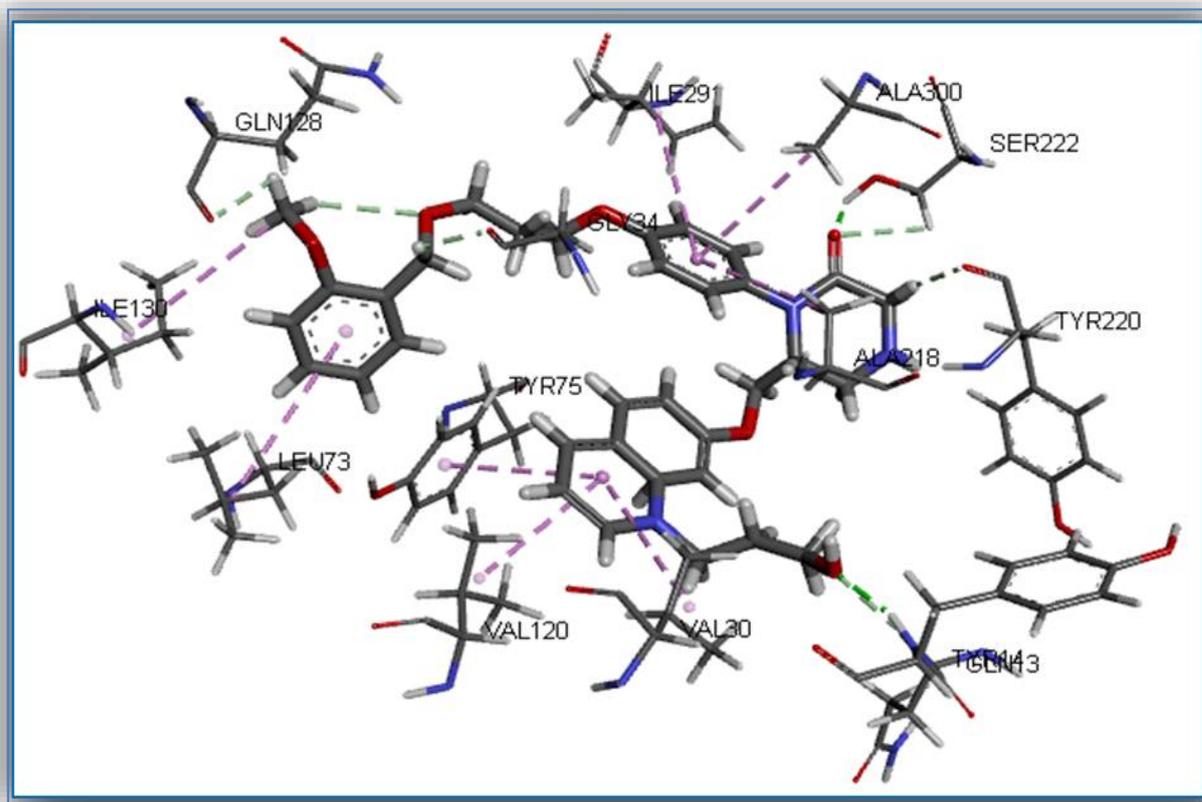


Figure V.4. Analyse visuelle par Discovery studio visualizer du mode d'interaction de l'inhibiteur PZ1 avec le site actif de la 1HRN.

II.4.2. Les acides aminés du site actif de l'enzyme Rénine (Code : 1HRN)

La détermination des résidus d'acides aminés de site actif de notre cible pouvant intervenir dans le processus de reconnaissance du ligand est cruciale pour pouvoir réaliser un criblage virtuel *in silico*. De ce fait, les acides aminés du site actif sont (Figure V.6) :

Thr12. Gln13. Val30. Asp32. Thr33. Gly34. Ser35. Trp39. Tyr75. Leu73. Tyr75. Ser76. Thr77. Gly78. Pro111. Phe112. Met113. Leu114. Ala115. Glu116. Phe117. Gly119. Val120. Gln128. Leu213. Asp215. Thr216. Gly217. Ala218. Ser219. Tyr220. Ser222. Met289. Ile291, Thr295. Thr298. Ala300.



Figure V.5. Structure 3D de code 1HRN avec le site de liaison de l'enzyme rénine.

II.4.3. Analyse visuelle des interactions 1HRN-PZ1.

La simulation des interactions du complexe 1HRN-PZ1 par docking moléculaire avec Surflex-dock donne une affinité égale à 6.49 M^{-1} qui se manifeste par la mise en place de sept liaisons hydrogène dans le site actif de l'enzyme rénine (figure V.7). En effet :

- Trois liaisons hydrogène sont formées entre le groupement hydroxyle des résidus Gln128, Gly34 et Try220 avec les hydrogènes de l'inhibiteur PZ1.
- La 4^{ème} et la 5^{ème} liaison est établie entre le groupement carbonyle de l'inhibiteur PZ1 et le groupement hydroxyle ainsi que l'hydrogène de résidu Ser222.
- La 6^{ème} liaison est formée entre le carboxyle de l'inhibiteur et le groupement amine de résidu Tyr14.
- La dernière liaison H est établie entre l'oxygène de l'inhibiteur et l'un des atomes H de résidu Gln13.

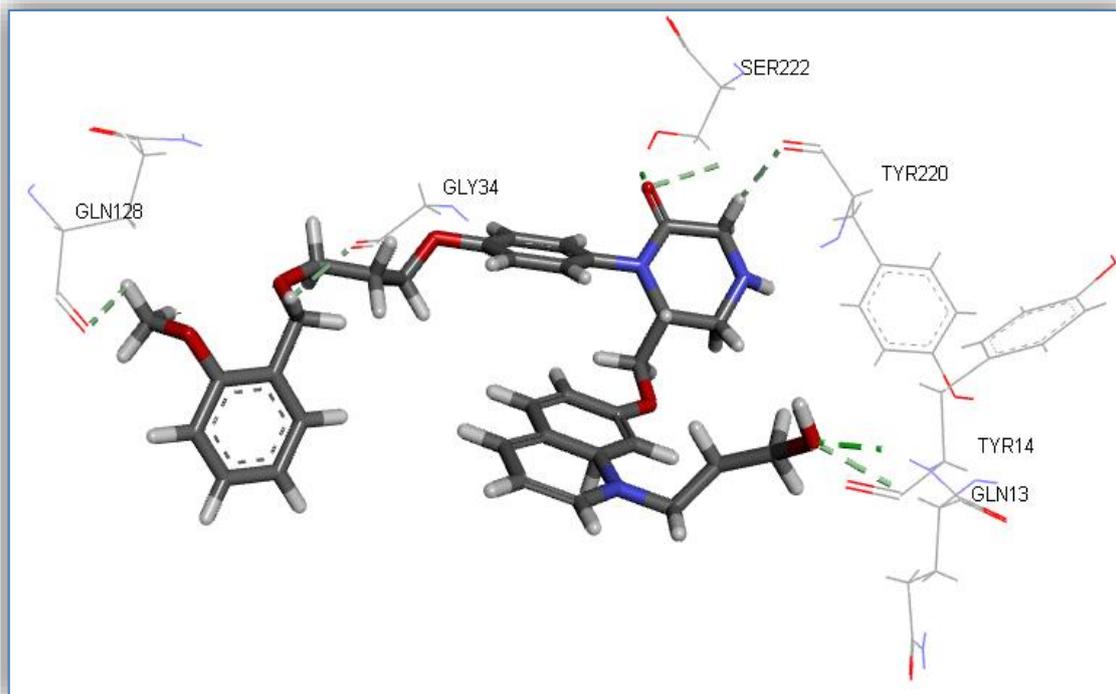


Figure V.6. Représentation des liaisons hydrogène formées par l'inhibiteur PZ1 dans le site actif de la 1HRN.

Les interactions hydrogène ainsi que la distance de chaque liaison sont résumé dans le tableau V.5 ci-contre :

Tableau V.5. Les sept ponts formés par le composé PZ1 et les résidus du site actif de la rénine.

Liaisons	Atomes du ligand- Atomes et résidus du site actif	Distance (Å)
1	C-H ₁ ——— O-Gln 128	2.48 Å
2	C-H ₄ ——— O-Gly 34	2.14 Å
3	C-H ₁₄ ——— O-Try 220	2.26 Å
4	O ——— H-O _G -Ser 222 Å	1.79 Å
5	O ——— H-C _R -Ser 222 Å	2.99 Å
6	O ——— H-N-Tyr 14	2.06 Å
7	O ——— H-C _A -Gln 13	2.53 Å

De plus, la stabilité de cet inhibiteur au sein du site actif est assurée également par de nombreuses interactions hydrophobiques faisant intervenir les résidus Val30, Val120, Try75, Ala218, Ala300, Ile291, Leu73 et Ile130.

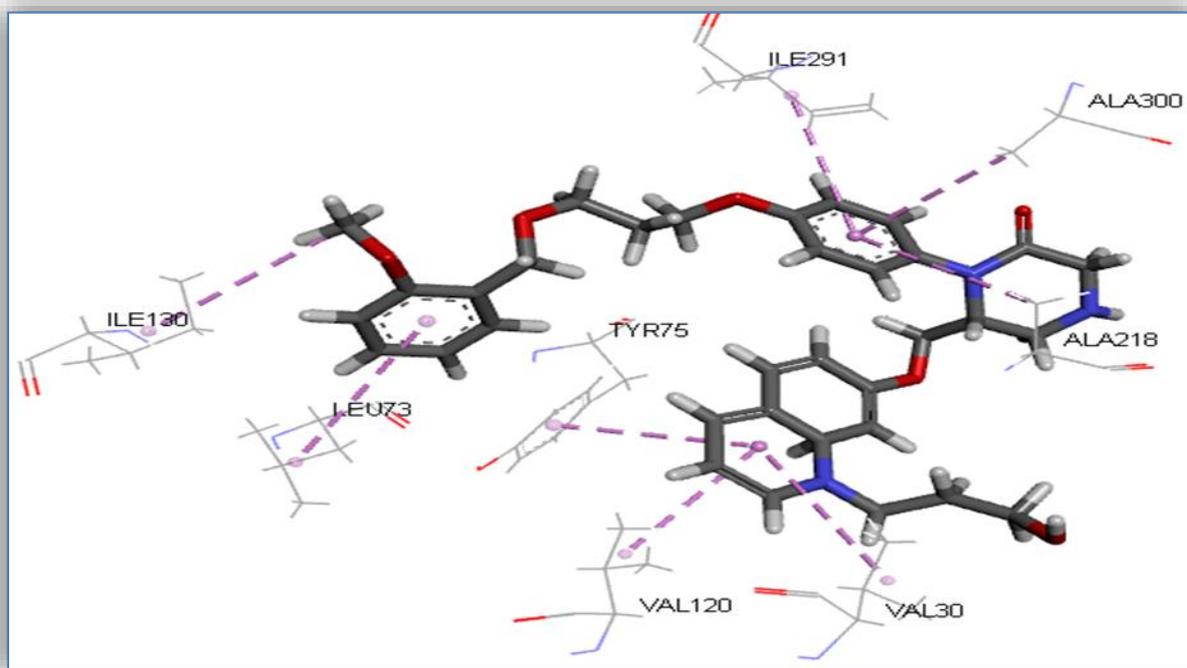


Figure V.7. Représentation des interactions hydrophobiques formées par le composé PZ1 et le site actif de la 1HRN.

III. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la rénine

III.1. Criblage virtuel basé sur la structure de l'enzyme rénine

Le criblage virtuel assisté par l'ordinateur est une technique bien établie, qui est maintenant couramment utilisée dans le processus de conception de médicament. Il cherche à identifier dans des chimiothèques électroniques (banque de données de ligands) des petites molécules susceptibles de former des interactions de faible énergie avec la cible thérapeutique sélectionnée et de modifier un mécanisme moléculaire [117, 118]. De ce fait, l'idée principale de criblage *in silico* est de tester d'abord les petites molécules par calcul afin de réduire le nombre de composés qui doivent être criblés expérimentalement réduisant ainsi le temps et le coût des expériences physiques [119].

Dans le but d'optimiser de l'activité de l'inhibiteur PZ1 (inhibiteur de référence), nous avons appliqué un criblage basé sur la structure de la protéine ciblée, grâce à la réalisation d'un docking moléculaire par le logiciel Surflex-dock d'une collection de 292 molécules

similaire de l'inhibiteur PZ1 avec 88% de similarité. Ces composés chimiques sont téléchargés à partir de la banque de donnée PubChem.

Nous avons comparé le score de docking de ces inhibiteurs (Affinité) à celui de l'inhibiteur de référence et proposé les meilleurs vis-à-vis de notre cible enzymatique (la rénine). Les résultats de simulation par Surflex-dock sont représentés dans le tableau V.6 suivant :

Tableau V.6. Résultats de docking avec le logiciel Surflex-dock dans le site actif de la rénine.

Code de ligand	Affinité (M ⁻¹)	Code de ligand	Affinité (M ⁻¹)
CID50999044	6.56	CID9276830	4.14
CID44402917	5.65	CID9276831	5.24
CID44402915	5.32	CID9430399	6.63
CID44402912	6.51	CID9430400	4.40
CID44402909	6.36	CID9430401	4.29
CID44402907	5.99	CID12370883	2.90
CID44402903	5.75	CID16302649	5.16
CID44402902	6.50	CID16891655	5.76
CID44402901	5.45	CID16892156	7.34
CID44402900	6.18	CID16893039	5.52
CID44402899	6.37	CID16893110	5.59
CID44402898	6.46	CID16893124	5.04
CID44402897	7.09	CID16894939	3.83
CID44402896	5.45	CID18083499	5.93
CID44402892	6.24	CID18083535	4.50
CID44402891	5.75	CID18583659	4.06
CID44402889	6.73	CID20846112	5.83
CID44402259	4.48	CID25441528	4.92

CID44401948	6.54	CID25441533	3.74
CID23586140	5.56	CID30774098	5.56
CID11214666	6.28	CID30774099	5.36
CID831396	5.69	CID30851164	4.27
CID143978947	6.51	CID42266490	6.36
CID142950305	4.82	CID43996690	5.16
CID90717914	4.54	CID43996705	3.81
CID69908325	6.45	CID45766720	3.64
CID67009799	6.20	CID46663116	4.66
CID60120825	4.88	CID46677651	3.51
CID60120804	6.29	CID47005824	4.39
CID60120800	6.45	CID51116852	3.68
CID54584263	6.36	CID51167535	3.76
CID45376365	6.23	CID16892940	6.39
CID44402913	6.24	CID16892954	4.39
CID44402908	6.09	CID44401949	5.93
CID60120713	3.83	CID17988681	7.15
CID60120712	6.81	CID16894925	4.17
CID57403876	5.97	CID110900386	5.44
CID57398589	4.93	CID12152752	3.40
CID57398554	4.02	CID137349903	5.11
CID57397827	4.28	CID5305955	5.13
CID57396024	2.70	CID6955292	5.62
CID47072914	3.94	CID7186407	7.18
CID22831977	3.44	CID7186409	5.85

CID21916737	5.21	CID7357356	5.22
CID7452460	5.54	CID8453988	6.17
CID7928278	6.02	CID8453989	4.98
CID7928281	4.74	CID8474340	2.99
CID8373609	5.17	CID8474341	2.86
CID8373661	4.38	CID8474346	4.78
CID8435630	6.32	CID8474347	4.91
CID8435631	6.09	CID8474351	4.63
CID8435949	6.22	CID8474352	3.98
CID8449290	5.04	CID8479290	5.60
CID8449291	6.61	CID8479291	5.37
CID8479293	4.84	CID108984355	6.83
CID8479294	4.82	CID108994852	6.83
CID8690757	4.55	CID108995007	5.96
CID8690758	4.93	CID109006474	5.09
CID8703598	5.86	CID109893067	5.84
CID8703599	4.61	CID109920307	4.50
CID8711354	4.02	CID110877862	5.76
CID8711355	3.38	CID109973805	5.50
CID8711662	4.28	CID110881453	5.16
CID8711663	5.47	CID110900387	4.70
CID110900394	6.18	CID113177525	4.43
CID110900395	5.17	CID120753741	4.32
CID110900397	4.23	CID120754010	4.38
CID111382218	5.29	CID124432651	5.52

CID112023559	4.43	CID124454224	4.72
CID112290990	4.58	CID124457794	4.94
CID112345278	4.68	CID124671936	7.60
CID112345299	5.92	CID126779067	5.67
CID112350400	6.11	CID129008825	7.60
CID113173882	4.16	CID131909453	5.50
CID133078444	1.52	CID133741061	4.19
CID133562175	5.34	CID133932463	5.37
CID133729751	3.91	CID142950196	4.25
CID133729923	5.51	CID143979063	5.36
CID133741002	5.05	CID52507270	3.71
CID154307509	5.70	CID52507271	3.94
CID154216588	5.97	CID54822086	4.67
CID154170123	3.33	CID54824094	3.51
CID154151296	5.07	CID54825335	4.08
CID154148074	4.37	CID55430789	4.02
CID154142969	5.14	CID55850754	4.40
CID154134882	3.73	CID55869108	3.91
CID142950333	5.00	CID56569985	3.14
CID142950284	5.18	CID60346401	5.69
CID141602751	5.52	CID60373629	3.80
CID138517691	3.94	CID60461044	4.40
CID135008018	4.79	CID60511786	4.87
CID121394915	5.76	CID60542282	5.36
CID121393875	6.65	CID60542311	5.73

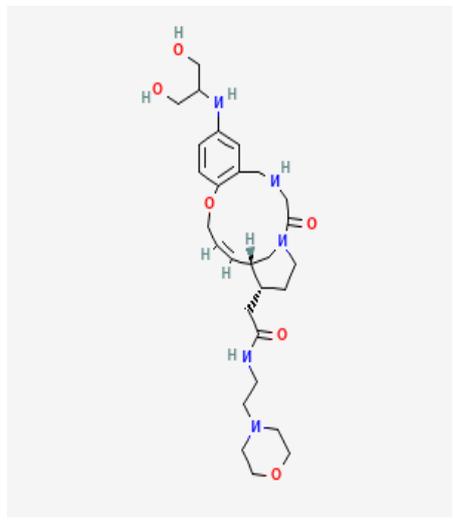
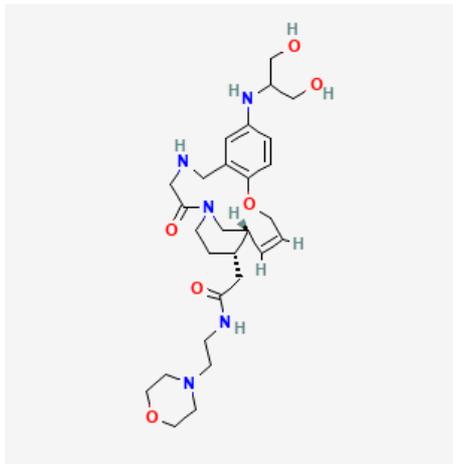
CID117934345	6.38	CID60607822	4.49
CID95854073	4.62	CID60980088	5.27
CID85435694	4.35	CID65519452	6.39
CID75020009	5.62	CID71846088	4.93
CID71887198	3.93	CID71925884	4.45
CID70341907	4.76	CID72111240	5.04
CID70341157	5.27	CID75374995	6.14
CID69909070	6.52	CID78795506	4.75
CID69908470	6.81	CID78795546	4.62
CID69908314	3.28	CID78880753	4.79
CID69878127	5.80	CID79281804	5.28
CID69878125	3.39	CID86768977	7.76
CID69878123	6.94	CID86768978	5.19
CID69878113	3.40	CID86768982	4.74
CID69877691	2.91	CID86768984	4.61
CID69876930	5.92	CID86859054	4.64
CID69876926	5.29	CID86894967	6.00
CID69401027	4.08	CID86895164	4.95
CID60120828	5.10	CID90534569	5.99
CID60120815	7.00	CID90535886	3.90
CID60120791	6.08	CID90535909	4.32
CID60120790	5.06	CID90535923	4.51
CID601120765	4.64	CID90535925	4.44
CID60120738	6.46	CID90598224	5.74
CID60120717	5.15	CID92593858	5.05

CID95785959	5.18	CID98597334	5.94
CID95785960	5.09	CID99850771	4.23
CID97015640	4.75	CID10851445	4.48
CID97015641	5.62	CID97219286	5.66
CID97219285	7.10		

III.2. Molécules sélectionnées comme nouveaux inhibiteurs

D'après le résultat de tableau V.6 précédant, les deux similaires CID124671936 et CID86768977 se révèlent comme les meilleurs inhibiteurs pour notre enzyme, avec une forte affinité (7.60 M^{-1} et 7.76 M^{-1} respectivement), supérieur à celle de l'inhibiteur PZ1 (6.49 M^{-1}), les inhibiteurs proposés sont représentés dans le tableau V.7 suivant.

Tableau V.7. Données chimiques et structurales des inhibiteurs sélectionnés comme candidats.

Le code de l'inhibiteur	Structure	Nom chimique	Affinité (M ⁻¹)
CID 86768977		2-[(14E, 16S, 17S)-8-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-2-oxo-12-oxa-1,4-diazatricyclo[14.3.1.06,11]icosa-6(11),7,9,14-tetraen-17-yl]-N-(2-morpholin-4-ylethyl)acetamide	7.76
CID 124671936		2-[(14Z, 16S, 17S)-8-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-2-oxo-12-oxa-1,4-diazatricyclo[14.3.1.06,11]icosa-6(11),7,9,14-tetraen-17-yl]-N-(2-morpholin-4-ylethyl)acetamide	7.60

IV. Etude des interactions de la rénine avec les deux composés proposés

A l'heure actuelle, il n'existe qu'un seul médicament mis sur le marché pour traiter l'HTA en inhibant la rénine. Ce criblage fait ressortir les composés présentés dans le tableau V.7 comme nouveaux inhibiteurs théoriquement puissants envers la rénine.

Dans un premier temps, nous avons jugé intéressant de voir le positionnement et de comprendre les mécanismes mis en jeu dans l'interaction de ces composés avec le site actif de la rénine. Pour ce faire, nous avons utilisé les programmes de visualisation moléculaires Discovery Studio Visualizer.

IV.1. Interaction de complexe 1HRN-CID86768977

Le score de docking s'évaluant à 7.76 M^{-1} qui est calculé par le programme Surflex-dock. Le composé CID86768977 se présente comme meilleur inhibiteur sorti de ce criblage. L'analyse visuelle montre que ce composé inhibe la rénine en formant 6 liaisons d'hydrogène avec le site actif de cette enzyme (figure V.9).

- Une liaison hydrogène est formée entre le groupement hydroxyle de résidus Thr12 et l'hydrogène de l'inhibiteur CID86768977 avec une distance égale à 2.63 Å.
- Un pont hydrogène est formé entre le groupement hydroxyle de résidus Thr77 et le carbonyle de cet inhibiteur avec une distance égale à 1.74 Å.
- une liaison établie entre l'hydroxyle de résidu Asp215 et l'hydrogène de l'inhibiteur CID86768977 avec une distance égale à 2.49 Å.
- Deux liaisons H établis entre le carbonyle de résidus Gly34 et Asp32 l'un des groupements amine de l'inhibiteur CID86768977 avec une distance égale à 2.00 Å, 1.87 Å respectivement.
- La 6^{ème} liaison est réalisée entre l'oxygène de résidu Asp32 et l'hydrogène de cet inhibiteur avec une distance de 3.03 Å.

Dans le tableau V.8 ci-dessous nous avons résumé ces différentes liaisons.

Tableau V.8. Les différentes interactions formées par le composé CID86768977 avec le site actif de la rénine.

Liaisons	Atomes du ligand- Atomes et résidus du site actif	Distance (Å)
1	C-H ————— H -O _{G1} - Thr 12	2.63
2	O ————— H -O _{G1} - Thr 77	1.74
3	C-H ————— O _{D2} - Asp 215	2.49
4	N-H ————— O- Gly 34	2.00
5	N-H ————— O _{D2} - Asp 32	1.87
6	C-H ————— O _{D2} - Asp 32	3.03

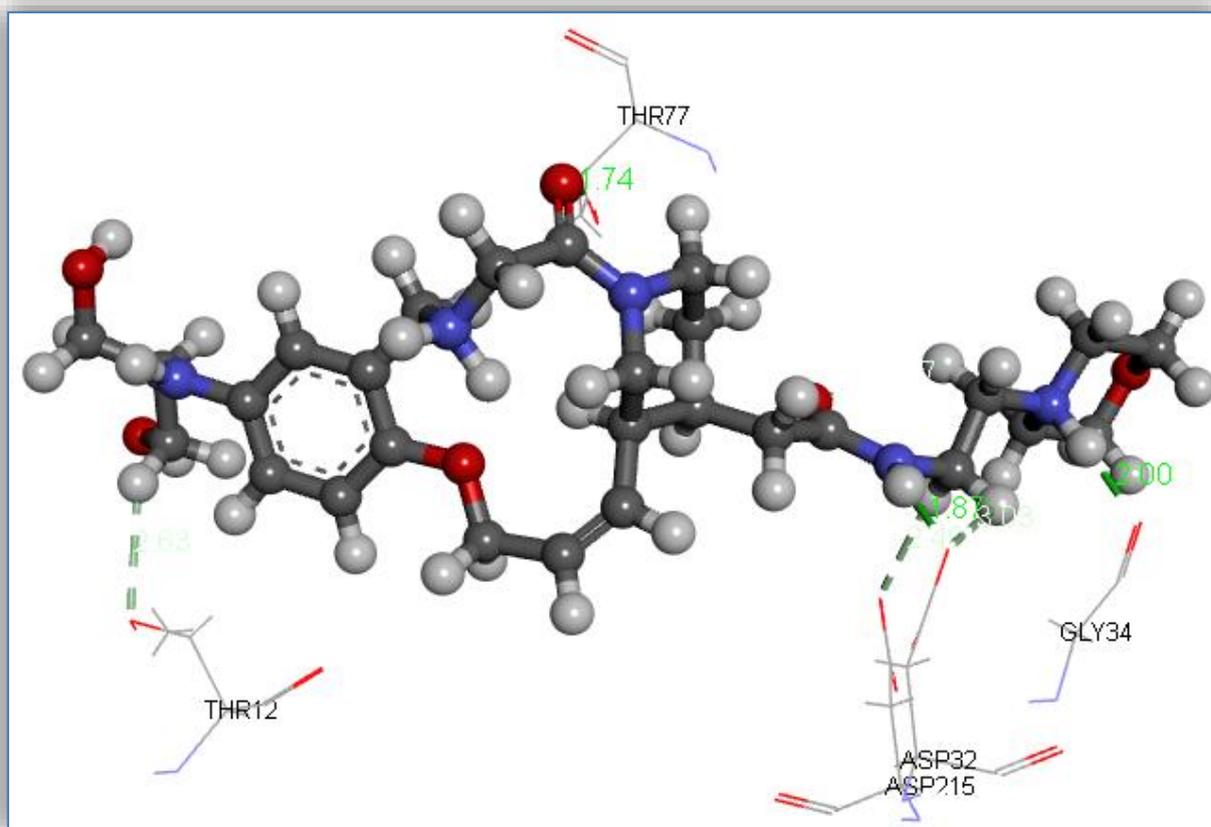


Figure V.8. Représentation des interactions hydrogène formées par le similaire CID86768977 dans le site actif de 1HRN.

La stabilisation de complexe (1HRN- CID86768977) est également réalisée par la formation des interactions hydrophobiques entre cet inhibiteur et les acides aminés de site actif de la 1HRN. Elles sont réalisées avec les résidus suivants : Phe117, Val30 et Tyr75.

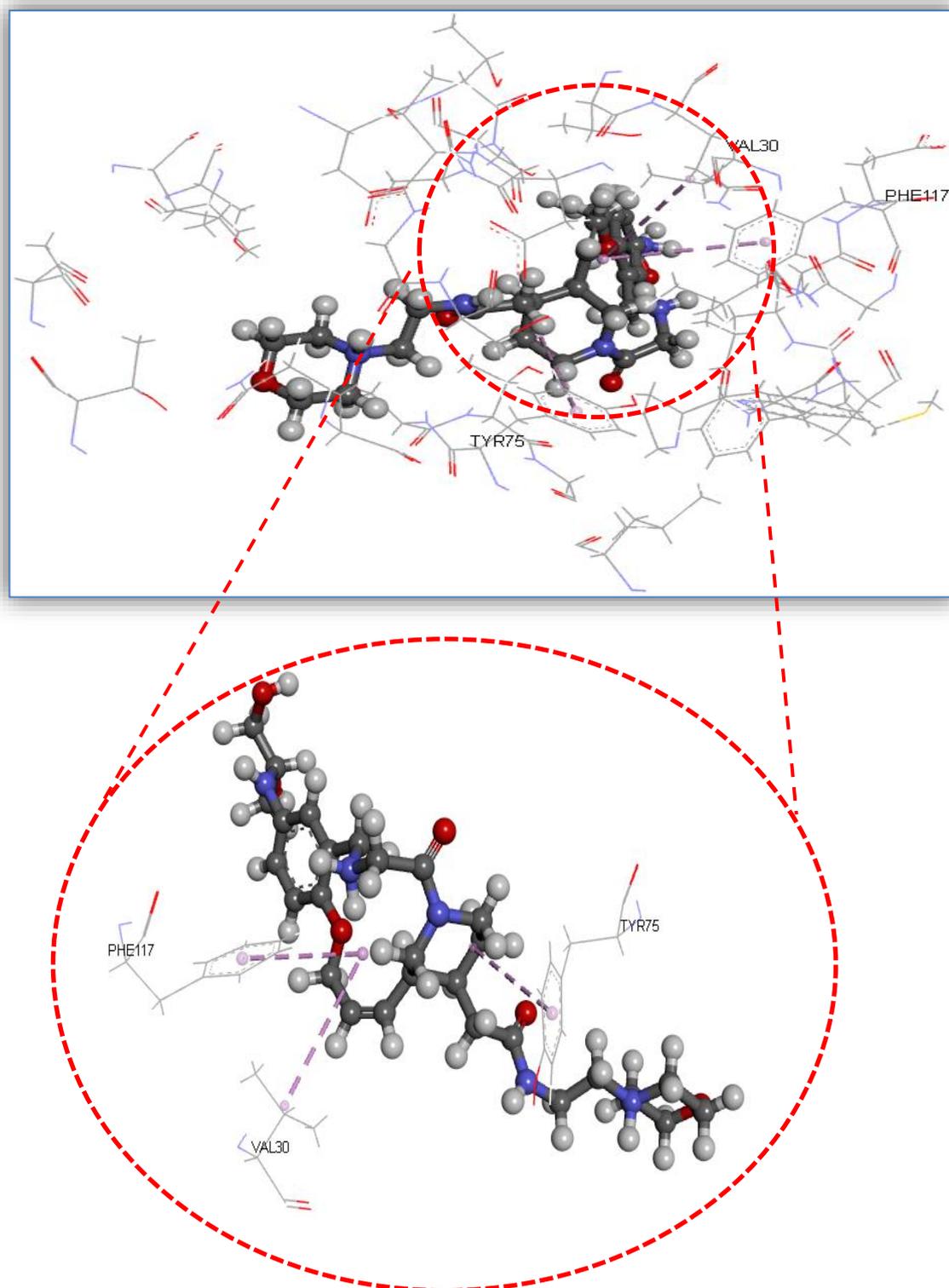


Figure V.9. Représentation des interactions hydrophobiques formées par l'inhibiteur CID86768977 avec la rénine.

IV.2. Interaction de complexe 1HRN-CID124671936

Le composé CID124671936 est considéré comme deuxième meilleur inhibiteur sorti de notre criblage virtuel avec un score égal à 7.60 M^{-1} . Ce score peut être expliqué par la présence de 5 liaisons d'hydrogène avec le site actif de la rénine.

- La 1^{ère} liaison hydrogène est formée entre le groupement hydroxyle du résidu Thr77 et l'oxygène de l'inhibiteur CID124671936 par à distance de 1.73 Å
- La 2^{ème} liaison entre le carbonyle de résidu Glu34 et le groupement amine de l'inhibiteur par une distance égale à 2.02 Å.
- La 3^{ème} liaison entre le carbonyle de l'acide aminé Asp215 et l'hydrogène de cet inhibiteur avec une distance égale à 2.47 Å.
- La 4^{ème} liaison hydrogène est établi entre le carbonyle de l'acide aminé Asp32 et le groupement amine de cet inhibiteur.
- La 5^{ème} liaison entre le carbonyle de l'acide aminé Asp32 et l'hydrogène de l'inhibiteur CID124671936.

Dans le tableau V.9 ci-dessous nous avons résumé ces différents ponts.

Tableau V.9. Les cinq ponts formés par le composé CID124671936 et les résidus du site actif de la rénine.

Liaisons	Atomes du ligand- Atomes et résidus du site actif	Distance (Å)
1	O ——— H-O _{G1} - Thr 77	1.73
2	N-H ——— O- Glu 34	2.02
3	C-H ——— O _{D2} - Asp 215	2.47
4	N-H ——— O _{D2} - Asp 32	1.85
5	C-H ——— O _{D2} - Asp 32	2.97

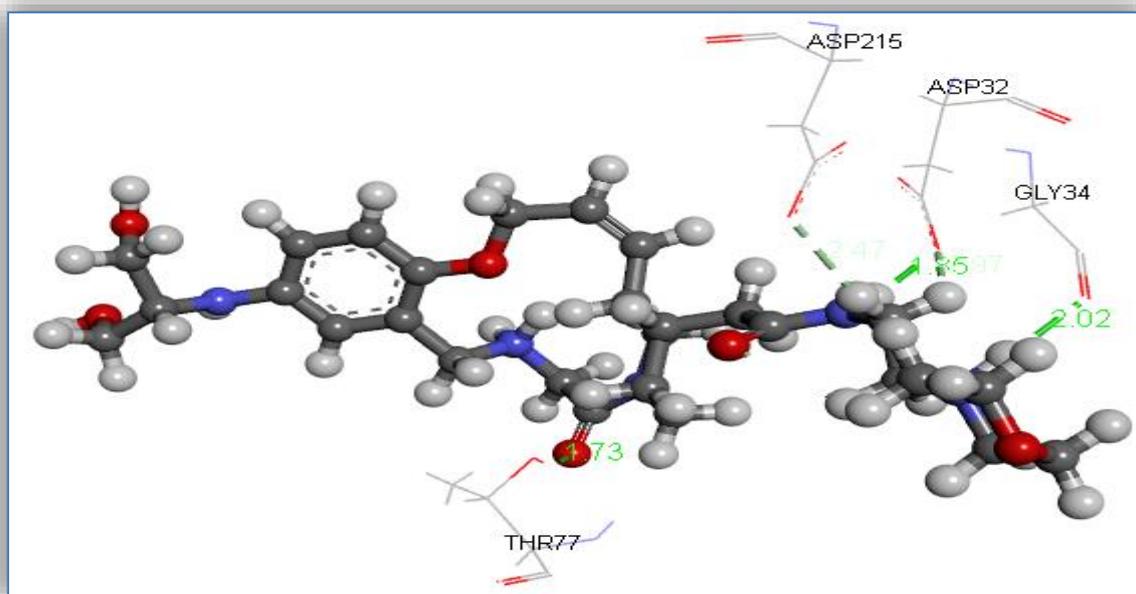


Figure V.10. Représentation des interactions hydrogène formées par le similaire CID124671936 dans le site actif de 1HRN.

De plus, la visualisation des résultats du docking montre que l'inhibiteur CID124671936 forme avec le site actif de la rénine plusieurs interactions hydrophobiques qui assurent la stabilité du complexe (1HRN-CID124671936) avec les résidus Val30, Try75 et Phe117.

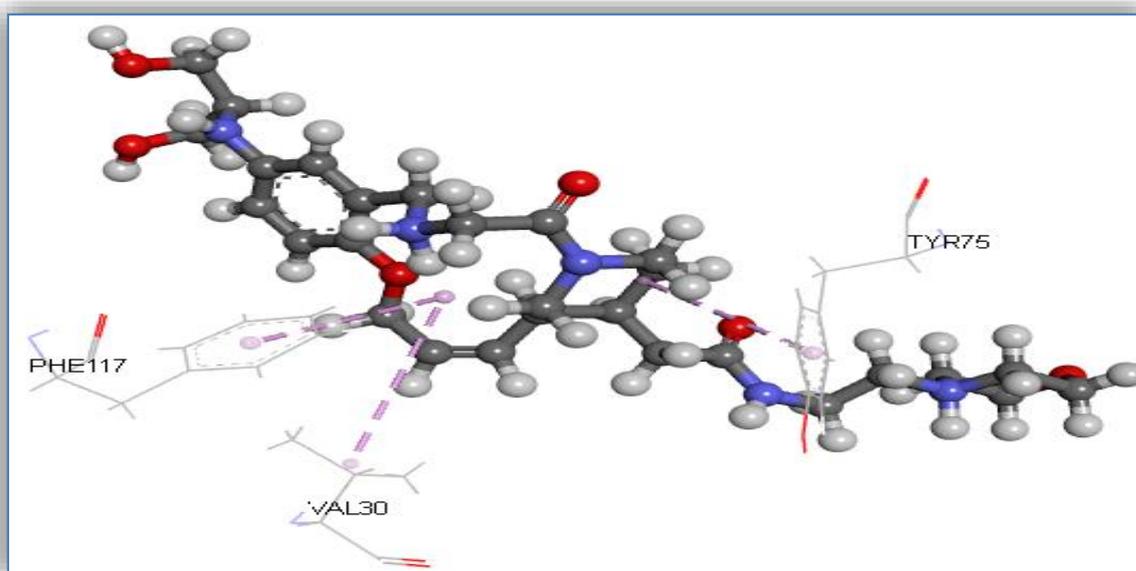


Figure V.11. Représentation des interactions hydrophobiques formées par l'inhibiteur CID124671936 avec la 1HRN.

IV.3. Prédiction de la similarité médicamenteuse

L'application de la méthode de filtrage ADME-Tox a été cruciale pour mener à bien cette étude, en utilisant les serveurs SwissADME et PreADMET. Pour obtenir les paramètres physico-chimiques, pharmaceutiques et toxicologiques des meilleurs inhibiteurs étudiés les tableaux suivants indiquent les valeurs des propriétés observées.

IV.4. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques de l'inhibiteur PZ1 ainsi que les deux similaires proposés sont calculés, en utilisant le serveur SwissADME.

Tableau V.10. Critères de la règle de *Lipinski et veber* à partir de serveur SwissADME

Propriété	PZ1	CID86768977	CID124671936
Poids moléculaire (g/mol)	584.68 g/mol	545.67 g/mol	545.67 g/mol
Nombres donneurs de liaison H	1	5	5
Nombre d'accepteurs de liaison H	7	8	8
LogP	0.32	0.64	0.64
Nombre de liaison de rotation	15	10	10
TPSA (Å²)	93.70 Å ²	135.63 Å ²	135.63 Å ²

Le tableau V.10 ci-dessus nous éclaire que les trois composés PZ1, CID86768977 et CID124671936 étudiés respectent la règle de *Lipinski* ainsi que celle de *Veber*, qui sont acceptées comme conditions préalables à une bonne biodisponibilité.

Les deux inhibiteurs proposés CID86768977 et CID124671936 possèdent de même propriétés physicochimiques qui sont mieux que l'inhibiteur de référence PZ1 tel que le nombre de liaisons de rotation ou de liaisons flexibles, le nombre de donneurs et d'accepteurs de liaison H, par contre le poids moléculaire de ces inhibiteurs est un peu élevée (> 500 g/mol). En effet, les valeurs de la surface polaire topologique (TPSA < 140 Å²) les plus basses

donnent toujours de bons résultats. En observant les valeurs de lipophilie (LogP) de nos composés, nous remarquons qu'ils ont tous des valeurs inférieures à 5 donc ils peuvent être facilement absorbés dans le corps.

Les résultats des deux règles de *Lipinski* et de *Veber* nous admettent de dire que les deux inhibiteurs proposés possèdent une bonne biodisponibilité par voie orale.

IV.5. Propriétés pharmacocinétiques

Pour prédire les propriétés pharmacocinétiques des composés après donnés par docking moléculaire les meilleures affinités, nous avons utilisé le serveur SwissADME.

Tableau V.11. Propriétés pharmacocinétiques des inhibiteurs à partir de serveurs SwissADME.

Propriétés	PZ1	CID86768977	CID124671936
Absorption gastro-intestinale	Faible	Faible	Faible
Perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BBB)	Non	Non	Non
Inhibition de CYP1A2	Non	Non	Non
Inhibition de CYP2C19	Oui	Non	Non
Inhibition de CYP2C9	Oui	Non	Non
Inhibition de CYP2D6	Non	Non	Non
Inhibition de CYP3A4	Oui	Non	Non

D'après les résultats obtenus des propriétés pharmacocinétiques dans le tableau au-dessus (Tableau V.11). Nous avons noté que les trois composés ont montré une faible absorption au niveau gastro-intestinale, ces composés ne peuvent pas traverser bien la barrière gastro-intestinale pour atteindre la circulation sanguine. Nous avons noté également, que les trois inhibiteurs étudiés ne présentent pas une capacité élevée à franchir la barrière hémato-encéphalique (imperméable). Concernant l'inhibition des différentes isoformes du cytochrome P450, les résultats montrent le composé PZ1 ont un effet inhibiteur potentiel envers seulement 3 parmi les 5 isoformes du cytochrome P450, et pour les deux autres composés

(CID86768977 et CID124671936) ils ne sont pas des inhibiteurs pour les isoenzymes cytochrome P450. Étant donné que les changements dans les activités enzymatiques de ces enzymes peuvent avoir un impact sur la façon dont les médicaments sont métabolisés, leur inhibition est une source importante d'interactions médicamenteuses indésirables.

IV.6. La toxicité

Pour vérifier la toxicité des inhibiteurs étudiés, plusieurs éléments ont été déterminés *in silico*. Dans le tableau V.12 ci-dessous nous avons résumé ces paramètres.

Tableau V.12. Le profil de toxicité relative des composés étudiés obtenus à partir de serveur PreADME.

Paramètre	PZ1	CID86768977	CID124671936
Carcino_souris	négative	Négative	négative
Carcino_rats	positive	Positive	positive
Test d'Ames	Mutagène	Mutagène	Mutagène
Inhibition de hERG	risque moyen	risque moyen	risque moyen

D'après les résultats obtenus dans le tableau V.12 nous remarquons que :

- Les trois composés présentent des propriétés cancérigènes négatives concernant le test sur les souris et positives sur les rats ;
- Nous avons également remarqué que trois inhibiteurs étudiés ont des effets mutagènes qui peuvent donc induire changements génétiques.
- En ce qui concerne le test d'inhibition du gène hERG, nous avons constaté un résultat moyen pour les trois composés. Il a été établi que l'inhibition du gène hERG prolonge le potentiel d'action cardiaque et provoque une crise cardiaque.

En conclusion, les deux inhibiteurs proposés ont un profil ADMET favorable pour une application biologique ce qui ouvre la voie à son optimisation et développement, en tant que candidat médicament.



Conclusion

CONCLUSION

L'objectif primordial de notre recherche consiste à acquérir des compétences aux méthodes bio-informatiques, en particulier le criblage virtuel réalisé par le logiciel Surflex-dock, afin d'identifier *in silico* de nouvelles molécules agissant sur la rénine ; c'est une cible enzymatique potentielle intrigante pour le développement de nouveaux traitements contre l'hypertension artérielle.

Pour atteindre cet objectif nous avons réalisé plusieurs étapes :

Dans la première étape de ce travail, nous avons tenté de tester la capacité de logiciel Surflex-dock à prédire l'emplacement correct d'un ligand au niveau de son récepteur. Afin de confirmer qu'il s'agit d'un programme approprié pour notre étude, nous avons appliqué deux tests :

- Le premier test est le RMSD, il est fréquemment utilisé pour valider le processus d'amarrage moléculaire. Sur les 150 complexes protéine-ligand pris arbitrairement de la PDB, 88% ont présentés des valeurs de RMSD inférieur ou égale à 2 Å.
- Le deuxième test est l'analyse visuelle par le programme Discovery Studio Visualizer. C'est une étape cruciale pour assurer la validité du logiciel Surflex-dock. Il permet aux utilisateurs de confirmer la position d'un ligand à l'intérieur de site de liaison d'une cible enzymatique.

Ces tests nous fournissent la preuve que Surflex-dock est un programme de criblage virtuel très fiable et qu'on peut utiliser en toute confiance dans notre recherche.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons mis en évidence les meilleurs inhibiteurs de la rénine parmi les 68 composés provenant de la PDB. Le composés PZ1 avec une affinité égale à 6.49 M^{-1} se présente comme l'inhibiteur le plus puissant de notre cible enzymatique.

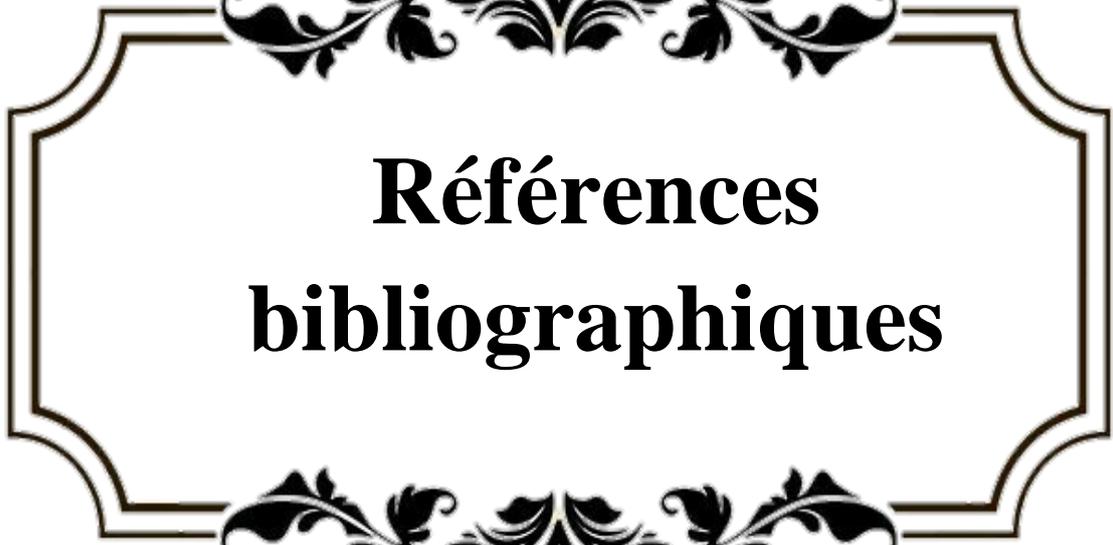
La troisième partie a été consacrée à la recherche de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de la rénine. Pour cela, nous avons appliqué un criblage de 292 similaires de composés PZ1 issus de la base de données PubChem avec un taux de similarité de 88%. Nous retenons les similaires CID86768977 et CID124671936 comme meilleurs inhibiteurs de l'enzyme rénine, avec des affinités supérieures à celle du ligand de référence (PZI).

Il était crucial de terminer cette étude, en appliquant la méthode de filtrage ADME-Tox afin de nous informer sur les caractéristiques physico-chimiques, pharmaceutiques et toxicologiques des molécules suggérées. L'évaluation de plusieurs propriétés a révélé que les inhibiteurs CID86768977 et CID124671936 ont un bon profil ADME-Tox.

Enfin et pour conclure, on peut dire que les résultats obtenus sont encourageants et peuvent aider au développement de nouveaux candidats médicaments de l'hypertension artérielle.

À la suite de nos recherches, nous offrons nos perspectives futures pour la découverte de nouveaux inhibiteurs de la rénine qui sont :

- Il faut utiliser d'autres logiciels de criblage virtuel plus fiable que surflex-dock pour prouver nos résultats tels que FlexX, Gold, Glide... etc ;
- Utiliser d'autres base de donner pour trouver des nouveaux inhibiteur plus efficace de la rénine comme la base de donner Drug Bank et Zinc ;
- Acheter les meilleurs inhibiteurs choisis à partir des fournisseurs qui se trouvent en Europe ;
- Des études *in vitro* et *in vivo* pour est nécessaire pour vérifier et confirmer les résultats théoriques obtenus *in silico*.



**Références
bibliographiques**



RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Kearney P. M., Whelton M., Reynolds K., Muntner P., Whelton P. K., He J. 2005. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *The lancet*. **365**: 217-223.
- [2] Sparks M. A., Crowley S. D., Gurley S. B., Mirotso M., Coffman T. M. 2014. Classical renin-angiotensin system in kidney physiology. *Comprehensive Physiology*. **4**(3):1201-1228.
- [3] Dietz R., Dechend R., Yu C. M., Bheda M., Ford J., Prescott M. F., Keefe D. L. 2008. Effects of the direct renin inhibitor aliskiren and atenolol alone or in combination in patients with hypertension1. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. **9**(3) : 163-175.
- [4] Tuccinardi T. 2009. Docking-based virtual screening: recent developments. *Combinatorial chemistry & high throughput screening*. **12**(3): 303-314.
- [5] Fettouche R. 2020. Sanofi Algérie confirme son engagement dans la prise en charge de L'hypertension artérielle à l'occasion de la Journée mondiale. *Communiqué de presse Algérie*. **2** :1.
- [6] Organisation mondiale de la santé (OMS). 2021. [En ligne]. <https://www.who.int/fr/news/item/25-08-2021-more-than-700-million-people-with-untreated-hypertension> .Consulté le [23- 03-2023].
- [7] France B., Alain M. 2015. Prise en charge systématisée des personnes atteintes d'hypertension artérielle. *Société québécoise d'hypertension artérielle*. **10** :9.
- [8] Organisation mondiale de la santé (OMS), Bureau régional de la Méditerranée nationale. 2023. [En ligne]. <https://www.emro.who.int/fr/media/world-health-day/public-health-problem-factsheet-2013.html>. Consulté le [24- 03-2023].
- [9] Mancia G., De Baker G., Dominiczak A., Cifkova R., Fagard R., Germano G., Grassi G., Heagerty A. M., Kjeldsen S. E., Laurent S., Rynkiewicz A., E.Schmieder R. E., Struijker-Boudier A. J. H., Zanchetti A. 2007. Recommandations 2007 ESH/ESC pour la prise en charge de l'hypertension artérielle. *Société Française d'hypertension artérielle*. **13**: 1105-1187.
- [10] Le figaro santé. [En ligne]. <https://sante.lefigaro.fr/sante/maladie/hypertension-arterielle/quelle-specialite-concernee#fig-page> .Consulté le [25- 03-2023].

- [11] Baudin B., Berthelot-Garcias E., Meuleman C., Dufaitre G., Ederhy S., Haddour N., Cohen A. 2009. Biologie de l'hypertension artérielle. *Revue francophone des laboratoires*. 2009(409) : 65-74.
- [12] Lardjam-Hetraf A. S. Caractérisation des facteurs de risque génétiques et environnementaux de l'hypertension artérielle dans un échantillon de la population Algérienne.-réplique de GWAS .Thèse de doctorat en science. Université d'Oran Mohamed Boudiaf. Algérie. 2016.180p.
- [13] Pruijm M., Bochud M., Burnier M .2009. Hypertension genetics: what have we learned so far? *Revue Medicale Suisse*. 5: 1763-1764.
- [14] Neufcourt L. Expliquer les inégalités sociales et territoriales dans l'hypertension artérielle : exploitation des cohortes française constances et américaine HRS. Thèses de doctorat. Université de rennes. France. 2020. 273p.
- [15] Organisation mondiale de la santé. 2023. [En ligne].<https://www.emro.who.int/fr/world-health-days/journee-mondiale-de-la-sante-2013/feed/rss.html>. Consulté le [27-03-2023].
- [16] L'hypertension artérielle. Hellocare. 2021. [En ligne]. <https://hellocare.com/blog/causes-hypertension-arterielle/>. Consulté le [28-03-2023].
- [17] Postel-Vinay N., Bobrie G. L'hypertension artérielle ce qu'il faut savoir pour la surveiller et la traiter. Publisher Odile Jacob. France. 2012.196p.
- [18] Delaleu I., Cymes M., Lam K., Gautier C. 2022. Les cahiers Dr. Good : J'équilibre ma tension artérielle ! [En ligne]. <https://www.lisez.com/livre-grand-format/cahier-dr-good-jequilibre-ma-tension-arterielle/9782263179884> .Consulté le [28-03-2023].
- [19] Georg L. B. 2022. Hypertension artérielle. [En ligne]. <https://www.msmanuals.com/fr/accueil/troubles-cardiaques-et-vasculaires/hypertension-art%C3%A9rielle/hypertension-art%C3%A9rielle>. Consulté le [28-03-2023].
- [20] Vasan R. S., Beiser A., Seshadri S., Larson M. G., Kannel W. B., D'Agostino R. B., Levy D. 2002. Residual lifetime risk for developing hypertension in middle-aged women and men: The Framingham Heart Study. *Jama*. 287(8) : 1003-1010.
- [21] Mourad J. J., Cremer A., Azernour-Bonnefoy. L. Le grand livre de l'hypertension artérielle. Editions eyrolles. France. 2016. 203p.

- [22] Leclerc A. M. L'expérience des hommes atteints d'hypertension artérielle. Thèse de doctorat en science infirmières. Université de Québec. France. 2013. 207p.
- [23] Plouin P. F., Bobrie G. 2002. Évolution récente des recommandations pour le dépistage et le traitement de l'hypertension artérielle. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*. **186(9)** : 1611-1623.
- [24] Samson S., Ricordeaup P., Pepin S., Tilly B., Weill A., Allemand H. 2007. Hypertension artérielle et facteurs de risque associés : évolutions des traitements entre 2000 et 2006. *Points de repère*. **10**: 1-8.
- [25] Khan N., Mc Alister F. A. 2007. Les bêtabloquants ont-ils un rôle dans le traitement de l'hypertension ? *Canadian Family Physician*. **53(4)** : 618-621.
- [26] Leeman M. 2015. Le traitement d'urgence de l'hypertension artérielle sévère Management of severe arterial hypertension. *Revue Médicale de Bruxelles*. **36** : 373-376.
- [27] Les Guides de l'INEAS, la prise en charge de l'hypertension artérielle chez l'adulte. Tunisie. 2021.127p.
- [28] Boukaré D. Hypertension artérielle dans la population adulte du burkina faso: Prévalence, Détection, Traitement et Contrôle. Thèses de doctorat. Université de Montréal. Canada. 2014. 262p.
- [29] Jean-Michel H., Revel-Delhom C. 2016. Prise en charge de l'hypertension artérielle de l'adulte. Haute Autorité de santé. **65** :150p.
- [30] Halimi L. A., Cloutier L., Longpré S., Grenier-Michaud S. 2013. Traitement pharmacologique de l'HTA : partie 2. *Perspective infirmière : revue officielle de l'Ordre des infirmières et infirmiers du Québec*. **10(2)** : 37-43.
- [31] Trerattanavong K., Chen J. 2023. Biochemistry, Renin. [En ligne] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556056/>. Consulté le [20-03-2023].
- [32] Olivier L. Implication du système renine-angiotensine-aldostérone dans l'hypertension artérielle : intérêt des nouvelles thérapies, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion et les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de Limoges. France. 2000. 215p.

- [33] Wang S. R., Sang W. K., Chee J. K. 2007. Overview of the Renin-Angiotensin System. *Korean Circulation Journal*. **37**: 91-96.
- [34] Renin. 2022. [En ligne]. <https://my.clevelandclinic.org/health/body/22506-renin>. Consulté le [25-03-2023].
- [35] Gourbiere C. Des systemes renine-angiotensine tissulaires au benefice therapeutique des inhibiteurs de l'enzyme de conversion. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de Limoges. France. 1996. 189p.
- [36] Le Gall S., Féral C., Leymarie P. 1993. Système rénine/angiotensine de l'utérus et de l'ovaire chez les femelles de Mammifères. *Reproduction Nutrition Développement*. **33** : 185-198.
- [37] Rénine : definition. [En ligne]. <https://www.aquaportail.com/definition-8535-renine.html>. Consulté le [01-04-2023].
- [38] Renin. 2019. [En ligne]. <https://proteopedia.org/wiki/index.php/Renin#Structure>. Consulté le [01-04-2023].
- [39] Alan H., Gradman A. H., Kad R. 2008. Renin inhibition in Hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*. **51**: 519-528.
- [40] Verhoest G., Dolley-Hitze T., Jouan F., Bensalah K., Arlot-Bonnemains Y., Dugay F., Belaud-Rotureau M. A., Rioux-Leclercq N., Vigneau C. 2014. Système rénine-angiotensine et cancers urologiques. *Progrès en urologie*. **24** : 73-79.
- [41] Nguyen G., Burcklé C., Sraer J. D. 2002. Un récepteur membranaire pour la rénine : et l'enzyme devient hormone. *Médecine/ Sciences*. **18** : 686-688.
- [42] Régulation de la pression artérielle : Le système rénine-angiotensine-aldostérone. 2023. [En ligne]. <https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/multimedia/figure/r%C3%A9gulation-de-la-pression-art%C3%A9rielle-le-syst%C3%A8me-r%C3%A9nine-angiotensine-aldost%C3%A9rone>. Consulté le [01-05-2023].
- [43] Physiologie des systèmes intégrés, les principes et fonctions. 2023. [En ligne]. https://ressources.unisciel.fr/physiologie/res/Figure_8_1.png. Consulté le [02-05-2023].

- [44] Médicaments du système rénine-angiotensine. [En ligne] <https://www.cismef.org/page/renine> .Consulté le [03-04-2023].
- [45] Nazneen M. How do renin inhibitors combos work?. 2021. [En ligne]. https://www.rxlist.com/how_do_renin_inhibitors_combos_work/drug-class.htm?fbclid=IwAR2f-K3f0zPEHrIfVmXRQP_l6mkrPfFAV4hITj4c9fZ01vn2OqEE74-57AA. Consulté le [02-05-2023].
- [46] Gradman A. H., Schmieder R. E., Lins R. L., Nussberger J., Chiang Y., Bedigian, M. P. 2005. Aliskiren, a novel orally effective renin inhibitor, provides dose-dependent antihypertensive efficacy and placebo-like tolerability in hypertensive patients. *Circulation*. **111**(8) : 1012-1018.
- [47] Fernandez E., Simonet L. 2010. Y at-il une place aujourd'hui pour les inhibiteurs directs de la rénine ? *Revue médicale suisse*. **6** (267) : 1963.
- [48] Wood J. M., Maibaum J., Rahuel J., Grütter M. G., Cohen N. C., Rasetti V., Bedigian M. P. 2003. Structure-based design of aliskiren, a novel orally effective renin inhibitor. *Biochemical and biophysical research communications*. **308**(4) : 698-705.
- [49] Azizi A. 2006. Hypertension artérielle. Réalités Cardiologiques. N° 219 - Cahier 1
- [50] Rognan D. Méthodes de criblage in silico de chimiothèques, 2014. [En ligne]. <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/biomedical-pharma-th15/chimie-pharmaceutique-42609210/methodes-de-criblage-in-silico-de-chimiotheques-pha1020/>. Consulté le [01-04-2023].
- [51] Rognan, D. Chapitre 16 : Criblage virtuel par docking moléculaire.
- [52] Mokrani E. H., Bensegueni A., Chikhi A., Teniou S., Merabti B., Boucherit H. 2012. Mise en évidence par criblage virtuel d'un nouveau inhibiteur xanthinique de la DPP4 pour le traitement du diabète de type 2. *Les technologies de laboratoire*. **7**(27) : 41-48.
- [53] Virtual Screening. 2023. [En ligne]. <https://www.creative-biolabs.com/drug-discovery/therapeutics/virtual-screening.htm>. Consulté le [01-04-2023].
- [54] Lagarde N. Méthodes de criblage virtuel *in silico* : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de doctorat en Bioinformatique. École doctorale Abbé Grégoire. France. 2014. 316p

- [55] Kucera T. 2016. Virtual screening in drug design—overview of most frequent techniques. *Military Medical Science Letters*. **85**(2): 75-79.
- [56] Vayer P., Arrault A., Lesur B., Bertrand M., Walther B. 2009. Apports de la chimio-informatique dans la recherche et l'optimisation des molécules d'intérêt thérapeutique. *médecine/sciences*. **25**(10) : 871-877.
- [57] Analyse de la structure des protéines.2023. [En ligne]. <https://www.sigmaaldrich.com/DZ/fr/applications/protein-biology/protein-structural-analysis#protein-structure-determination>. Consulté le [29-03-2023].
- [58] Rognan D., Bonnet P. Les chimiothèques et le criblage virtuel.2014. [En ligne]. https://www.medicinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2014/12/medsci20143012p1152/medsci20143012p1152.html. Consulté le 10/04/2023. Consulté le [29-03-2023].
- [59] Présentation de la Plateforme Chimiothèque. 2023. [En ligne]. <https://curie.fr/popin/presentation-de-la-plateforme-chimiotheque>. Consulté le [08-04-2023].
- [60] Elkaim J. Drug design *in silico* : criblage virtuel de protéines à visée thérapeutique. Montpellier. Thèse de doctorat en Chimie-physique. Université bordeaux1. France. 2011. 251p.
- [61] Aimene Y. Synthèse et étude physico-chimique des complexes de rhénium(I) avec des ligands contenant le pharmacophore sulfonamide : Approche expérimentale et théorique. Thèse de doctorat en Chimie physique moléculaire et organométallique. Université de Guelma. Algérie. 2019. 196p
- [62] Mokrani E. H. 2012. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Mémoire de magister en Technologie des explorations biochimiques. Université Mentouri ConstantineI. Algérie. 75p
- [63] Beautrait A. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel VSM-G et étude du domaine FAT de la kinase d'adhérence focale FAK. Thèse de doctorat en Chimie Informatique et Théorique. Université Henri Poincaré-Nancy I. France. 2008. 241p

- [64] Gillet V. 2013. Ligand-based and structure-based virtual screening. University of Sheffield.
- [65] Sellami A. Utilisation des méthodes de criblage virtuel dans un contexte de santé humaine et environnementale : application aux récepteurs nucléaires et aux perturbateurs endocriniens. Thèse de doctorat en Bioinformatique structurale. École doctorale Sciences et Métiers de l'Ingénieur Génomique Bioinformatique et Chimie Moléculaire. France.2022.283p.
- [66] Soudani W., Bouachrine M., Zaki H, Hadjadj-Aould F. Z. 2022. Docking moléculaire de 2-chloroéthylnitrososulfamides à potentiel anticancéreux cytotoxique alkylant. *RHAZES: Green and Applied Chemistry*. **15**: 24-26.
- [67] Agarwal S, Mehrotra R. 2006. An overview of Molecular Docking. *JSM chemistry*. **4**(2): 1024-1028.
- [68] Ismaeel A. G., Al-Dulaimy S. J., Hasan F. F. 2015. Windows Bioinformatics Platform: Approach for Molecular Docking in Drug Discovery. *International Journal of Scientific & Engineering Research*. **6** : 5-11.
- [69] Duhovny D., Nussinov R., Wolfson H. J. 2002. Efficient unbound docking of rigid molecules. *In International workshop on algorithms in bioinformatics*. **2**: 185-200.
- [70] Halperin I., Ma B., Wolfson H., Nussinov R. 2000. Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. **47**: 409-443.
- [71] Maffrand, J. P. 2020. Chapitre III : La chimie thérapeutique : de la biologie chimique à la découverte de nouveaux médicaments. In *La chimie et la santé : Au service de l'homme* (pp. 61-76). EDP Sciences.
- [72] Madan R., Pandit K., Kumar H., Kumari N., Singh S.2021. Principles and aspects of molecular docking: A bird's eye view. *Hans Shodh Sudha*. **1**(1): 110-121.
- [73] Bhagat R. T., Butle S. R., Khobragade D. S., Wankhede S. B., Prasad C. C., Mahure D. S., Armarkar A. V. 2021. Molecular docking in drug discovery. *Journal of Pharmaceutical Research International*. **33** (30B): 46-58.
- [74] Chaudhary K. K., Mishra N. 2016. A review on molecular docking: novel tool for drug discovery. *JSM Chemistry*. **3**(4): 1029.

- [75] Dnyandev K. M., Babasaheb G. V., Chandrashekhar K. V., Chandrakant M. A., Vasant O. K. .2021. A Review on Molecular Docking. *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*. **22**(3): 60-68.
- [76] Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase–Substances antibactériennes à l’aide de techniques de « docking » (arrimage) moléculaire .Thèse de doctorat en Biochimie appliquée. Université Mentouri- Constantine I. Algérie. 2007. 126p.
- [77] Pachoulide C. Les méthodes in silico dans la recherche pharmaceutique : exemple d'application pour l'étude pharmacocinétique post-autorisation de mise sur le marché des β -bloquants utilisés pour le traitement du glaucome. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de Limoges. France.2021.86p
- [78] Ben Nasr N., Guillemain H., Lagarde N., Zagury J. F., Montes M. 2013. Multiple structures for virtual ligand screening: defining binding site properties-based criteria to optimize the selection of the query. *Journal of chemical information and modeling*. **53**(2): 293-311.
- [79] Ferreira L. G., Dos Santos R. N., Oliva G., Andricopulo A. D. 2015. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*. **20**(7): 13384-13421.
- [80] Gohlke H., Klebe G. 2002. Approaches to the description and prediction of the binding affinity of small-molecule ligands to macromolecular receptors. *Angewandte Chemie International Edition*. **41**(15): 2644-2676.
- [81] Vieth M., Hirst J. D., Kolinski A et Brooks C. L. 1998. Assessing energy functions for flexible docking. *Journal of Computer Chemistry*. 19: 1612-1622.
- [82] Boucherit H., Nouioua A., Serrar A., Chikhi A., Bensegueni A.,Merzoug A. 2016. Research of new inhibitors of staphylococcus aureus methionine aminopeptidase by computer simulation. *European Journal of Biomedical*. **3**(7): 54-66.
- [83] Hoffer L. Développement et validation du logiciel SAMPLE : application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du fragment-based drug design. Thèse de doctorat en chimiinformatique Université de Strasbourg. France. 2013. 300p.

- [84] Zhang Y., Skolnick J. 2005. The protein structure prediction problem could be solved using the current PDB library. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **102**(4): 1029-1034.
- [85] Kim S., Chen J., Cheng T., Gindulyte A., He J., He S., Bolton E. E. 2021. PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic acids research*. **49**(D1) : D1388-D1395.
- [86] Kellenberger E., Rodrigo J., Muller P., Rognan, D. 2004. Comparative evaluation of eight docking tools for docking and virtual screening accuracy. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. **57**(2), 225-242.
- [87] Spitzer R., Jain A. N. 2012. Surflex-Dock: Docking benchmarks and real-world application. *Journal of computer-aided molecular design*. **26**(6): 687-699.
- [88] Jain A. N. 2003. Surflex: Fully Automatic Flexible Molecular Docking Using a Molecular Similarity-Based Search Engine. *Journal of Medicinal Chemistry*. **46**: 499-511.
- [89] Boucherit H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de *Mycobacterium tuberculosis* par diverses molécules. Thèse de magister en Biochimie. Université Frères Mentouri, Constantine1. Algérie. 2012. 110p
- [90] Hutchison G. R., Morley C., James C., Swain C., De Winter H., Vandermeersch T., O'Boyle N. M. 2021. Open Babel Documentation.
- [91] O'Boyle N. M., Banck M., James C. A., Morley C., Vandermeersch T., Hutchison G. R. 2011. Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of cheminformatics*. **3**(1): 1-14.
- [92] Introduction et rappels bibliographiques. 2020. [En ligne]. https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/BCM/2020/cours_docking-MOKRANI.pdf . Consulté le [01 /05/2023] .
- [93] Antoine D., Olivier M., Vincent Z., 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*. **7**(1) : 42717.
- [94] preADMET. (<https://preadmet.bmdrc.kr/>). Consulté le [08 /05/2023].

- [95] Domínguez-Villa F. X., Durán-Iturbide N. A., Ávila-Zárraga J. G. 2021. Synthesis, molecular docking, and in silico ADME/Tox profiling studies of new 1-aryl-5-(3-azidopropyl) indol-4-ones: Potential inhibitors of SARS CoV-2 main protease. *Bioorganic chemistry*. **106** : 104497.
- [96] Soualmia F. Analyse multivariée des relations structures activités dans des nouveaux composés organiques à utilisation médicinale. Thèse de doctorat en Chimie. Université d'Oran Mohamed-Boudiaf. Algérie. 2018. 130p.
- [97] Veber D. F., Johnson S.R. , Cheg H. Y., Smith B. R., W et kopple K. D. 2002. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of medicinal chemistry*. **45**: 2615-2623.
- [98] Les 4 étapes de la pharmacocinétique. 2019. [En ligne]. <https://www.lemoniteurdespharmacies.fr/revues/le-moniteur-des-pharmacies/article/n3282/les-4-etapes-de-la-pharmacocinetique.html>. Consulté le [04-05-2023].
- [99] Pharmacocinétique. 2022. [En ligne]. <https://pharmacomedicale.org/pharmacologie/pharmacocinetique/36-etapes-du-devenir-du> . Consulté le [04-05-2023].
- [100] Baptiste C. Développement d'une plateforme de prédiction *in silico* des propriétés ADME-Tox. Thèse de doctorat en chimie et chémoinformatique. Université d'Orléans. France. 2018. 243p.
- [101] Jusqu'ici impénétrables, les voies d'accès au cerveau s'entrouvrent. 2015. [En ligne]. https://www.sciencesetavenir.fr/sante/jusqu-ici-impenetrables-les-voies-d-acces-au-cerveau-s-entrouvrent_29013. Consulté le [05-05-2023].
- [102] Zanger U. M., Schwab M. 2013. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & therapeutics*. **138**(1): 103-141
- [103] Guéguen Y., Mouzat K., Ferrari L., Tissandie E., Lobaccaro J. M. A., Batt A. M., Souidi M. 2006. Les cytochromes P450 : métabolisme des xénobiotiques, régulation et rôle en clinique. *In Annales de biologie clinique*. **64** :535-548.

- [104] Toxicité : qu'est-ce que c'est ? 2018. [En ligne]. <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-toxicite-6517/> . Consulté le [02 -05-2023].
- [105] Péliissier A. L., De Méo M. P., Botta A. 1996. Le test d'Ames : Application aux urines de fumeurs. *La Revue de médecine interne*. **17**(8) : 635-639.
- [106] Banerjee S., Singh S., Policegoudra R., Chattopadhyay P., Ghosh A., Veer V. 2013. Evaluation of the mutagenic potential of a combinational prophylactic transdermal patch by Ames test. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. **28**(5-6) : 322-326.
- [107] Vasdev N., Deshpande M., Katare P., Makwana V., Polaka S., Tekade, M., Tekade R. K. 2022. New emerging technologies for genetic toxicity testing. *Pharmacokinetics and Toxicokinetic Considerations*. **2** :175-219.
- [108] Études de toxicité générale. 2023. [En ligne]. <https://toolbox.eupati.eu/resources/etudes-de-toxicite-generale/?lang=fr> Consulté le [13-05-2023].
- [109] Carcinogène : qu'est-ce que c'est ? 2022. [En ligne]. <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-carcinogene-3096/> Consulté le [14-05-2023].
- [110] Kratz J. M., Grienke U., Scheel O., Mann S. A., Rollinger J. M. 2017. Natural products modulating the hERG channel: heartaches and hope. *Natural product reports*. **34**(8): 957-980.
- [111] Jing Y., Easter A., Peters D., Kim, N., Enyedy I. J. 2015. In silico prediction of Herg inhibition. *Future medicinal chemistry*. **7**(5): 571-586.
- [112] Verdonk M.L., Cole J.C., Hartshorn M.J., Murray C.W., Taylor R.D. 2003. Improved protein–ligand docking using GOLD. *Proteins*. **52**: 609-623.
- [113] Teniou S. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Mémoire de magistère en Biochimie. Université Mentouri Constantine 1. Algérie. 2012. 103p.
- [114] Boucherit H., Chikhi A., Bensegueni A., Merzoug A., Hioual k. S., Mokrani El H. 2014. Theoretical study of the interactions involved in the inhibition of Mycobacterium tuberculosis methionine aminopeptidase by several molecules. *Computational Biology and Bioinformatics*. **2**(5): 63-73.

- [115] Tong, L., Pav, S., Lamarre, D., Pilote, L., LaPlante, S., Anderson, P.C., Jung, G. 1995. High resolution crystal structures of recombinant human renin in complex with polyhydroxymonoamide inhibitors. *Journal of Molecular Biology*. **250** : 211-222.
- [116] Bennamoun L. Chapitre 1 : Généralités sur les enzymes. [En ligne]. <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/BCM/2020/Chapitre%201-Enzymologie.pdf>. Consulté le [29-03-2023].
- [117] Kumar V., Krishna S., Siddiqi M. I. 2015. Virtual screening strategies: Recent advances in the identification and design of anti-cancer agents. *Methods*. **71**: 64-70.
- [118] Clark D. E., Harris N. V., Roach A.G., Anthony D. 2004. Virtual screening. *Drug Discovery world summer*. **37**: 37-41.
- [119] Liao C., Peach M. L., Yao R., Nicklaus M. C. Molecular docking and structure-based virtual screening. 2013. [En ligne]. <https://www.futuremedicine.com/doi/full/10.4155/ebo.13.181> . Consulté le [02-05-2023].

REZAIKI Ahlam
BILEK Nourelhouda
ATEMANI Siham

Date de Soutenance : 24 /06/2023

Thème : Criblage *in silico* pour l'identification de nouveaux inhibiteurs de la Rénine : cible thérapeutique validée pour le traitement de l'hypertension artérielle.

Résumé

L'hypertension artérielle une condition médicale plus fréquente des pathologies cardiovasculaires caractériser par une pression artériel élevé dans les vaisseaux sanguins et l'augmentation le taux de la rénine au niveau rénale. Dans ce contexte, que nous orientons notre travail vers la recherche *in silico* des nouveaux inhibiteurs de la rénine ; cible thérapeutique validée pour le traitement de la maladie de l'hypertension artérielle.

Notre travail avait pour objectif primordial l'acquisition des compétences en modélisation moléculaire, plus exactement le docking moléculaire par le logiciel Surflex-dock, afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de notre cible thérapeutique.

Le programme de criblage virtuel Surflex-dock a été développé pour aider à la mise au point des molécules à activité thérapeutique. Avec un taux de valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2 Å (86%), les performances du programme Surflex-dock sont avérées. Ce test a été suivi d'une analyse visuelle de la superposition des ligands co-cristallisés et ceux obtenus par le docking avec Surflex-dock. Ces tests nous permettent de considérer Surflex-dock comme un programme de docking hautement performant.

Suite aux tests de fiabilité, nous nous sommes fixés comme autre objectif de découvrir de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la rénine. Pour ce faire, nous avons réalisé un criblage de 292 molécules issues de la chimiothèque PubChem envers le site actif de la rénine, nous a permis d'évaluer leurs scores et de faire ressortir les composés CID86768977 et CID124671936, comme nouveaux inhibiteurs potentiels et puissants de la rénine, et pour lesquels nous avons fait une analyse détaillée des diverses interactions. Enfin, la prédiction *in silico* de la similaire médicamenteuse nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADME-Tox de ces nouveaux composés proposés.

Mot clés : Hypertension artérielle, la rénine, Surflex-dock, RMSD, criblage virtuel, ADME-Tox.

Devant le jury :

Présidente : MERZOUG Amina	M.C.A	Centre.Univ.A.Boussouf - Mila
Promotrice : BOUCHERIT Hanane	M.C.B	Centre.Univ.A.Boussouf - Mila
Examinatrice : LALAOUI Meryem	M.C.B	Centre.Univ.A.Boussouf - Mila