



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence / 2024

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliqué

Présenté et soutenu par :
TRAKA Yasmine et ZAABOUBI Amira

Le: Mercredi 26 Juin 2024

Identification de nouveaux inhibiteurs de l'aromatase à partir de composés naturels

Jury :

| | | |
|------------------------|--------------------------|-----------|
| Mr REDOUANE SALAH Sara | Pr Université de Biskra | Président |
| Mr REBAI Redouane | MCA Université de Biskra | Encadreur |
| Mr DEGHIMA Amirouche | MCA Université de Biskra | Examineur |

Année universitaire : 2023-2024

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à exprimer notre gratitude envers Allah, le tout-puissant, pour nous avoir donné la santé, le courage, la volonté et la patience à achever ce travail.

Notre mémoire est bientôt terminée après un long parcours. Nous tenons à remercier chaleureusement tous ceux qui nous ont aidés à réaliser ce modeste travail.

Nous souhaitons à remercier spécialement notre encadreur REBAI Redouane, pour son soutien constant, ses conseils précieux, sa patience infinie,

Nous désirons aussi remercier les membres de jury, qui ont consacré leur temps pour évaluer notre mémoire.

Dédicace

À l'aide de "الله" je termine ce travail qui je dédie : À mes chers parents : Bachir et Massouda Sans vous, sans doute je ne serai pas ici aujourd'hui Pour tout l'amour, le soutien, la patience et les efforts que vous avez fait pour m'aide à réaliser ce rêve.

À tous mes chers frères et sœurs : Abdelaziz, Mohammed, Bouzid, Said, Laid, choaib, Fatima al-Zahra et Salma, mon binôme : zaaboubi amira Pour sa patience, son dévouement et son soutien à chaque étape et pour m'avoir aidé à terminer ce travail.

À tous mes amies et collègues : Pour votre soutien moral, pour m'avoir fait rire quand j'étais super stressée et démoralisée : Safa, Hooda, Randa, Ranai, Zainab, Khadija, Sara, Yasmina, Zina Recevez ici l'expression de mon gratitude merci pour être des bonnes amies.

Traka Yasmine

Dédicace

الحمد لله

*Je remercie en premier lieu 'ALLAH' de ma avoir donné la force, la Volonté,
et la patience durant toutes mes années d'étude.*

Je dédie humblement ce manuscrit à :

*A mes chers et respectueux parents ZAHIA et MOHAMMED AMEZIANE ,
vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer mon attachement, mon amour et
mon affection, je vous offre ce modeste travail en témoignage de tous les
sacrifices et l'immense tendresse dont vous m'avez toujours su me combler.
Merci d'être toujours là pour moi , A tous mes frères Reda et Raouf et mes
sœurs Lina et Meryem .*

*A tous mes familles Et mes amis plus spécialement mon binôme : « YASMINE »
A toute personne ayant participé de près ou de loin
à la réalisation de ce mémoire*

Zaaboubi Amira

Table des Matières

Table des matières

Table des matières

| | |
|------------------------------|---|
| Liste des Tableaux | I |
| Liste des Figures | I |
| Liste des abréviations | I |
| Introduction générale | 1 |

Partie bibliographique

Chapitre 01 : Cancer de prostate

| | |
|--|---|
| 1. L'inflammation et le cancer de prostate et la relation avec l'aromatase : | 2 |
| 1.1. Atrophie inflammatoire profélorative | 2 |
| 1.2. Néoplasie intraépithéliale prostatique de haut grade | 3 |
| 2. Les enzymes stéroïdogénésés : | 3 |

Chapitre 02 : Aromatase

| | |
|---|---|
| 1. Définition aromatase : | 4 |
| 2. Structure : | 4 |
| 3. Site actif : | 5 |
| 4. Mode d'action : | 5 |
| 5. Aromatase et cancer : | 5 |
| 6. Inhibiteur d'aromatase : | 6 |
| 6.1. Définition: | 6 |
| 6.2. Mécanisme d'action : | 6 |
| 6.3. Les inhibiteurs de l'aromatase naturel : | 7 |
| 6.3.1. Chryisine : | 7 |
| 6.3.2. Indole-3-Carbinol : | 7 |
| 6.4. Les effets secondaires | 7 |

Chapitre 03 : Docking moléculaire

| | |
|---|---|
| 1. Définition : | 8 |
| 2. Principe de Docking : | 8 |
| 3. Types de docking moléculaire : | 9 |

Table des Matières

| | |
|---|-----------|
| 3.1. Docking rigide :..... | 9 |
| 3.2. Docking flexible..... | 9 |
| 3.3. Docking flexible-rigide; | 10 |
| 4. Les outils de docking moléculaire : | 10 |
| 4.1. Préparation des récepteurs :.....; | 10 |
| 4.2. Préparation des ligands :..... | 11 |

Partie expérimentale

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

| | |
|---|-----------|
| 1. Matériel | 12 |
| 1.1. Microordinateur :..... | 12 |
| 1.2. Les programmes :..... | 12 |
| 1.2.1. Biovia Discovery studio visualiser:..... | 12 |
| 1.2.2. Pyrex :.....; | 13 |
| 1.2.3. Excel 2016 :..... | 13 |
| 1.3. Les logiciels : | 13 |
| 1.3.1. PDB :..... | 13 |
| 1.3.2. PubChem :..... | 13 |
| 1.3.3. SwissADME :..... | 15 |
| 1.3.4. Pkcsm :..... | 15 |
| 1.3.5. AdmeTlap :..... | 16 |
| 1.3.6. ProTox II :..... | 16 |
| 2. Méthodes :..... | 16 |
| 2.1. Préparation des molécules pour le docking moléculaire :..... | 16 |
| 2.1.1. Préparation d'enzyme (récepteur) :..... | 16 |
| 2.1.2. Préparation de ligand :..... | 17 |
| 2.2. Docking avec PyRx :..... | 18 |
| 2.3. Les méthodes d'évaluation in silico des propriétés ADME :..... | 20 |
| 2.3.1. Les propriétés physico-chimiques :..... | 20 |

Chapitre 02 : Résultats et Discussion

Table des Matières

| | |
|---|-----------|
| 1. Test de fiabilité du programme PyRx : | 23 |
| 2. Résultats de docking moléculaire : | 23 |
| 3. Etude des interactions : | 24 |
| 3.1. Etude des interactions du ligand : | 24 |
| 3.1.1. Interaction Aromatase – Hopeachinol B : | 24 |
| 3.1.2. Interaction Aromatase – Wilforlide A : | 26 |
| 3.1.3. Interaction Aromatase – Cucurbitacin S : | 27 |
| 3.1.4. Interaction Aromatase – Rosamultin : | 28 |
| 3.1.5. Interaction Aromatase –zéaxanthine : | 30 |
| 3.1.6. Interaction Aromatase – Létrozole : | 31 |
| 4. Discussion générale : | 32 |
| 5. Evaluation des propriétés ADMET des meilleurs inhibiteurs : | 33 |
| 6. Comparaison des résultats pour SwissADME : | 38 |
| 7. Comparaisin par ProToxII : | 39 |
| Conclusion : | 40 |
| Bibliographie : | 41 |
| Annexes : | 46 |
| Résumé : | 50 |

I

Liste des Tableau

Liste des Tableau

| | |
|---|----|
| Tableau 01 : Les formes SMILES et les identifiants des molécules testées..... | 20 |
| Tableau 02 : Les scores de docking pour les cinq meilleurs ligands..... | 23 |
| Tableau 03 : Profil ADME-T de ligand de référence et des meilleurs inhibiteurs à partir du serveur SwissADME. | 35 |
| Tableau 04 : Profil de ligand de référence et des meilleurs inhibiteurs à partir du serveur ProToxII..... | 36 |

II

Liste des Figures

Liste des Figures

| | |
|--|----|
| Figure 01 : Structure générale des CYP450. (TIFOURAK, 2019)..... | 4 |
| Figure 02 : : Représentation schématique du Docking. (TIFOURAK, 2019). | 8 |
| Figure 03 : Différents types d'études d'amarrage basées sur la flexibilité des récepteurs/ligands considérés dans l'interaction moléculaire. (Mohanty et Mohanty, 2023).. | 10 |
| Figure 04 : Interface logiciel Discovery Studio 2024..... | 12 |
| Figure 05 : Interface d'utilisateur PyRx. | 13 |
| Figure 06 : Page d'accueil de la base des données PubChem. | 15 |
| Figure 07 : Structure de la chaîne ligand groupe protéique pour l'enzyme de l'aromatase... | 17 |
| Figure 08 : Structure 3D du ligand de l'aromatase | 18 |
| Figure 09 : Grid box pour la structure de l'enzyme Aromatase avec le Ligand. | 19 |
| Figure 10 : Les différentes interactions trouvées entre l'Hopeachinol B et les résidus de site actif de 3QEM. | 25 |
| Figure 11 : Structure 3D et Structure 2D de complexe 3QEM- Hopeachinol B. | 26 |
| Figure 12 : Les différentes interactions trouvées entre la Wilforlide A et les résidus de site actif de 3QEM. | 26 |
| Figure 13 : Structure 3D et Structure 2D de complexe 3QEM - Wilforlide A | 27 |
| Figure 14 : Les différentes interactions trouvées entre la cucurbitacins S et les résidus de site actif de 3QEM..... | 28 |
| Figure 15 : Structure 3D et Structure 2D de complexe 3QEM- Cucurbitacin S. | 28 |
| Figure 16 : Les différentes interactions trouvées entre la rosamultin et les résidus de site actif de 3QEM..... | 29 |
| Figure 17 : Structure 3D et Structure 2D de complexe 3QEM - Rosamultin..... | 29 |
| Figure 18 : Les différentes interactions trouvées entre la zéaxanthine et les résidus de site actif de 3QEM..... | 30 |
| Figure 19 : Structure 3D et Structure 2D de complexe 3QEM – zéaxanthine..... | 31 |
| Figure 20 : Les différentes interactions trouvées entre Létrozole et les résidus de site actif de 3QEM. | 31 |
| Figure 21 : Structure 3D et Structure 2D de complexe 3QEM- Létrozole. | 32 |

III

Liste des abréviations

Liste des abréviations

HBP : hyperplasie bénigne de la prostate.

NIP: néoplasie intra-épithéliale prostatique.

HPIN: high grade prostatic intraepithelial neoplasia.

DHEA: dehydroepian drosterone.

DHEA-S: dehydroepian drosterone sulfate.

CYP17A1: 17 α -hydroxylase and C17,20 lyase.

P450: 17 A-hydroxylases C 14-C 17,20 lyase.

DHT: didrotestosterone.

ACTH: adrenocorticotropics.

I3C: indole-3-carbinol.

CENS : 2-chloroéthylnitrososulfamides.

RMN: nuclear magnetic resonance.

PDB: Protéine Data Bank.

3D : Tridimensionnelle.

2D : Bidimensionnel.

ADMET : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicologie.

ADME : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion.

SDF : Structure Data File

Hetatm : Hétéroatome

H : hydrogène.

Log P : logarithme P.

PM: poids moléculaire.

RMSD: Root Mean Square Deviation.

TPSA: The polar surface area.

Hacc : H d'accepteurs.

Hdon: H donneurs.

Rbon: revolving bonds.

SA : synthetic accessibility.

BHE : barrière hémato-encéphalique.

GI : Gastro-intestinale

BBB : blood-brain barrier

Introduction générale

Introduction générale

Le cancer est caractérisé par un processus de croissance unique, qui conduit à la formation de tissus anormaux pour remplacer les tissus environnants. Il se propage localement puis à d'autres parties du corps. La tendance du cancer à se répéter après le traitement souligne l'importance cruciale de la recherche et du traitement pour améliorer les chances de survie et la qualité de vie des patients, et le cancer de la prostate est rare chez les hommes de moins de 40 ans, mais son risque augmente considérablement après 50 ans. Cependant, cette maladie peut toucher tous les hommes, peu importe leur âge. Un suivi médical régulier et des examens médicaux appropriés sont donc essentiels pour une détection précoce et une prise en charge efficace. (Tonry et al., 2020 ; Cecchi et al., 2023 ; Lapôte-Ledoux et al., 2023).

La recherche d'inhibiteurs de l'aromatase est essentielle pour contrôler les niveaux d'androgènes / œstrogènes, qui sont nécessaires pour prévenir des maladies comme le cancer du sein et la prostate. Différentes stratégies, y compris la modélisation moléculaire, sont utilisées pour développer ces inhibiteurs, en particulier dans la maturité structurelle et la fonction testiculaire. Les modèles de mammifères aident également à étudier la forme du site actif et à développer des inhibiteurs. En outre, les composés naturels trouvés dans l'environnement montrent également des effets anti-aromatase. En bref, ces inhibiteurs sont nécessaires pour équilibrer les niveaux d'œstrogènes, ce qui est essentiel pour la physiologie masculine et féminine, y compris la fonction gonadotrope. (Debiais, 2011 ; Acar Çevik et., 2020).

Le développement de nouveaux inhibiteurs de l'aromatase est important pour la recherche des traitements anticancéreux. Dans cette étude, des composés avec des propriétés antiinflammatoires appartiennent à la bibliothèque des produits naturels (ChemFaces) ont été testés pour son potentiel inhibiteur vis-à-vis de l'aromatase, en analysant les types d'interactions protéine-inhibiteurs. Donc, Comment pouvons-nous trouver et identifier le composé naturel approprié pour inhiber l'enzyme de l'aromatase ?

Partie 1 :
Synthèse Bibliographique

Chapitre 1 :

Cancer de prostate

1. L'inflammation et le cancer de prostate et la relation avec l'aromatase :

De nouvelles preuves suggèrent que l'inflammation de la prostate peut jouer un rôle dans la croissance de cancer, que ce soit en favorisant des modifications hyperplasiques (HBP) ou néoplasiques. On suppose que l'inflammation peut contribuer à la formation de cellules cancéreuses en endommageant les cellules et le génome, ce qui favorise le renouvellement cellulaire dans le sens mauvais. L'association entre l'inflammation chronique de la prostate, connue sous le nom de prostatite chronique, et le risque accru de cancer de la prostate est bien établie. L'inflammation peut stimuler la croissance et la progression des cellules cancéreuses dans la prostate. Cependant, il convient de souligner que l'inflammation n'est pas le seul facteur contribuant au cancer de la prostate ; d'autres éléments tels que les antécédents familiaux, l'âge et les facteurs génétiques peuvent également jouer un rôle dans le développement de cette maladie. Avec l'âge, la production de testostérone par la prostate diminue progressivement, commençant généralement à diminuer à partir de la quarantaine. Cette baisse est due à une diminution de la production de testostérone par les testicules, entraînant une réduction du taux sérique de cette hormone. En revanche, le taux d'œstrogène peut rester stable ou augmenter en raison de l'aromatase des androgènes (voie métabolique permettant la transformation des androgènes en œstrogènes par transformation du premier cycle hexagonal de leur structure stéroïdique) produits par les tissus adipeux périphériques. Cette augmentation du ratio œstrogènes/androgènes peut accroître considérablement les risques de cancer de la prostate. Le développement de ce type de cancer peut également être favorisé par une hyper-expression du récepteur aux androgènes, des mutations au niveau du récepteur, un recrutement excessif de Co activateurs transcriptionnels et l'activation de diverses voies de signalisation impliquant le récepteur. (Arya et al., 2006 ; Sciarra et al., 2006 ; Rivest, 2010).

1.1. Atrophie inflammatoire profélorative :

L'atrophie est un processus courant, fréquemment observé chez les patients âgés, mais également présent chez des patients plus jeunes. Dans la plupart des cas, son origine est inconnue (idiopathique) et elle est souvent associée à une inflammation chronique. Parfois, l'atrophie se développe à la suite d'une ischémie (anémie locale, arrêt ou insuffisance de la circulation du sang dans un tissu ou un organe), d'une radiothérapie ou d'une hormonothérapie. Il est courant que les cellules sécrétoires aient un cytoplasme peu abondant et amphophile qui fixe à la fois les colorants acides et basiques dans ce contexte. Il y a quatre catégories d'atrophie : les hyperplasies bénignes de la prostate, les hyperplasies adénomateuses atypiques, les

hyperplasies à cellules claires cribriformes et les hyperplasies adénoïde-kystique. (Compérat et al., 2013).

1.2. Néoplasie intraépithéliale prostatique de haut grade :

Néoplasie intra-épithéliale prostatique (NIP) se caractérise par la présence d'acini ou de canaux prostatiques à l'apparence légère, mais formés de cellules atypiques de haut grade. Auparavant connue sous le nom de dysplasie intra canalaire, la NIP se décline en trois types : PIN de grades 1, 2 ou 3, correspondant respectivement à des dysplasies de faible, moyenne ou sévère intensité. Le terme de NIP de haut grade regroupe les grades 2 et 3, tandis que la NIP 1 correspond aux formes de faible intensité.

De nombreux éléments soutiennent le caractère précancéreux des lésions de NIP de haut grade (HPIN) : leur présence dans les cas de cancer de la prostate, contrairement à la prostate saine, l'augmentation du nombre de foyers de NIP en cas de lésions cancéreuses multifocales, leur localisation préférentielle dans la prostate périphérique et l'expression commune de différents marqueurs entre les NIP et le cancer prostatique.

En pratique, les lésions de HPIN sont observées dans environ 6 % des biopsies prostatiques en moyenne (0,7 à 20).

Les lésions de HPIN sont ainsi considérées comme des lésions précancéreuses, notamment pour les cancers développés dans la prostate périphérique, les plus courants. Cependant, il existe des cancers prostatiques qui ne présentent pas de lésions de NIP associées, notamment ceux développés dans la zone de transition. (El Messaoudi, 2020).

2. Les enzymes stéroïdogénèses :

Chez la plupart des animaux, les stéroïdes sexuels sont exclusivement produits et sécrétés dans les gonades (testicules/ovaires). Cependant, les humains sont les seuls êtres vivants, excepté quelques autres grands primates, à sécréter dans leurs surrénales de grandes quantités du précurseur commun inactif déhydroépiandrostérone (DHEA). Ce précurseur est ensuite transporté par la circulation sanguine sous forme sulfatée (DHEA-S) et transformé en stéroïdes sexuels dans les tissus périphériques par des enzymes stéroïdiennes spécifiques. Ce processus de synthèse des androgènes et estrogènes dans les tissus périphériques où l'action stéroïdienne est exercée sans libération des hormones actives dans l'espace extracellulaire et la circulation sanguine est connu sous le nom d'intracrinologie celui-ci permet une régulation fine des taux intracellulaires de stéroïdes sexuels. (Carreau, 2000).

Chapitre 2 : Aromatase

Chapitre 2 Aromatase

1. Définition aromatase :

L'aromatase est un élément spécifique du système enzymatique du cytochrome P450 et constitue de deux entités protéiques : une cytochrome P450 aromatase, spécifique de la liaison du stéroïde et de la réaction d'aromatation, et une cytochrome P450 réductase (utilisant une flavoprotéine non spécifique), qui contient la protéine protéique du sang, présente dans le réseau endoplasmique, qui stimule l'étape de détermination du taux de conversion des androgènes (androgènes et testostérone), en œstrogènes (œstrogènes et estradiol).

Le bioœstrogène est fabriqué par l'enzyme aromatase, un produit du gène CYP19 exprimé non seulement dans les ovaires et les testicules, mais aussi à de nombreux endroits en dehors de la glande tels que le placenta, le cerveau, le tissu adipeux, les os et le tissu tumoral du sein. (Carreau et Levallet, 1998 ; Stefan et Waler, 2008).

2. Structure :

L'aromatase, un cytochrome mono-oxygénase, est une enzyme humaine monomère avec une structure globulaire enchâssée dans la double couche lipidique membranaire. La majeure partie de l'enzyme est exposée à la face cytoplasmique du réticulum endoplasmique via son extrémité N-terminale. Composée d'un groupe hème et d'une chaîne polypeptidique de 503 résidus d'acides aminés, la structure tridimensionnelle de l'aromatase comprend douze hélices majeures et dix brins β , organisés en une grande feuille et trois feuilles mineures, suivant le pli caractéristique du cytochrome P450. Une molécule d'androstenedione se lie au site actif de l'enzyme situé dans la cavité distale de la poche de liaison à l'hème. L'extrémité N-terminale commence au résidu 45 et est en bleu foncé, tandis que l'extrémité carboxyle se termine au résidu 496 et est en rouge. Le groupe hème et le ligand lié sont situés au centre de la protéine. (Chen et al., 1993 ; Marie, 2009 ; Ghosh et al., 2010 ; Suvannang et al., 2011).

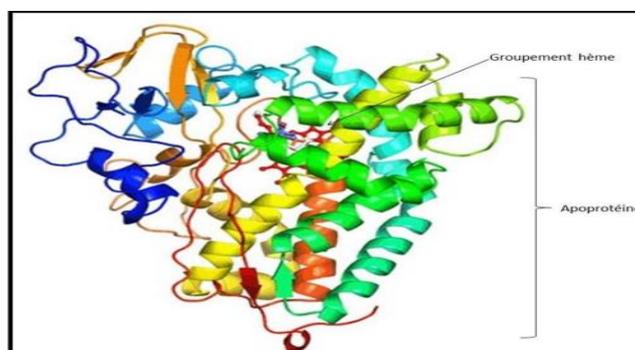


Figure 01 : Structure générale des CYP450. (Tifourak, 2019).

Chapitre 2 aromatase

3. Site actif :

L'analyse de la structure et de la fonction de l'enzyme a identifié deux régions clés du site actif, à savoir l'hélice I (Cys-299 à Ser-312) et la poche "hydrophobe" (Ile-474 à His-480), qui jouent un rôle essentiel dans la liaison du substrat et la conversion de l'androgène en œstrogène. Les mutations dans ces régions entraînent une diminution de l'affinité pour le substrat et les inhibiteurs. L'étude de deux mutants, H480K et H480Q, a révélé que His-480 est impliqué dans des liaisons hydrogène avec le groupe cétone en position 3 du substrat d'androgène. (Ghosh et al., 2010).

4. Mode d'action :

De nombreuses études ont montré que la conversion des androgènes en estrogènes par l'aromatase nécessite trois molécules d'oxygène et six équivalents de NADPH, et se déroule en trois étapes principales.

Les deux premières étapes de la conversion des androgènes en estrogènes par l'aromatase, typiques des cytochromes P450, impliquent l'oxydation de l'androgène en un dérivé hydroxylé en position C19 et la perte d'un hydrogène à partir de cet intermédiaire hydroxylé. Deux hypothèses expliquent cette perte d'hydrogène : la formation d'un intermédiaire 19-gem-diol suivi d'une déshydratation, ou une élimination directe d'un hydrogène.

La troisième étape, moins bien comprise, pourrait impliquer une attaque par des radicaux nucléophiles. Trois mécanismes sont proposés : une attaque par un radical ferroxyl, une attaque par un radical peroxyde ferrique, ou une combinaison des deux.

Pour la formation finale de l'estrogène, deux mécanismes de clivage de la liaison C10-C19 ont été proposés, tous deux conduisant à la libération d'acide formique et à la perte des hydrogènes 1 et 2 β . (Chulia Et Fagnere, 2005).

5. Aromatase et cancer :

La croissance et le développement normaux de la prostate dépendent de la présence et de l'action des androgènes, qui sont également des facteurs de risque connus dans les maladies bénignes et malignes de la prostate. Malgré une diminution des taux sériques d'androgènes avec l'âge, l'incidence de la maladie de la prostate augmente. Des preuves récentes suggèrent que les œstrogènes pourraient jouer un rôle important dans la prostate normale et dans l'émergence des maladies prostatiques, montrant ainsi une réponse directe aux œstrogènes. Des études récentes indiquent que les œstrogènes peuvent contribuer aux maladies de la prostate, notamment en

Chapitre 2 aromatase

favorisant la dysplasie précancéreuse et en augmentant le risque de malignité lorsqu'ils sont associés à des androgènes. L'enzyme aromatase, responsable de la conversion des androgènes en œstrogènes, est exprimée dans la prostate, et son expression anormale peut jouer un rôle clé dans les processus pathologiques. (Ellem et Risbridger, 2006).

6. Inhibiteur d'aromatase :

6.1. Définition :

Les inhibiteurs de l'aromatase ont été développés principalement en se basant sur des études de relation entre la structure et l'activité inhibitrice. On distingue deux types d'inhibiteurs : les inhibiteurs stéroïdiens et non stéroïdiens. Les inhibiteurs stéroïdiens sont généralement des analogues des substrats androgènes, tandis que les inhibiteurs non stéroïdiens perturbent les propriétés catalytiques du groupe prosthétique de l'hème de l'aromatase. Bien que certains inhibiteurs se soient avérés être très puissants et spécifiques, la nature exacte de leurs interactions avec les aromatases reste inconnue. Cela est particulièrement vrai pour les inhibiteurs non stéroïdiens, en raison de la diversité de leurs structures. Malgré ces différences structurales, il est supposé que ces composés se lient au site actif de l'aromatase, comme en témoigne leur capacité à inhiber l'enzyme par compétition. (Chen, 1998).

6.2. Mécanisme d'action :

L'acétate d'abiratérone est un inhibiteur sélectif et irréversible du cytochrome P450 17 α -hydroxylases-C17,20 lyase (CYP17A1), une enzyme exprimée dans le testicule, la surrénale et le tissu prostatique tumoral. Il agit à la fois sur la composante extra tumorale en inhibant la synthèse d'androgènes testiculaires et surrénaliens, et sur la composante intra tumorale en bloquant la biosynthèse des androgènes dans les cellules tumorales. Le CYP17A1 catalyse deux réactions clés indépendantes dans la chaîne de biosynthèse des androgènes et des œstrogènes intracellulaires : la conversion de la prégnénolone et de la progestérone en leur dérivé 17 α -hydroxy, puis la production de déhydroépiandrostérone (DHEA) et d'androstènedione respectivement. En ciblant sélectivement le CYP17A1 (17 α -hydroxylase et C17,20 lyase), l'acétate d'abiratérone perturbe la synthèse des androgènes au niveau du testicule, de la glande surrénale et des cellules prostatiques tumorales. Cette inhibition entraîne une élévation significative de la désoxycorticostérone et de la corticostérone, ainsi qu'une augmentation du taux de 11-désoxycortisol. Ces changements peuvent induire un syndrome d'hypersécrétion de minéral corticoïdes. La DHEA et l'androstènedione sont des androgènes précurseurs de la

Chapitre 2 aromatase

testostérone et de la dihydrotestostérone (DHT) impliqués dans le cancer de la prostate. L'inhibition du CYP17A1 conduit également à une réduction de la synthèse du cortisol et à une augmentation des hormones adrénocorticotropes (ACTH), qui sont des précurseurs de diverses hormones stéroïdiennes. (Audenet et al., 2013).

6.3. Les inhibiteurs de l'aromatase naturel :

6.3.1. Chryisine :

La chryisine est l'un des flavonoïdes naturels trouvés dans les plantes, et de grandes quantités se trouvent dans le miel et la propolis. Les flavones comme la chryisine ont des similitudes structurelles avec les androgènes, les substrats de l'aromatase humaine, qui convertit les androgènes en œstrogènes. L'aromatase est une cible clé dans le traitement des tumeurs hormonodépendantes. (Balam et al., 2020).

6.3.2. Indole-3-Carbinol :

L'indole-3-carbinol (I3C), un composant naturel trouvé dans les légumes Brassica tels que le chou, le brocoli, est directement lié à un risque réduit de divers cancers chez l'homme et de réduction des tumeurs. La recherche a montré que les indoles (indole-3-carbinols) peuvent arrêter la croissance des cellules cancéreuses de la prostate humaine de type PC-3 en interrompant leur cycle de division cellulaire et en favorisant leur élimination par apoptose (mort cellulaire programmée). (Meschino, 2002 ; Jump et al., 2008).

6.4. Les effets secondaires :

Les effets indésirables du traitement anti-androgénique peuvent avoir un impact significatif sur la qualité de vie des patients, malgré les améliorations observées dans les résultats oncologiques. Ils peuvent affecter divers systèmes et organes, notamment la santé osseuse, la fonction sexuelle, la santé mentale, ainsi que le risque de maladies cardiovasculaires et de conséquences métaboliques. Pour optimiser les soins des patients sous traitement anti-androgénique, une approche multidisciplinaire est essentielle, impliquant une collaboration active entre spécialistes et généralistes. Il est crucial de surveiller régulièrement les effets indésirables potentiels et d'intervenir rapidement pour les gérer efficacement. (Chaput et Sumar, 2022).

Chapitre 03

Docking moléculaire

Chapitre 3 Docking moléculaire

1. Définition :

Le docking moléculaire consiste en l'utilisation de simulations pour étudier les interactions pharmacologiques entre une protéine cible et un ligand. Dans le domaine du docking moléculaire, l'objectif est de déterminer la configuration optimale de deux molécules, à savoir un ligand et un récepteur. Cette configuration résultante confère des propriétés à l'ensemble formé, appelé complexe. Par exemple, la quête de la bonne structure revêt une importance cruciale dans le développement de nouveaux médicaments. De même, l'interaction de deux protéines peut engendrer des signaux différents en fonction de leur association. Sur le plan informatique, prédire la structure adéquate se traduit par un problème d'optimisation. Chaque position relative possible est associée à une énergie (aussi appelée score, fitness, etc.). La structure la plus plausible est donc celle qui minimise cette énergie. (Guibedj, 2020).

Ces interactions sont basées sur des forces stériques, électroniques et non covalentes telles que les liaisons hydrogène, van der Waals et électrostatiques. Dans le cadre de ce travail, le docking moléculaire des 2-chloroéthylnitrososulfamides (CENS), analogues iso stères de la Carmustine, a été réalisé à l'aide du logiciel AutoDock Vina. (Soudani et al., 2020).

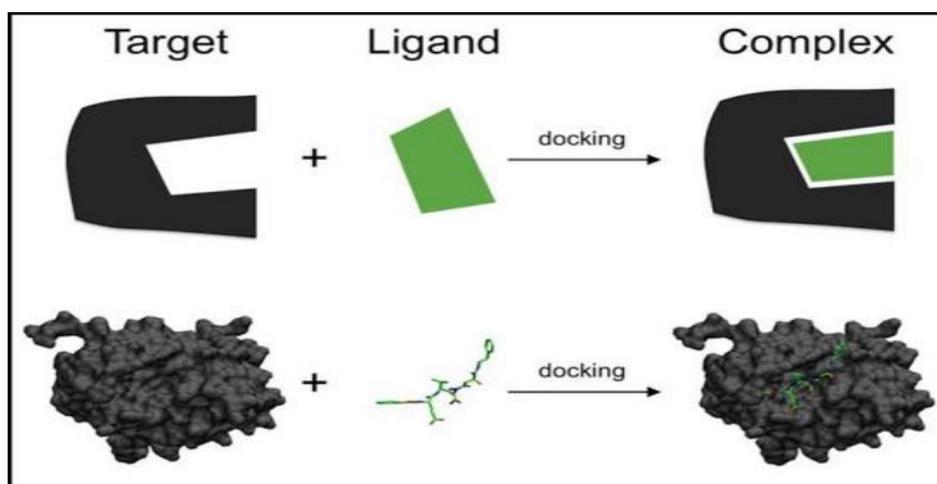


Figure 02 : : Représentation schématique du Docking. (Tifourak, 2019).

2. Principe de Docking :

Le docking moléculaire est une approche pratique visant à prédire l'interaction entre deux molécules. Son utilisation principale est de déterminer l'affinité d'un ligand pour une protéine, en identifiant la position et l'orientation optimales pour une interaction efficace. Cette technique est largement employée dans la recherche de nouveaux médicaments, permettant des criblages

Chapitre 3 Docking moléculaire

rapides et rentables pour identifier des molécules actives sur une cible spécifique ou pour découvrir la cible d'une molécule aux propriétés biologiques intéressantes.

Lorsque la structure tridimensionnelle d'une protéine cible est connue, le docking peut mettre en lumière les régions et les résidus à explorer pour améliorer l'affinité d'un ligand avec cette cible, ainsi que pour optimiser la sélectivité entre différentes protéines. Le principe général consiste à positionner le ligand de manière favorable par rapport à la cible, en tenant compte de la géométrie de cette dernière. Pendant le processus de docking, la protéine cible est souvent fixe tandis que le ligand peut avoir une certaine flexibilité, notamment au niveau des angles de torsion. (Guibedj, 2020).

Le processus de docking moléculaire se décompose en deux phases distinctes. La première étape, appelée "Docking", consiste à positionner le ligand dans le site actif préalablement sélectionné de la protéine. Cette étape implique l'échantillonnage des différentes conformations, positions et orientations possibles du ligand, en ne retenant que celles qui favorisent les interactions les plus avantageuses. La seconde phase, nommée "Scoring", vise à classer les poses obtenues lors du docking en évaluant les interactions énergétiques potentielles entre le ligand et la protéine (c'est-à-dire leur affinité). Un score est attribué à chaque pose, permettant ainsi de sélectionner la meilleure parmi toutes les propositions. Ces deux phases se distinguent par le choix du programme de docking utilisé. (Rouaïssia Hamida, 2020).

3. types de docking moléculaire :

Il existe différentes méthodes de docking moléculaire, chacune ayant ses propres caractéristiques et critères de sélection. (Asli, 2020).

3.1. Docking rigide :

Les molécules sont considérées comme rigides, ce qui permet une méthode plus rapide, historiquement la première conçue. (Asli, 2020).

3.2. Docking flexible :

Implique que les deux constituants (molécules et récepteur) sont considérés comme flexibles, offrant ainsi une approche plus complexe mais potentiellement plus précise. (Asli, 2020).

Chapitre 3 Docking moléculaire

3.3. Docking flexible-rigide :

Cette approche combine des éléments de flexibilité et de rigidité. Dans ce scénario, soit le ligand, soit le récepteur est considéré comme un corps rigide. Généralement, la forme du récepteur est maintenue constante, tandis que la conformation du ligand est ajustée. Cette méthode offre une précision et une fiabilité supérieures à celle de l'amarrage rigide et est couramment adoptée. (Mohanty et Mohanty, 2023).

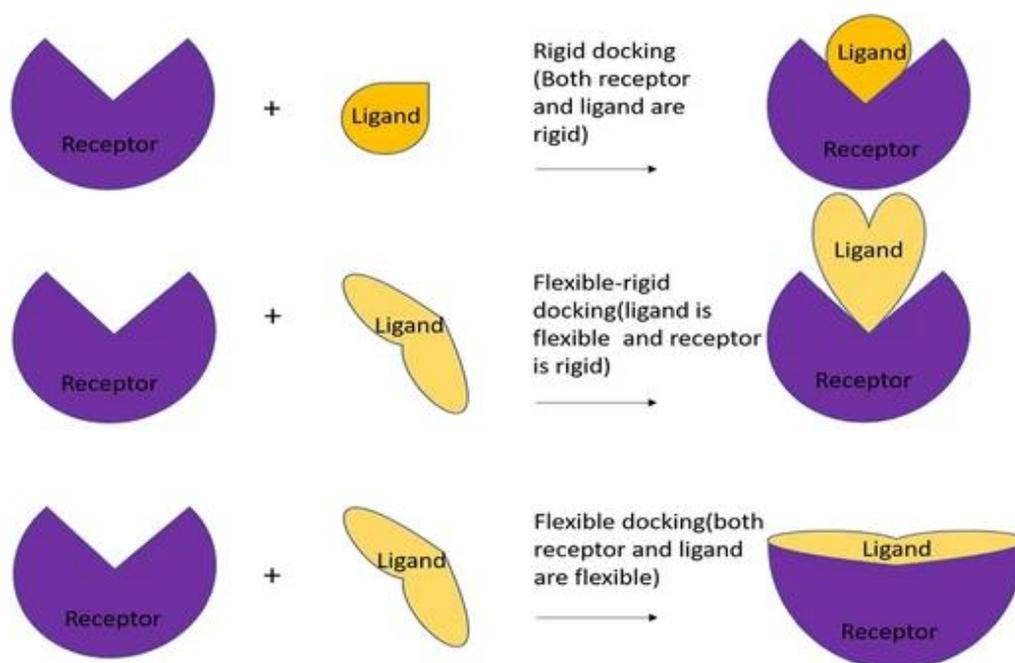


Figure 03 : Différents types d'études d'amarrage basées sur la flexibilité des récepteurs/ligands considérés dans l'interaction moléculaire. (Mohanty et Mohanty, 2023).

4. Outils de docking moléculaire :

Pour pratiquer un docking moléculaire, trois éléments sont nécessaires : un récepteur macromoléculaire protéique appelé cible, un ligand de petite taille et un programme de docking qui prédit la conformation optimale du ligand dans le récepteur sélectionné. (Tifourak, 2019).

4.1. Préparation des récepteurs :

Un récepteur est généralement une macromolécule, souvent une protéine. La Protein Data Bank (PDB) est une base de données mondiale qui recueille des informations sur la structure tridimensionnelle de macromolécules biologiques, principalement des protéines et des acides nucléiques, provenant de divers règnes biologiques.

Chapitre 3 Docking moléculaire

Ces structures tridimensionnelles sont principalement obtenues par diffraction des rayons X, par résonance magnétique nucléaire (RMN) ou par modélisations moléculaires. Les différentes conformations tridimensionnelles sont disponibles en téléchargement avec l'extension .pdb, compatibles avec les logiciels de docking. Elles contiennent diverses informations sur la protéine concernée, telles que le nom du récepteur, l'équipe ayant résolu la structure, la méthode expérimentale utilisée, etc.(Mariya,2023).

4.2. Préparation des ligands :

Les ligands sont des molécules qui se lient de manière réversible à une macromolécule ciblée, telle qu'une protéine ou un acide nucléique, et qui jouent généralement un rôle fonctionnel important, comme la stabilisation structurale, la catalyse, la modulation de l'activité enzymatique ou la transmission de signaux. Dans le cadre du docking moléculaire, le choix du ligand revêt une importance cruciale. Il est essentiel de sélectionner un ligand pertinent en fonction de la spécificité du site actif de la cible afin d'éviter de tester inutilement des molécules. Actuellement, il existe deux principaux moyens d'obtenir la structure chimique d'un ligand donné. Le premier consiste souvent à utiliser des bases de données commerciales regroupant des structures chimiques, appelées chimiothèques ou espaces chimiques. Le deuxième moyen implique l'utilisation de ligands provenant de la Protéine Data Bank (PDB) ou de la littérature scientifique, que l'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2, etc.) à l'aide de logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sibyl, pour n'en citer que quelques-uns. (Tifourak, 2019).

Partie 2 : Etude Expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Microordinateur :

Dans cette étude, nous avons utilisé deux microordinateurs présentant les performances suivantes :

| Caractéristiques | Ordinateur01 | Ordinateur02 |
|------------------------|--|--|
| Mémoire (RAM) | 08 GB | 16 GB |
| Processeur | Intel(R) Core(TM) i5-6300U CPU @ 2.40GHz 2.50 GHz | Intel(R) Core(TM) i7-8650U CPU @ 1.90GHz 2.11 GHz |
| Système d'exploitation | Windows 10 Pro | Windows 11 Pro |
| Type de système | 64-bit operating system, x64-based processor | 64 bits, processeur x64 |

1.2 Les programmes :

1.2.1. Biovia Discovery studio visualiser :

L'étude in silico a utilisé une approche de conception de médicaments basée sur la structure, en se concentrant spécifiquement sur les techniques d'amarrage moléculaire pour étudier les candidats-médicaments potentiels. Cette méthode a permis un examen détaillé de la façon dont diverses molécules interagissent avec les protéines cibles, fournissant des informations précieuses sur leur efficacité potentielle en tant qu'agents thérapeutiques. (Ran et al., 2020).

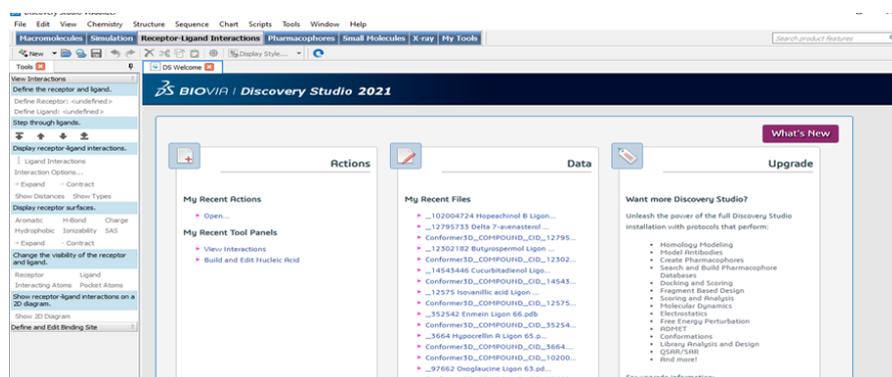


Figure 04 : Interface logiciel Discovery Studio 2021.

1.2.2. Pyrx :

Un logiciel open source avec une interface utilisateur intuitive qui fonctionne sur tous les principaux systèmes d'exploitation (Linux , Windows , Mac OS). Il permet aux chercheurs d'effectuer des simulations de docking pour étudier les interactions ligand-protéine et évaluer la capacité d'une molécule à se lier à une cible spécifique, dans le but de trouver des composés principaux avec une fonction biologique souhaitée. (Dallakyan et Olson, 2015).

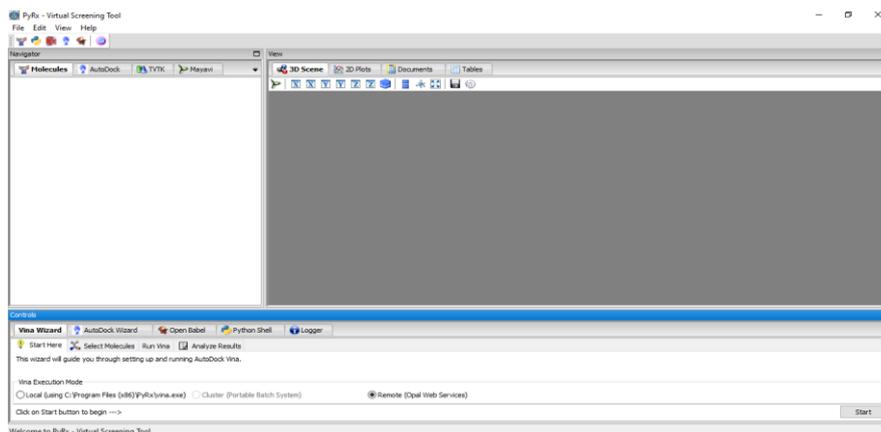


Figure 04 : Interface d'utilisateur PyRx.

1.2.3. Excel 2016 :

Excel est un logiciel de la suite bureautique Office de Microsoft et permet la création de tableaux, de calculs automatisés, de plannings, de graphiques et de bases de données. On appelle ce genre de logiciel un "tableur". (Dahnoun, 2019).

1.3. Les bases de données :

1.3.1 PDB :

La Protéine Data Bank (PDB) est le référentiel mondial des structures 3D expérimentalement définies de grandes molécules biologiques et de leurs agrégats. Nous avons ouvert le serveur PDB dans le navigateur Google et apparu la surface PDB puis on à entrer le mot aromatase dans le chercheur et nous sommes sortis avec plusieurs forme d'enzymes donc nous avons sélectionné le 3QEM et téléchargé sous la forme de PDB (Burley, 2017).

1.3.2. PubChem :

PubChem, avec ses informations spectrales, ses articles scientifiques sur les produits chimiques et ses données sur les produits chimiques alimentaires et agricoles, est une ressource

clé pour la communauté de la recherche biomédicale. Les bases de données sur les substances et sur les composés sont des piliers essentiels de PubChem, fournissant des informations chimiques détaillées provenant de divers contributeurs. La base de données sur les substances contient des données déposées par des individus, tandis que la base de données sur les composés stocke des structures chimiques uniques extraites de ces informations. PubChem offre également une organisation efficace des informations, une normalisation de la structure chimique pour une recherche précise, des interfaces Web conviviales pour les recherches textuelles et non textuelles, ainsi qu'un accès via des programmations spécifiques, renforçant ainsi sa position en tant que ressource incontournable pour la communauté scientifique.

PubChem ne se limite pas à une simple base de données statique, mais propose également des fonctionnalités avancées telles que PubChem3D. Cette ressource dérivée des structures tridimensionnelles théoriques des composés de PubChem permet une visualisation en 3D des molécules, offrant ainsi une perspective plus approfondie sur leur structure et leur conformation. Cette approche innovante renforce la compréhension des interactions moléculaires et ouvre de nouvelles perspectives pour la conception de médicaments et la recherche en chimie. En intégrant ces fonctionnalités avancées, PubChem se positionne comme une ressource incontournable pour la communauté scientifique travaillant dans le domaine de la chimie et de la recherche biomédicale. (Kim et al., 2016 ; Kim et al., 2019).

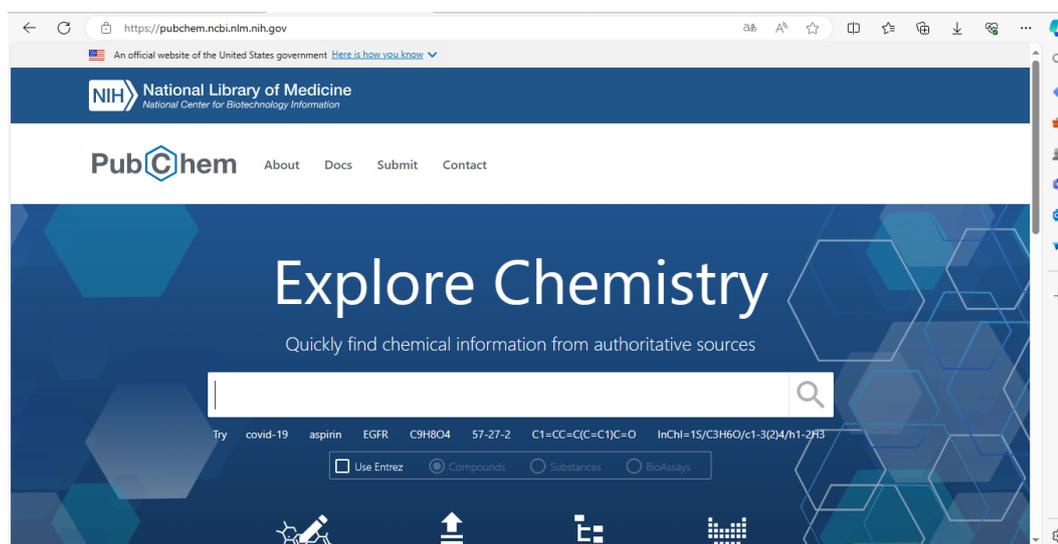


Figure 05 : Page d'accueil de la base des données PubChem.

1.4. Les serveurs :

1.4.1. SwissADME :

Accès et interface de SwissADME :

SwissADME est un logiciel accessible via un serveur web de l'institut suisse de bio-informatique (SIB).

La page de soumission de SwissADME permet à l'utilisateur de dessiner et d'éditer des structures chimiques 2D à l'aide d'un traceur moléculaire basé sur Chem Axons Marvin JS.

Les structures chimiques sont soumises sous forme de liste et les résultats sont présentés pour chaque molécule individuellement.

❖ Format des résultats :

- Les résultats sont présentés sous forme de tableaux, de graphiques et d'une feuille de calcul Excel.
- Chaque molécule possède un panneau dédié dans le fichier de sortie SwissADME pour une visualisation et une exportation claires.
- Le panneau de chaque molécule contient toutes les informations prédites par SwissADME.
- SwissADME offre une interface conviviale pour la soumission de structure chimique et la visualisation des résultats prédictifs lié aux propriétés ADME. (Ranjith, et Ravikumar, 2019).

1.4.2. PKCSM :

L'outil PkCSM est une méthode novatrice qui utilise des signatures basées sur des graphes pour développer des modèles prédictifs des propriétés ADMET centrales (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) dans le cadre du développement de médicaments. Il vise à réduire le taux d'attrition élevé des médicaments en phase de développement, souvent dû à de mauvaises propriétés pharmacocinétiques et de sécurité. PkCSM performe aussi bien ou mieux que les méthodes actuelles et propose une plateforme web accessible gratuitement (<http://structure.bioc.cam.ac.uk/pkcsm>) permettant d'évaluer rapidement les propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques sans conserver les informations soumises. (Pires et al., 2015).

1.4.3. ADMETlap :

ADMETLAP est une plateforme web appelée ADMETlab, développée pour l'évaluation systématique des propriétés ADMET (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité) des produits chimiques. Elle repose sur une base de données ADMET contenant 288 967 entrées et propose quatre modules fonctionnels permettant l'analyse de la similarité des structures chimiques, l'évaluation systématique, la recherche de base de données et la prédiction de 31 points de terminaison ADMET. La plateforme vise à réduire les échecs de la recherche et développement pharmaceutique en facilitant l'évaluation précoce de la "drug-likeness", le filtrage virtuel rapide des ADMET et la priorisation des structures chimiques. Elle est accessible gratuitement via un site web basé sur le framework Django en Python. (Dong et al., 2018).

1.4.4. ProTox II :

Interface conviviale et structure 2D comme seule exigence, ProToxII se présente comme un outil précieux pour simplifier le processus de prédiction de la toxicité potentielle des molécules, en particulier dans les phases initiales du développement de médicaments. (Drwal et al., 2014).

2. Méthodes :

2.1. Préparation des molécules pour le docking moléculaire :

2.1.1. Préparation d'enzyme (récepteur) :

Dans le cadre de cette étude, la structure 3D de l'enzyme aromatasase a été obtenue à partir de la banque de données des protéines PDB, qui constitue une ressource essentielle pour la communauté scientifique en matière de structures protéiques. Pour optimiser la structure du récepteur, les molécules d'eau et les cofacteurs (hetatm, site actif, groupe ligand, autre chaîne supplémentaire ...) ont été éliminés à l'aide du logiciel Discovery Studio. Cette étape permet d'obtenir un site actif libre et dégagé, favorisant ainsi l'interaction avec les ligands ou substrats potentiels. Ensuite, des atomes d'hydrogène polaires ont été ajoutés à la structure à l'aide d'Auto Dock Tools. Cette étape vise à améliorer la précision des simulations de docking moléculaire en prenant en compte les interactions hydrogène nécessaires pour la reconnaissance et la liaison des molécules cibles.

En combinant des techniques expérimentales telles que la cristallographie aux rayons X avec des outils de modélisation moléculaire avancés, cette approche permet d'obtenir une

Chapitre 1 Matériel et méthodes

représentation précise et fonctionnelle de la structure de l'enzyme aromatasase, offrant ainsi des perspectives intéressantes pour l'étude de ses interactions avec des ligands potentiels et le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

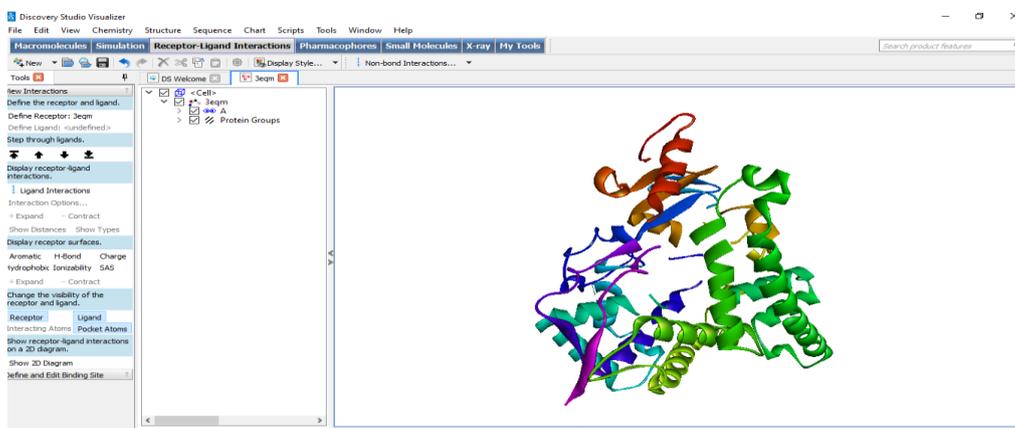


Figure 06 : Structure de la chaine ligand groupe protéique pour l'enzyme de l'aromatase.

2.1.2. Préparation de ligand :

Dans le cadre de cette étude, nous avons sélectionné un ensemble de molécules appartenant à la famille des monoterpènes pour évaluer leur potentiel en tant qu'inhibiteurs de l'aromatase. Les monoterpènes sont des composés organiques naturels présents dans de nombreuses plantes et huiles essentielles, et ils ont montré des activités biologiques intéressantes, y compris des propriétés inhibitrices d'enzymes clés comme l'aromatase.

Les structures 2D des molécules choisies ont été représentées, fournissant ainsi une visualisation schématique de leur arrangement atomique et de leurs groupes fonctionnels. Pour une compréhension plus approfondie de leur mode d'interaction avec l'enzyme cible, la structure 3D de ces ligands a été obtenue en téléchargeant les fichiers SDF correspondants à partir du site web PubChem, puis en les convertissant au format PDB pour une intégration dans les simulations de docking moléculaire. (Figure (8)).

Cette approche combinant des données expérimentales sur les structures 2D et 3D des molécules avec des outils de modélisation moléculaire permet d'explorer de manière détaillée les interactions entre les ligands et l'aromatase, offrant ainsi des perspectives prometteuses pour la conception de nouveaux inhibiteurs ciblant cette enzyme impliquée dans la biosynthèse des œstrogènes. (Aziza Chabira, 2021).

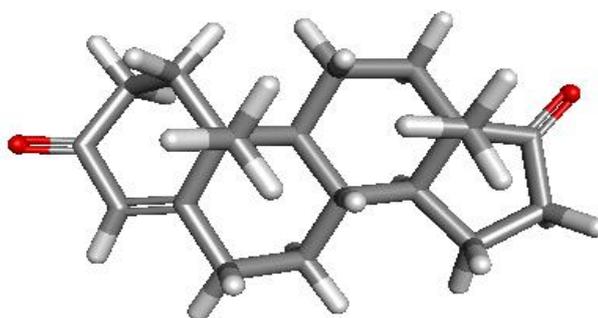


Figure 07: Structure 3D du ligand de l'aromatase

2.2. Docking avec PyRx :

La liaison aux protéines et le ligand jouent un rôle important dans l'analyse et la compréhension des interactions entre les protéines et le ligand. Il est utilisé pour prédire la position de liaison et la convergence entre les paires de protéines et les ligaments. Divers programmes d'amarrage gratuits, tels que PyRx, sont couramment utilisés dans la modélisation moléculaire. L'étape initiale de l'étude d'amarrage consiste généralement à valider le protocole d'arrimage en supprimant certains liens dans la structure protéique de la banque de données protéiques (BDP). Ce processus permet d'évaluer l'efficacité de la procédure d'amarrage avant de procéder avec les ligaments cibles. Cependant, la réingénierie peut parfois conduire à des résultats trop optimistes, ce qui entraîne des résultats médiocres avec des associations de cibles. Lorsque plusieurs structures de protéines PDB sont disponibles pour l'avenir, il est essentiel de choisir la structure la plus appropriée pour prédire la situation. Le cross-docking fournit une approche alternative pour identifier les structures holo-parfaites parmi plusieurs options de protéines cibles. En outre, PyRx a des capacités chimiques de table et un moteur de visualisation puissant qui est nécessaire pour la conception rationnelle des médicaments. Ce programme agit comme un outil de dépistage virtuel pour la découverte de médicaments informatiques, permettant aux chimistes médicaux d'inspecter efficacement les bibliothèques. PyRx prend en charge le filtrage virtuel sur différentes plateformes et guide les utilisateurs à chaque étape du processus, de la préparation des données à l'analyse des résultats. L'assistant d'amarrage facile à utiliser est un outil précieux pour la conception de médicaments assistés par ordinateur. (Ounthaisong et Tangyuenyongwatana, 2017).

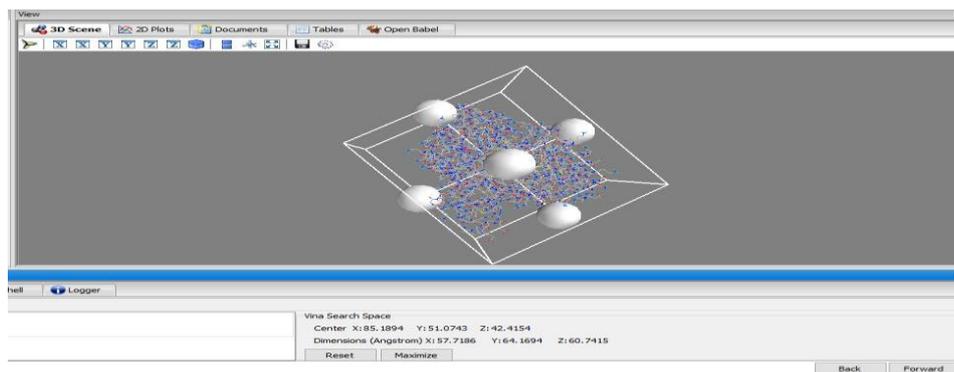
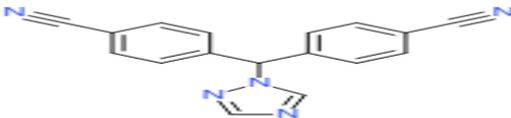
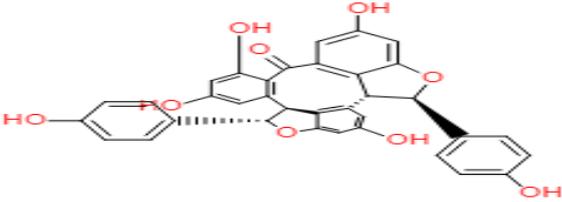
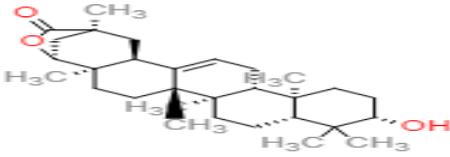


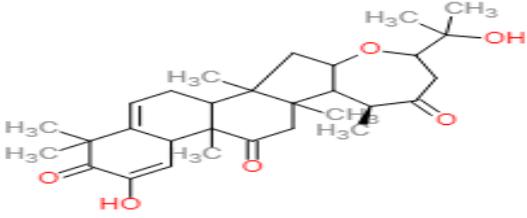
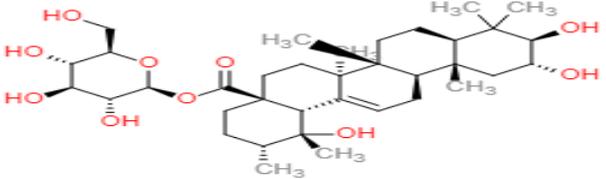
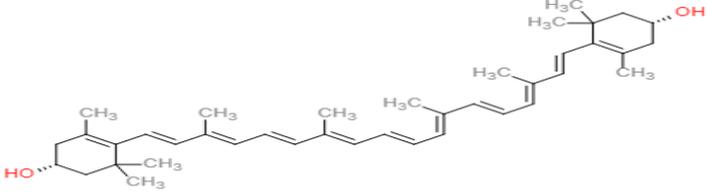
Figure 08 : Grid box pour la structure de l'enzyme Aromatase avec le Ligand.

Les principales composées :

L'étude du dossier ADME comprenait cinq particules de composés naturels et un ligand de référence. La structure juridique SMILES pour chacune de ces molécules a été copiée à partir de la base de données PubChem et entrée dans le serveur de prédiction (Tableau).

Tableau 01 : Les formes SMILES et les identifiants des molécules testées.

| Molecule | ID PubChem | Canoniques SMILES |
|---------------|------------------|--|
| Létrozole | <u>3902</u> |  |
| Hopeachinol B | <u>102004724</u> |  |
| Wilforlide A | <u>158477</u> |  |

| | | |
|----------------|-----------------|---|
| Cucurbitacin S | <u>119287</u> |  |
| Rosamultin | <u>21122581</u> |  |
| La zéaxanthine | <u>5280899</u> |  |

2.3. Les méthodes d'évaluation in silico des propriétés ADME :

L'évaluation des propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité (ADMET) est essentielle dans la recherche de médicaments et l'évaluation des risques environnementaux. Pour qu'un médicament soit efficace, il doit atteindre sa cible dans le corps en concentration suffisante et y rester actif assez longtemps. Dans le processus de développement de médicaments, il est de plus en plus important d'évaluer l'ADME dès les premières étapes, lorsque de nombreux composés sont considérés mais que l'accès aux échantillons physiques est limité.

2.3.1. Les propriétés physico-chimiques :

- **La règle de Lipinski (règle de 5) :**

La persistance d'une molécule candidate-médicament dans l'organisme humain pour une durée suffisante afin d'exercer son activité biologique est essentielle. Les caractéristiques d'ADME de ces molécules sont évaluées lors de la première phase clinique sur des sujets sains. Lipinski a établi des critères pour prédire la biodisponibilité orale d'un composé en se basant sur sa structure 2D. Ces critères portent sur des propriétés physico-chimiques telles que :

- un poids moléculaire inférieur à 500 daltons (Da).
- un logarithme décimal du coefficient de partage eau / 1-octanol (logP) inférieur à 5.
- moins de 5 donneurs de liaisons hydrogène.
- moins de 10 accepteurs de liaisons hydrogène.

Les composés ne respectant pas au moins 2 de ces règles sont susceptibles de présenter des problèmes d'absorption ou de perméabilité. (Lipinski et al., 1997).

- **La règle de Veber :**

Après avoir analysé les données pharmacocinétiques, Veber et ses collaborateurs ont simplifié les règles de « Lipinski ». Ces règles prennent en compte quatre critères simultanément : une aire de surface polaire calculée par des logiciels inférieure ou égale à 140 Å², un nombre de liaisons flexibles inférieur ou égal à 10, un nombre d'accepteurs de liaisons hydrogènes inférieur ou égal à 10 et un nombre de donneurs de liaisons hydrogènes inférieur ou égal à 5.

La solubilité dans l'eau est l'un des paramètres les plus importants pour atteindre la cible, car le sang a un caractère hydrophile.

L'accessibilité à la synthèse chimique peut être simulée à l'aide du serveur SwissADME, qui attribue des valeurs allant de 1 (très facile à synthétiser) à 10 (très difficile à synthétiser), avec une moyenne de 5. (Veber et al., 2002).

Chapitre 2 : Résultats et Discussion

Chapitre 2 Résultats et Discussion

1. Test de fiabilité du programme PyRx :

Afin d'assurer la fiabilité et la performance de PyRx au cours de notre étude, garantissant ainsi la précision de nos calculs et des résultats d'arrimage moléculaire, nous avons validé les procédures à l'aide du serveur d'arrimage Achilles Blind (disponible sur le lien : <https://bio-hpc.ucam.edu/Achilles/>). Ce test compare l'énergie de liaison des interactions entre les molécules et la protéine cible.

Tableau 02 : Les scores de docking pour les cinq meilleurs ligands.

| Identifiant PDB | Ligand | ID PubChem | Energie de liaison (-Kcal/mol) "PyRx" | Energie de liaison (-Kcal/mol) "Blind de docking" |
|------------------------|----------------|-------------------|--|--|
| 3EQM | Hopeachinol B | 102004724 | - 10 | -10,1 |
| | Wilforlide A | 158477 | - 9,8 | -9,7 |
| | Cucurbitacin S | 119287 | - 9,6 | -9,7 |
| | Rosamultin | 21122581 | -9,5 | -9,5 |
| | Zéaxanthine | 5280899 | - 9,4 | -9,3 |

2. Résultats de docking moléculaire :

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé une méthode de docking moléculaire pour examiner l'interaction entre cinq composés naturels (ligands) et un ligand de référence, le Letrozole, avec la cible enzymatique aromatase (représentée par la structure 3QEM). Le docking moléculaire nous permet d'étudier la position de chaque ligand sur le site actif de

Chapitre 2 Résultats et Discussion

l'enzyme, ce qui nous permet de déterminer les interactions entre les résidus actifs du site et l'inhibiteur.

En comparant les scores d'affinité obtenus avec ceux de l'inhibiteur de référence, nous sommes en mesure de sélectionner le meilleur inhibiteur. Les scores d'affinité les plus négatifs indiquent une interaction plus forte entre le ligand et la protéine, ce qui peut être interprété comme une indication de la capacité du ligand à se lier de manière efficace à l'enzyme cible. En fin de compte, cette approche nous permet d'évaluer la capacité des différents composés à agir en tant qu'inhibiteurs potentiels de l'aromatase.

À partir des résultats de docking nous avons remarqué que les composés : Hopeachinol B, Wilforlide A, Cucurbitacin S, Rosamultin et La zéaxanthine, ils possèdent des énergies de liaison élevées par rapport à l'inhibiteur de référence Letrozole, et ainsi, une plus grande affinité avec l'aromatase se manifeste.

3. Etude des interactions :

Nous avons utilisé l'interface graphique "2D" et "3D" du logiciel Biovia Discovery Studio afin de visualiser et analyser en détail le nombre et la nature des liaisons impliquées dans la formation du complexe.

3.1. Etude des interactions du ligand :

Il convient d'examiner les résultats du docking moléculaire afin d'évaluer les interactions entre les résidus d'acides aminés de l'enzyme et les atomes de ligand. Cette analyse permet de saisir la manière dont les molécules interagissent et leur impact sur la fonction enzymatique. Les interactions clés examinées incluent les liaisons hydrogène, les interactions hydrophobes et électrostatiques, garantissant ainsi la stabilité des complexes protéines-ligands.

Pour explorer ces interactions, nous avons choisi les cinq meilleurs inhibiteurs pour notre enzyme. Nous allons étudier les interactions en 2D et 3D impliquées dans la formation des complexes correspondants.

3.1.1. Interaction Aromatase – Hopeachinol B :

Les quatre liaisons d'hydrogène sont formées par l'interaction de la rutine avec le site actif du site "3qem", impliquant les acides aminés suivants : Ser114 (1,6413Å), Phe116 (2,44073Å), Lys376 (2,1031Å ; 2,36534 Å).

Chapitre 2 Résultats et Discussion

La conceptualisation des résultats d'amarrage montre le graphique bidimensionnel et tridimensionnel qui se réfère à l'interaction de Hopeachinol B avec la protéine du récepteur de l'aromatase "3QEM" indique qu'il constitue 2 des liaisons hydrogène et 2 des liaisons de type "alkyle" et 2 Liaison hydrophobe des types "Pi-Pi Stacking", "Pi-Pi en forme de T", et réagit aux acides aminés comme suit :

- Le résidu d'hydrogène couleur vert Lys 376 (distance 2,37 Å) et Phe 116 (distance 4.50 Å) de ces liaisons sont nécessaires pour stabiliser le composé protéique et le ligament, contribuant ainsi à son maintien en place.
- L'interaction hydrophobes réalisées par les alkyls hydrocarbonés apolaires colorées en rose claire que nous retrouvons entre Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides Ile 395 (distance 4,89 Å) et PRO 434 (distance 5,41 Å) formant des interactions Pi-Alkyle.
- Des autres interactions colorées en rose foncé les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides Phe 134 (distance 5,18 Å ; 4,59 Å) formant des interactions hydrophobe nommée Pi-Pi Stacking et Pi-Pi T-shaped.
- Le cycle du ligand et les cycles benzéniques des acides aminés Ser 113 (distance 3,59 Å) colorés en violé formant des interactions nommée Pi-Sigma.

| Name | ID | Visible | Color | Parent | X | Y | Z | Distance | Donor Aton | Acceptor. | Angle DHA | Angle HAY |
|-----------------------------|----|---|-------|---------------|---------|---------|---------|----------|------------|-----------|-----------|-----------|
| 1 A:SER114:HN - A:TYR112:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondMori... | 89.491 | 62.153 | 35.7... | 1.6413 | HN | O | 153.2 | 100.286 |
| 2 A:PHE116:HN2 - N:UNK1:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondMori... | 89.324 | 62.2... | 43.116 | 2.44073 | HN2 | O | 112.606 | 92.4312 |
| 3 A:LYS376:HN2 - A:SER114:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondMori... | 89.2... | 63.358 | 38.239 | 2.1031 | HN2 | O | 139.563 | 122.505 |
| 4 A:LYS376:HN1 - N:UNK1:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondMori... | 86.6... | 64.364 | 37.9... | 2.36534 | HN1 | O | 141.832 | 109.785 |

Figure 10 : Les différentes interactions trouvées entre l'Hopeachinol B et les résidus de site actif de 3QEM.

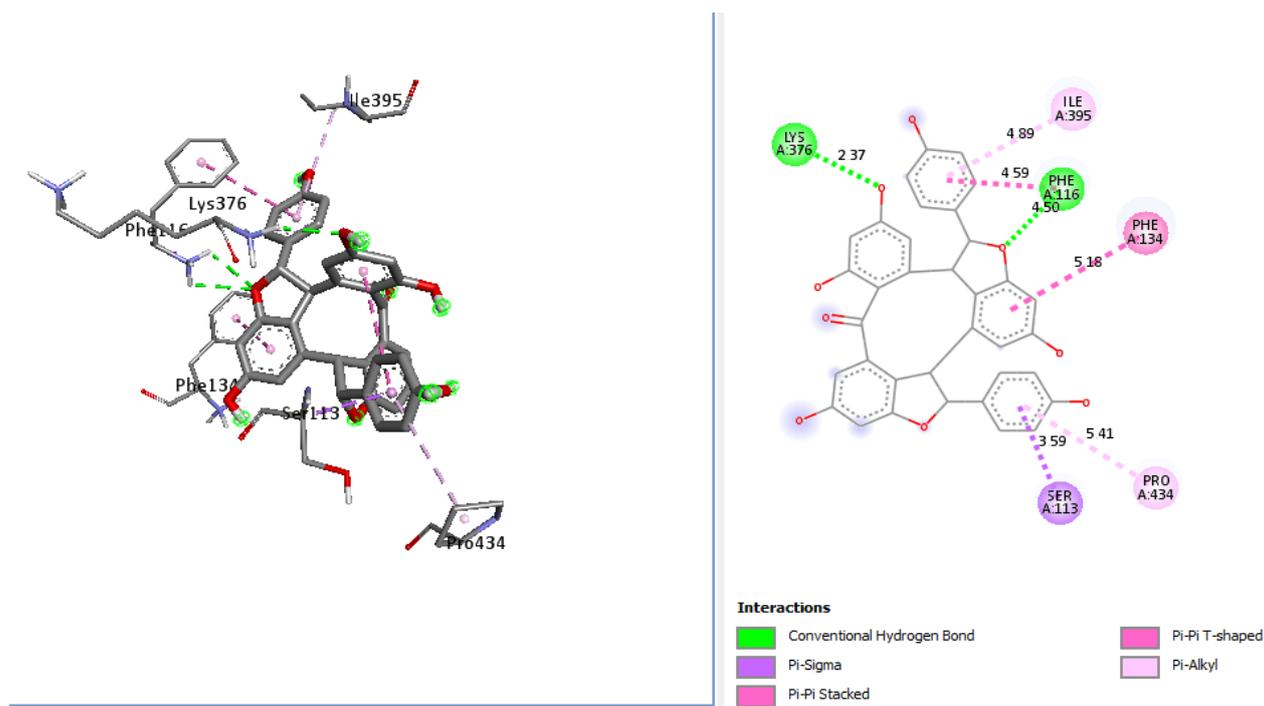


Figure 11 : Structure 3D et Structure 2D de complexe 3QEM- Hopeachinol B.

3.1.2. Interaction Aromatase – Wilforlide A :

D'après les résultats de l'analyse 2D et 3D, nous avons noté que la wilforlid A constitue un liaison hydrogène entre le cycle de ligand et le radicaux aminoacide Ser 114 (2,82 Å) et cinq liaisons hydrophobes réalisées par les alkyls hydrocarbonés apolaires que nous retrouvons entre Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides Leu 396 (4,41Å) ,Ile 70 (3,88Å), Leu 228 (distance 3,98 ; 5,00Å) et Phe 134 (4,83Å) , des interactions nommées Pi-Alkyle et Alkyl.

| Name | ID | Visible | Color | Parent | X | Y | Z | Distance | Donor Atom | Acceptor Atom | Angle DHA | Angle H |
|-----------------|----|---|--------------------------------------|--------------|---------|---------|---------|----------|------------|---------------|-----------|---------|
| 1 A:GLY71:H... | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondMon... | 80,1815 | 61,188 | 51,7125 | 2,1667 | HN | O | 130,178 | 109,949 |
| 2 A:GLN225:... | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondMon... | 88,5615 | 55,7545 | 54,8095 | 2,33631 | HN1 | O | 109,56 | 156,928 |
| 3 A:LYS376:H... | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondMon... | 89,2995 | 63,358 | 38,239 | 2,1031 | HN2 | O | 139,563 | 122,505 |

Figure 12 : Les différentes interactions trouvées entre la Wilforlide A et les résidus de site actif de 3QEM.

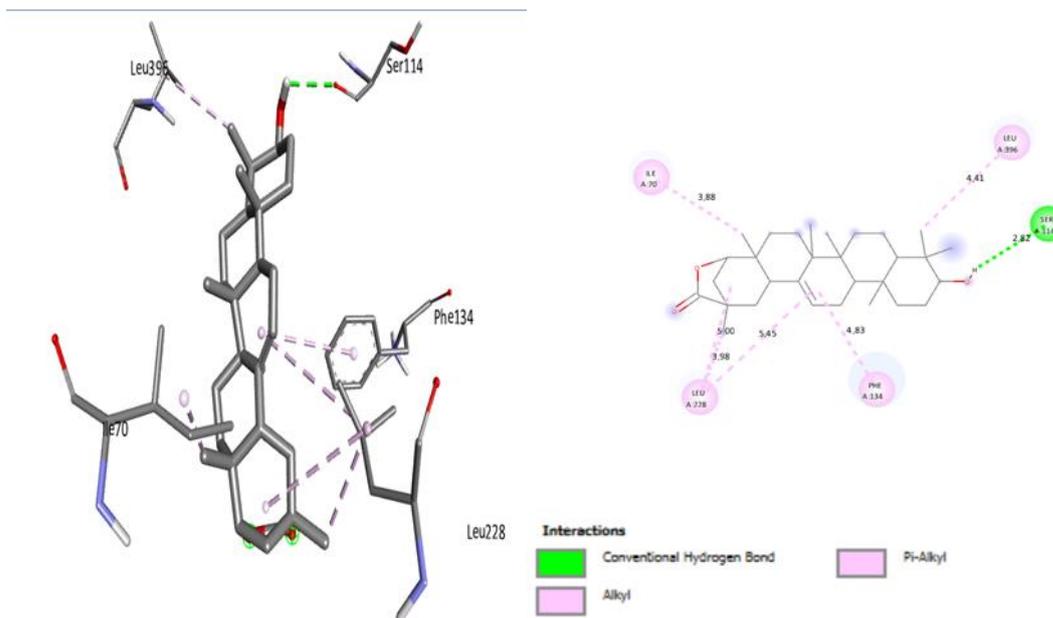


Figure13 : Structure 3D et Structure 2D de complexe 3QEM - Wilforlide A .

3.1.3. Interaction Aromatase – Cucurbitacin S :

L'interaction de la rutine avec le site actif de 3qem montrent qu'il forme quatre liaisons d'hydrogène avec les acides aminés suivants : Gly71 (Å), Ser 114(Å), Asp371(Å), Lys376(Å)

Après l'analyse des résultats en 2D et 3D, La visualisation des résultats du docking montre que le compos é3qem- Cucurbitacin S é forme avec le site actif de l'Aromatase plusieurs interactions hydrophobes schématisées en rose claire et foncé et aussi violé et interaction hydrogéné en colorée vert et bleu claire :

- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides Arg192 (distance 2,27 ;2,30 Å) et Met311(distance 3,36 ;3,56 Å) formant des interactions hydrogéné nommée conventionnel hydrogène bond en colorée vert et carbone hydrogène bond en colorée bleu claire.

- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides Phe 221 (Distance de : 5,31 ;4,03 ; 5,21Å) ; His480 (Distance de 5,28 et 4,12Å) en colorée rose foncé formant des interactions hydrophobe nommée Pi-Pi Stacking, Amide-Pi Staking et Pi-Pi T-shaped.

- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides Val 313 (Distance de 4,97 ; 5,44Å) en colorée rose claire formant des interactions nommée Pi-Alkyl et Alkyl.

- Le cycle du ligand et les cycles benzéniques des acides aminés Val369 (Distance de 3,63 ; 4,44Å) colorés en violé formant des interactions nommée Pi-Sigma.

Chapitre 2 Résultats et Discussion

| Name | ID | Visible | Color | Parent | X | Y | Z | Distance | Donor Atom | Acceptor Atom | Angle DHA | Angle HAY |
|-------------------------------|----|---|-------|------------|---------|--------|---------|----------|------------|---------------|-----------|-----------|
| 1 A:GLY71:HN - A:ASP476:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 80.1... | 61.188 | 51.7... | 2.1667 | HN | O | 130.178 | 109.949 |
| 2 A:SER114:HN - A:TYR112:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 89.491 | 62.153 | 35.7... | 1.6413 | HN | O | 153.2 | 100.286 |
| 3 A:ASP371:HN2 - A:ASP371:OD2 | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 77.8... | 57.2 | 47.421 | 2.16755 | HN2 | OD2 | 120.648 | 105.673 |
| 4 A:LYS376:HN2 - A:SER114:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 89.2... | 63.358 | 38.239 | 2.1031 | HN2 | O | 139.563 | 122.505 |

Figure14 : Les différentes interactions trouvées entre la cucurbitacins S et les résidus de site actif de 3QEM.

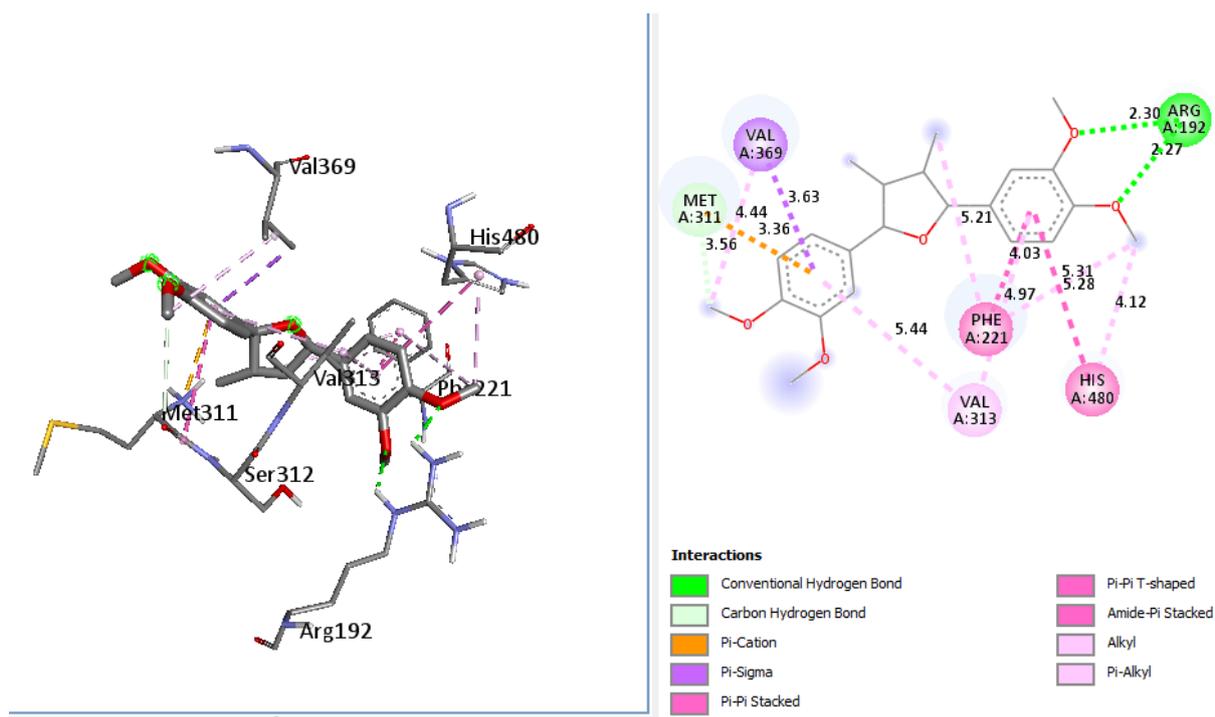


Figure 15 : Structure 3D et Structure 2D de complexe 3QEM- Cucurbitacin S.

3.1.4. Interaction Aromatase – Rosamultin :

Huit liaisons d'hydrogène sont formées par l'interaction de la rutine avec le site actif du site "3qem", impliquant les acides aminés suivants : Phe134 (2,39756 Å), ASN135 (2,14635 Å ; 1,84709 Å), Ser199 (2,4815Å ; 1,99289Å), Ala307 (2,4286Å), Ala443 (1,92735Å), Val 445 (2,48113 Å).

Après avoir examiné les résultats de l'analyse 2D et 3D, nous avons observé que le complexe 3qem- Rosamultin contient trois liaisons hydrogène et deux liaisons hydrophobes.

Chapitre 2 Résultats et Discussion

- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides Phe134 (distance 2,40 Å) ; ASN135 (distance 2,15 Å) et Ala 307 (distance 2,43 Å) en colorée vert formant des interactions hydrogéné nommée conventionnel hydrogène bond.

- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides Ile305 (Distance de 4,18Å) et Phe 148 (distance 4,83 Å) en colorée rose claire formant des interactions nommée Pi-Alkyle et Alkyle.

| Name | ID | Visible | Color | Parent | X | Y | Z | Distance | Donor Atom | Acceptor Atom | Angle DHA | Angle HAY |
|------------------------------|----|---|-------|------------|---------|---------|---------|----------|------------|---------------|-----------|-----------|
| 1 A:PHE134:HN1 - N:UNK1:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 93.26 | 56.292 | 41.964 | 2.39756 | HN1 | O | 147.126 | 104.735 |
| 2 A:ASN135:HN - N:UNK1:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 93.972 | 56.595 | 41.6... | 2.14635 | HN | O | 122.592 | 121.889 |
| 3 A:ASN135:HD22 - A:GLY131:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 98.404 | 54.1... | 41.1... | 1.84709 | HD22 | O | 165.817 | 139.358 |
| 4 A:SER199:HG - N:UNK1:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 89.068 | 42.093 | 46.5... | 2.4815 | HG | O | 111.587 | 17.3004 |
| 5 A:ALA307:HN1 - N:UNK1:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 88.2... | 43.782 | 46.1... | 2.4286 | HN1 | O | 124.6 | 101.578 |
| 6 A:ALA443:HN - A:GLY439:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 83.4... | 43.717 | 38.9... | 1.92735 | HN | O | 147.506 | 157.376 |
| 7 A:VAL445:HN - A:ILE442:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 81.4... | 39.8... | 39.1... | 2.48113 | HN | O | 116.685 | 92.0834 |
| 8 N:UNK1:H - A:SER199:OG | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 89.142 | 41.2... | 46.635 | 1.99289 | H | OG | 171.992 | 50.7232 |

Figure 16 : Les différentes interactions trouvées entre la rosamultin et les résidus de site actif de 3QEM.

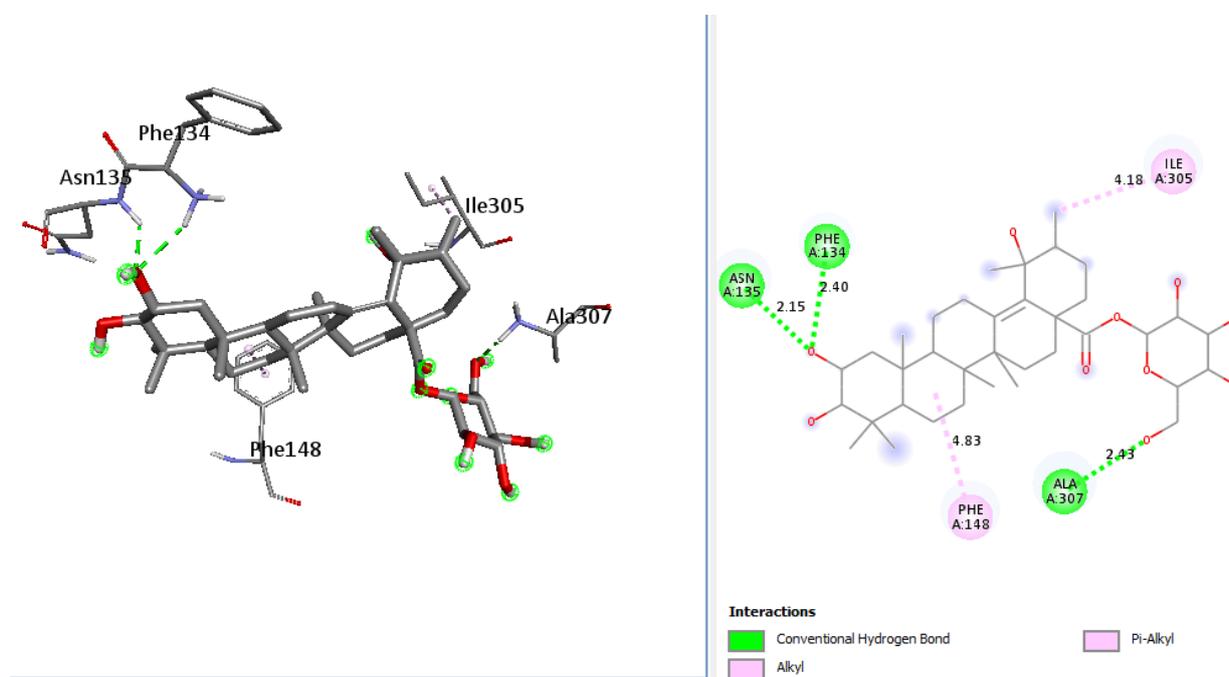


Figure 17 : Structure 3D et Structure 2D de complexe 3QEM - Rosamultin.

Chapitre 2 Résultats et Discussion

3.1.5. Interaction Aromatase –zéaxanthine :

L'interaction de la rutine avec le site actif de «3QEM » montrent qu'il forme douze liaisons d'hydrogène avec les acides aminés suivants : Arg 192 (2,29547 Å ; 1,89089 Å), Gly219 (2,03372 Å), Asp222 (2,20414 Å), Met311 (1,95039Å), Ser312 (2,22544 Å), Leu315 (2,25054 Å ; 2,44984 Å), Arg365 (2,19478 Å ; 2,35493 Å ; 2,19246Å), His480 (1,97257 Å).

Après l'analyse des résultats en 2D et 3D, il est apparu que le complexe 3qem-La zéaxanthine possède un hydrogène et douze liaisons hydrophobes :

- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides Arg365 (distance 2,35 Å) formant des interactions hydrogéné nommée conventionnel hydrogène bond.

- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides Met318 (Distance de 5,14 ;4,72Å), Val 369 (distance 4,99 ;3,77 ;4,04Å), Val 313 (distance 4,92 ;3.4,90 ;4,68Å), Phe221(Distance de 3,99 ;5,47Å), His480 (Distance de 4,47Å) et Val215 (Distance de 4,91Å) en colorée rose claire formant des interactions nommée Pi-Alkyle et Alkyle.

| Name | ID | Visible | Color | Parent | X | Y | Z | Distance | Donor Atom | Acceptor Atom | Angle DHA | Angle HAY |
|--------------------------------|----|---|-------|------------|---------|---------|---------|----------|------------|---------------|-----------|-----------|
| 1 A:ARG192:HH11 - A:GLU483:OE1 | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 80.9... | 46.969 | 59.3... | 2.29547 | HH11 | OE1 | 134.599 | 91.3796 |
| 2 A:ARG192:HH21 - A:GLU483:OE1 | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 80.806 | 47.807 | 58.554 | 1.89089 | HH21 | OE1 | 150.6 | 155.674 |
| 3 A:GLY219:HN - A:VAL215:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 90.272 | 47.661 | 60.2... | 2.03372 | HN | O | 148.595 | 143.179 |
| 4 A:ASP222:HN - A:GLN218:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 88.714 | 51.844 | 58.3... | 2.20414 | HN | O | 151.516 | 138.188 |
| 5 A:MET311:HN3 - A:ALA307:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 83.294 | 44.719 | 49.259 | 1.95039 | HN3 | O | 133.75 | 159.472 |
| 6 A:SER312:HG - A:PRO308:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 83.534 | 44.706 | 53.1... | 2.22544 | HG | O | 101.01 | 134.911 |
| 7 A:LEU315:HN1 - A:MET311:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 77.9... | 43.6... | 48.8... | 2.25054 | HN1 | O | 108.09 | 159.693 |
| 8 A:LEU315:HN3 - A:MET311:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 77.9... | 43.72 | 49.6... | 2.44984 | HN3 | O | 95.6084 | 139.734 |
| 9 A:ARG365:HN3 - A:TYR361:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 70.81 | 49.383 | 41.254 | 2.19478 | HN3 | O | 122.466 | 159.407 |
| 10 A:ARG365:HN3 - N:UNK1:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 72.3... | 49.7... | 41.7... | 2.35493 | HN3 | O | 126.205 | 115.024 |
| 11 A:ARG365:HN1 - A:GLU362:O | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 69.1... | 49.6... | 43.2... | 2.19246 | HN1 | O | 152.713 | 102.757 |
| 12 A:HIS480:HD1 - A:SER478:OG | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondM... | 80.8... | 53.8... | 52.798 | 1.97257 | HD1 | OG | 143.33 | 106.034 |

Figure 18 : Les différentes interactions trouvées entre la zéaxanthine et les résidus de site actif de 3QEM.

Chapitre 2 Résultats et Discussion

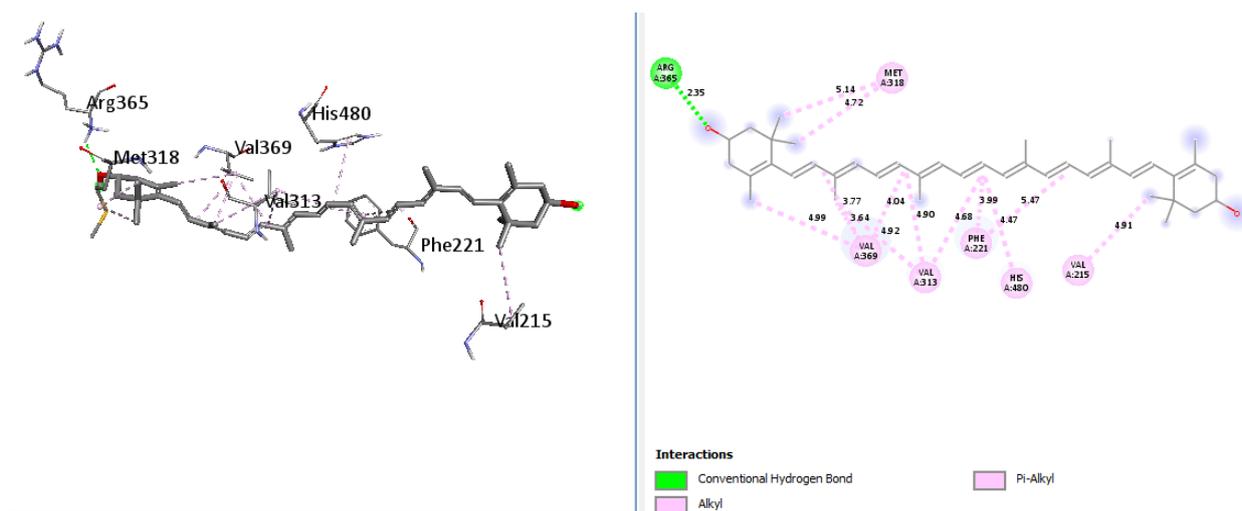


Figure 19 : Structure 3D et Structure 2D de complexe 3QEM – zéaxanthine.

3.1.6. Interaction Aromatase – Létrozole (ligand de référence) :

L'interaction de Létrozole avec les résidus de la protéine réceptrice l'aromatase "3QEM".

- Implique des liaisons d'interaction du type Pi-cation relie le cycle du ligand à la charge positive de Met 311 (Distance de 3,73Å).
- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides Phe 221 (Distance de 3,81Å) formant des interactions hydrophobe nommée Pi-Pi Stacked.
- Forme aussi une liaison hydrogène avec le résidus Ile 305 (2,13Å).
- Le cycle du ligand et les cycles benzéniques des acides aminés Val 369 (3,41 Å) formant des interactions nommée Pi-Sigma.
- Des liaisons hydrophobes sont impliquée (sept au total), de type " Pi-Pi T-shaped" entre les Pi-Orbitales des noyaux aromatiques His 480 (5,29 Å), et d'autre de type Pi-Alkyl avec Val 313 (5,03Å).

| Name | ID | Visible | Color | Parent | X | Y | Z | Distance | Donor Atom | Acceptor Atom | Angle DHA | Angle H... |
|------------------|----|---|-------|--------------|---------|---------|---------|----------|------------|---------------|-----------|------------|
| 1: A:ARG192:... | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondMon... | 80,9575 | 46,969 | 59,3295 | 2,29547 | HH11 | OE1 | 134,599 | 91,3796 |
| 2: A:ARG192:... | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondMon... | 80,806 | 47,807 | 58,554 | 1,89089 | HH21 | OE1 | 150,6 | 155,674 |
| 3: A:MET311:... | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondMon... | 83,294 | 44,719 | 49,259 | 1,95039 | HN2 | O | 133,75 | 159,472 |
| 4: A:HIS480:H... | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondMon... | 80,8675 | 53,8385 | 52,798 | 1,97257 | HD1 | OG | 143,33 | 106,034 |
| 5: N:UNK1:HN... | 0 | <input checked="" type="checkbox"/> Yes | ■ | <HBondMon... | 87,715 | 46,934 | 49,5655 | 2,12791 | HN | O | 129,499 | 105,855 |

Figure 20 : Les différentes interactions trouvées entre Létrozole et les résidus de site actif de 3QEM.

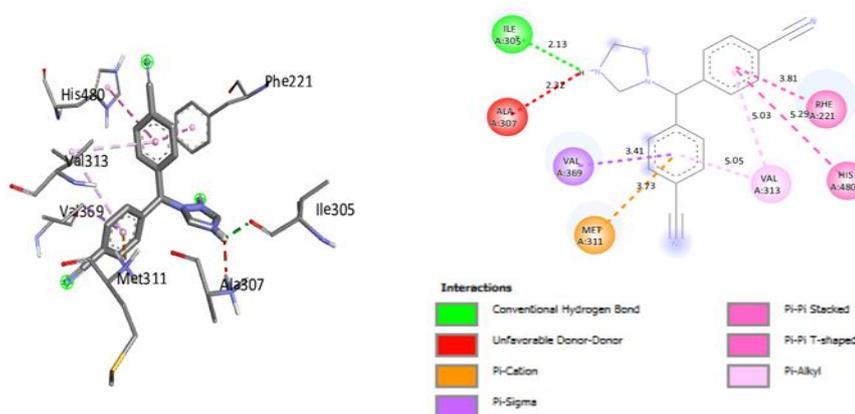


Figure 21 : Structure 3D et Structure 2D de complexe 3QEM- Létrozole.

4. Discussion générale :

L'aromatase est une enzyme cruciale dans la production d'œstrogènes et stimule sa phase finale de biosynthèse. On le trouve dans différents tissus tels que les gonades, le cerveau et les tissus adipeux. La régulation de son niveau et de son activité détermine les niveaux d'œstrogènes, qui exercent des effets endocriniens, paracrines et tyranniques sur les tissus. Les œstrogènes remplissent de nombreuses fonctions dans le corps, affectant la survie cellulaire et l'activité neuronale, qui est partiellement régulée par l'aromatase.

Nous avons utilisé le docking moléculaire pour évaluer les travaux sur les inhibiteurs des ingrédients naturels bioactifs de l'enzyme aromatase, tel que présenté dans notre étude de recherche.

Il est nécessaire d'étudier les interactions du létrozole avec l'aromatase que nous avons choisie comme référence pour le reste des inhibiteurs que nous avons étudiés, bien qu'il soit moins associé à "-7,7 calories/mol" avec ces enzymes qu'avec d'autres liaisons. En fait, le létrozole est un inhibiteur reconnu de ces enzymes, ce qui en fait un sujet important pour mieux comprendre les mécanismes d'inhibition et développer de nouveaux inhibiteurs plus efficaces.

Dans la structure moléculaire complexe optimisée pour enzyme aromatase, on a identifié une fente qui semble particulièrement riche en résidus hydrophobes polaires et apolaires, tels que Ile305, Ala306, Asp309 et Thr310 (de l'hélice I), Phe221, Trp224 (de l'hélice F), Ile133, Phe134 (boucle B_C), Val370, Leu372, Val373 (à partir de la boucle K hélice-b3), Met374 (à partir de b3), Leu477 et Ser478 (de la boucle b8-b9) Arg115. Cet agencement d'acides aminés

Chapitre 2 Résultats et Discussion

est particulièrement efficace pour stabiliser à la fois les ligands polaires et apolaires, en particulier ceux contenant des groupements hydrophobes.

Ces résultats confirment en grande partie les observations cristallographiques de Gosh et al., 2010. Bien que nous ayons remarqué une différence dans les distances d'interaction attribuées à la relaxation des chaînes latérales des résidus dans la fente catalytique et à la position relative du ligand naturel. Il est important de noter qu'après la stabilisation par la dynamique moléculaire (MD), la liaison hydrogène entre le carbone C-17 et l'oxygène (accepteur) et la colonne vertébrale Met374 N-H (donneur) se renforce (de 1,82 Å à 2,8 Å). Toutes ces interactions ont été observées dans le complexe d'association contenant de l'eau à l'intérieur de la fente catalytique, alors qu'en son absence, en raison de l'orientation similaire de l'ASD sur le site de liaison, ces interactions étaient absentes.

D'après les résultats on peut constater que la que Hopeachinol B, Wilforlide A, Cucurbitacin S, Rosamultin, La zéaxanthine ont des fortes énergies de liaison envers le cible 3EQM ($\Delta G = -10,1 ; -9,8 ; -9,6 ; -9,5 ; -9,4$ Kcal/mol). Mais ce qui intéressant que les interactions forment entre eux inclus des résidus d'acides aminés qui diffère entre ces inhibiteurs et qui se diffère aux acides aminés intervenant dans la liaison de létrozole.

Le standard, Létrozole se lie par des liaisons hydrogènes aux résidus du site actif de 3QEM suivants : Argot115, Île133, Phe134, Pro224, Leur228, Île305, Asp306, Asp309, Thr310, Val370, Leur372, Val373, Met374, R435, Leur477.

Dans notre étude on a trouvé que Hopeachinol B, Wilforlide A, Cucurbitacin S, Rosamultin, La zéaxanthine ont des énergies de liaisons avec 3QEM respectives : -10,1 Kcal/mol ; -9,8 Kcal/mol ; -9,6 Kcal/mol ; -9,5 Kcal/mol ; -9,4 Kcal/mol. De plus, ils ont aussi constaté que ces composés forment des liaisons hydrogènes avec les acides aminés de site actif de 3QEM comme suit : Hopeachinol B (Phe134), Wilforlide A (Phe134), Cucurbitacin S (Phe221), Rosamultin (Phe134, Ile305), La zéaxanthine (Phe221).

5. Evaluation des propriétés ADMET des meilleurs inhibiteurs :

Pour que le médicament soit efficace, il est essentiel que la molécule active atteigne son objectif dans le corps avec une concentration suffisante et reste sous forme d'activité biologique pendant une période de temps suffisant pour permettre les processus biologiques requis. À l'heure actuelle, l'évaluation de l'absorption, de la distribution, du métabolisme et de l'excrétion (ADME) fait partie intégrante du processus de découverte du médicament. De

Chapitre 2 Résultats et Discussion

nombreuses méthodes *in silico* sont utilisées pour prédire ces paramètres ADME à partir de la structure moléculaire.

Il convient de noter que les travaux novateurs de Lipinski et de ses collègues se sont concentrés sur l'examen des composés actifs oraux afin d'identifier les gammes physiques et chimiques qui augmentent la forte probabilité d'être un médicament oral (c.-à-d. l'analogie du médicament). En outre, les cinétiques des médicaments, telles que l'absorption digestive, la prédiction de la résistance aux médicaments, telles que les bases de lipinski et le degré de biodisponibilité, sont également prises en compte.

L'adhésion des trois métabolites isolés, affinés et décrits selon la "règle de Lipinski de cinq" est cruciale pour comprendre leurs caractéristiques physico-chimiques et évaluer leur potentiel d'absorption *in vivo*. Selon cette règle, le poids moléculaire (MW) du composé doit être inférieur à 500, le nombre de donneurs de liaison H (Hdon) doit être inférieur à 5, le nombre d'accepteurs de liaison H (Hacc) doit être inférieur à 10, le coefficient de partage lipide-eau (LogP) doit être inférieur à 5 et le nombre total d'obligations tournantes (Rbon) doit être inférieur à 10. De plus, les métabolites organiques doivent pénétrer la barrière hémato-encéphalique (BHE), comme le démontrent des études sur le cerveau et des recherches connexes. SwissADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité). Fournit un outil en ligne (<http://www.swissadme.ch>) pour évaluer les propriétés ADME des composés souhaités.

Cet outil permet la mesure facile de Logs, TPSA et perméation cutanée. Les profils de pharmacocinétique et de toxicité des composés peuvent être prédits en ligne à l'aide de Protox. Entrez simplement le code SMILES des ligands obtenus à partir de Pub Chem, puis cliquez sur ADMET pour obtenir des résultats de prédiction englobant divers paramètres d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion. (Sharma et al., 2024).

Chapitre 2 Résultats et Discussion

Tableau 03 : Profil ADME-T de ligand de référence et des meilleurs inhibiteurs à partir du serveur SwissADME.

| propriété | Létrozole | Hopeachinol B | Wilforlide A | Cucurbitacin S | Rosamultin | Zéaxanthine |
|--|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| GI absorption | Haut | Faible | Haut | Haut | Faible | Haut |
| BHE perméant | Oui | Non | Non | Non | Non | Oui |
| PM (g/mol) | 285,30 g/mol | 588,56 g/mol | 454,68 g/mol | 498,65 g/mol | 650,84 g/mol | 568,87 g/mol |
| Liaisons accepteur d'hydrogène | 4 | 9 | 3 | 6 | 10 | 2 |
| Liaisons donneur d'hydrogène | 0 | 6 | 1 | 2 | 7 | 2 |
| Nombre des liaison à libre rotation | 3 | 2 | 0 | 1 | 4 | 10 |
| Log P | 1,49 | 2,14 | 5,82 | 2,24 | 1,71 | 5,885 |
| Log S | Modérément soluble | Peu soluble | Peu soluble | Modérément soluble | Soluble | Plus soluble |
| TPSA (Å²) | 78,29 Å ² | 156,91 Å ² | 46,53 Å ² | 100,90 Å ² | 177,14 Å ² | 40,46 Å ² |
| Règle Lipinski | Oui | Non | Oui | Oui | Non | Non |
| Règle Veber | Oui | Non | Oui | Oui | Non | Oui |
| Accessibilité à la Synthèse | 2,13 | 5,73 | 6,53 | 6,56 | 7,93 | 4,577 |

Ces propriétés font référence à des caractéristiques importantes des molécules, notamment en termes de pharmacocinétique et de propriétés physico-chimiques. Voici ce que chacune de ces propriétés signifie :

Chapitre 2 Résultats et Discussion

- GI absorption : Il s'agit de l'absorption gastro-intestinale, c'est-à-dire la capacité d'une molécule à être absorbée à partir du tractus gastro-intestinal dans le sang.
- BHE perméant : Cela fait référence à la capacité d'une molécule à traverser la barrière hémato-encéphalique, qui protège le cerveau des substances potentiellement dangereuses.
- PM (g/mol) : C'est la masse molaire en grammes par mole d'une molécule, ce qui permet de connaître la taille de la molécule.
- Liaisons accepteur d'hydrogène : Nombre de liaisons dans la molécule qui peuvent accepter un atome d'hydrogène.
- Liaisons donneur d'hydrogène : Nombre de liaisons dans la molécule qui peuvent donner un atome d'hydrogène.
- Nombre des liaisons à libre rotation : Cela indique le nombre de liaisons dans la molécule qui peuvent tourner librement autour de leur axe.
- Log P : C'est le logarithme du coefficient de partage octanol/eau, une mesure de l'hydrophobicité d'une molécule.
- Log S : C'est le logarithme du coefficient de solubilité dans l'eau, une mesure de la solubilité d'une molécule.
- TPSA (Å^2) : Cela signifie "Total Polar Surface Area" et c'est la somme des aires des surfaces polaires de la molécule.
- Règle de Lipinski : Il s'agit d'un ensemble de règles utilisées en pharmacocinétique pour prédire si une molécule est susceptible d'être absorbée par voie orale.
- Règle de Veber : C'est un critère utilisé pour évaluer la capacité d'une molécule à être absorbée après administration orale en fonction de sa polarité et de sa taille.
- Accessibilité à la Synthèse : Cela peut faire référence à la facilité avec laquelle une molécule peut être synthétisée en laboratoire.

Ces propriétés sont souvent étudiées lors du développement de médicaments pour évaluer leur efficacité, leur sécurité et leur biodisponibilité.

Chapitre 2 Résultats et Discussion

Tableau 04 : Profil de ligand de référence et des meilleurs inhibiteurs à partir du serveur ProToxII.

| Propriétés | Létrozole | Hopeachinol B | Wilforlide A | Cucurbitacin S | Rosamultin | zéaxanthine |
|-----------------------|-------------|---------------|--------------|----------------|-------------|-------------|
| Hépatotoxicité | Non toxique | Non toxique | Non toxique | Non toxique | Non toxique | Non toxique |
| Probabilité | 0,51 | 0,64 | 0,58 | 0,80 | 0,94 | 0,79 |
| Neurotoxicité | Toxique | Non toxique | Non toxique | Non toxique | Non toxique | Non toxique |
| Probabilité | 0,93 | 0,9 | 0,71 | 0,90 | 0,86 | 0,59 |
| Cardiotoxicité | Non toxique | Non toxique | Non toxique | Non toxique | Toxique | Non toxique |
| Probabilité | 0,90 | 0,77 | 0,55 | 0,81 | 0,85 | 0,76 |
| Immunotoxicité | Non toxique | Toxique | Toxique | Toxique | Toxique | Non toxique |
| Probabilité | 0,99 | 0,98 | 0,99 | 0,95 | 0,99 | 0,92 |
| Mutagenicité | Non toxique | Non toxique | Non toxique | Non toxique | Non toxique | Non toxique |
| Probabilité | 0,52 | 0,61 | 0,82 | 0,60 | 0,93 | 0,81 |
| Cytotoxicité | Non toxique | Non toxique | Non toxique | Non toxique | Non toxique | Non toxique |
| Probabilité | 0,88 | 0,86 | 0,90 | 0,76 | 0,96 | 0,89 |

Chapitre 2 Résultats et Discussion

6. Comparaison des résultats pour SwissADME :

Dans cette comparaison entre Létrozole, Hopeachinol B, Wilforlide A, Cucurbitacin S, Rosamultin et La zéaxanthine, plusieurs critères peuvent être utilisés pour illustrer le meilleur lien entre eux en fonction de leurs propriétés pharmacocinétiques et de leurs caractéristiques physico-chimiques :

- **GI absorption (Absorption gastro-intestinale) :**

Les composés Wilforlide A, Cucurbitacin S et La zéaxanthine ont tous une absorption gastro-intestinale élevée (Haut) selon SwissAdme. Cela les rend plus favorables pour une utilisation par voie orale par rapport aux autres molécules.

- **BHE perméant (Perméabilité à la barrière hémato-encéphalique) :**

La zéaxanthine est le seul à être BHE perméant (oui) parmi les molécules mentionnées, ce qui indique sa capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique et à potentiellement agir au niveau du système nerveux central.

- **PM (Poids moléculaire) :**

Le composé Wilforlide A le plus faible poids moléculaire parmi les molécules mentionnées (454,68 g /mol), ce qui peut lui conférer des avantages en matière d'absorption et de distribution comparé aux molécules avec des poids moléculaires plus élevés.

- **Log P (Coefficient de partage octanol/eau) :**

Le composé Rosamultin a à une valeur de Log P relativement faible, ce qui suggère une bonne capacité à traverser les membranes cellulaires et à se dissoudre dans les lipides.

- **Solubilité (Log S) :**

La zéaxanthine a une solubilité prédite relativement faible (Log S négatif), ce qui peut poser des défis pour sa formulation et sa biodisponibilité, mais il peut pénétrer la barrière hémato-encéphalique, ce qui peut compenser cette faible solubilité pour certaines applications.

- **Conformité aux règles de Lipinski et Veber :**

Meilleur lien : Wilforlide A, Cucurbitacin S sont conformes aux règles de Lipinski et de Veber selon les données fournies, ce qui suggère qu'ils ont des propriétés favorables pour une bonne biodisponibilité et une absorption orale, d'autre part la zéaxanthine conforme aux règles de Veber et ne conforme pas aux règles de Lipinski.

Chapitre 2 Résultats et Discussion

De plus, nous avons noté que les deux ligands qui porte poids moléculaires inférieures de 500 (g /mol) sont le wilforlide A avec un PM 454,68(g /mol) et le Cucurbitacin S avec un PM 498,65(g/mol), respectivement, et les trois autres ligands leur PM supérieure de 500(g /mol), Le nombre de donneurs de liaisons hydrogènes 2 inférieurs à 5 et aussi le nombre d'accepteurs de liaisons d'hydrogène sont inférieur à 8 mentions (wilforlide A, zéaxanthine, cucurbitacin S), et les autres supérieures de 5 (Hdon) et de 8 (Hacc). En ce qui concerne le Log P, nous avons remarqué que wilforlide A et La zéaxanthine leur valeur et supérieure de 5 cela indique que ces molécules sont lipophilicité suggérant que le composé peut facilement traverser les membranes cellulaires lipophiles mais peut-être moins soluble dans l'eau, Passons maintenant à la règle de Veber Dépend de deux critères lesquelles le nombre de liens à rotation libre inférieure à 10 et la surface polaire de la molécule (TPSA) doit être inférieure à 140Å². Les différentes valeurs de la surface polaire topologique (TPSA) montrent que les composés ne répondant pas aux règle de Veber sauf wilforlide A et zéaxanthine (46,53 _ 40,46).

L'accessibilité à la synthèse (SA) d'après notre résultat on remarque que les deux molécules Hopeachinol B (AS =5,73) et la zéaxanthine (AS=4,577) port des valeurs de SA inférieures à 10. Donc sont les plus faciles de synthétiser.

7. Comparaisin par ProToxII :

- Létrozol présente une forte toxicité de neurotoxicité (0,93) et des probabilités Des valeurs variables d'autre propriété de toxicité non toxique.
- Hopeachinol B a une forte probabilité de toxicité d'immunotoxicité (0,98) mais des probabilités variable d'autre propriété de toxicité non toxique.
- Wilforlide A montre également une forte toxicité d'immunotoxicité (0,99) avec des probabilités modérées pour les autres propriétés de toxicité.
- Cucurbitacin S a une forte toxicité d'immunotoxicité (0,95) et des probabilités faibles à modérées pour les autres propriétés de toxicité.
- Rosamultin montre une très forte toxicité d'immunotoxicité (0,99) et une toxicité relativement élevée de cardiotoxicité (0,85) mais des probabilités très faibles pour les autres propriétés de toxicités.
- La zéaxanthine semble avoir des probabilités de toxicité relativement faibles pour toutes les catégories examinées.

Chapitre 2 Résultats et Discussion

En résumé, Rosamultin et Wilforlide A ont des probabilités très élevées d'immunotoxicité, tandis que Létrozol présente un risque important de neurotoxicité. La zéaxanthine apparaît comme le moins toxique parmi les substances comparées.

- En combinant les résultats de SwissADME et ProTox, la zéaxanthine se distingue comme le meilleur ligand pour plusieurs raisons :
- Absorption gastro-intestinale élevée : Ce qui est favorable pour une administration orale.
- Perméabilité à la barrière hémato-encéphalique : Indique une capacité potentielle à agir au niveau du système nerveux central. (le poids moléculaire joue un rôle très important pour franchir la barrière hémato-encéphalique)
- Log P élevé : Bonne capacité à traverser les membranes cellulaires.
- Conformité aux règle de Veber : Suggère une bonne biodisponibilité et absorption orale, Malgré son poids moléculaire élevé de la zéaxanthine (568.88 g/mol) mais il existe plusieurs stratégies pour surmonter ces obstacles.
- Profil de toxicité favorable : Probabilités de toxicité relativement faibles pour toutes les catégories examinées par ProTox

Bien que le poids moléculaire élevé de la zéaxanthine puisse présenter des défis dans le développement de médicaments, il existe plusieurs stratégies pour surmonter ces obstacles. Les technologies modernes de formulation, telles que les nanoparticules, les prodrugs et les complexes d'inclusion, offrent des solutions efficaces pour améliorer la solubilité et l'absorption des molécules de poids moléculaire élevé. Ainsi, avec les ajustements appropriés, la zéaxanthine reste un candidat prometteur malgré son poids moléculaire élevé.

À travers les données fournies par les serveurs SwissADME et ProToxII, et malgré une solubilité prédite relativement faible (Log S), les autres propriétés pharmacocinétiques et le profil de toxicité favorable de la zéaxanthine en font le meilleur candidat parmi les ligands comparés, notamment pour des applications nécessitant une perméabilité à la barrière hémato-encéphalique et une absorption gastro-intestinale élevée.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

L'objectif principal de notre travail était d'identifier de nouveaux inhibiteurs naturels de l'aromatase, une enzyme cible jouant un rôle contre le cancer de la prostate, en utilisant l'approche *in silico* par docking moléculaire avec le programme PyRx.

Afin de démontrer que PyRx est un programme adapté à notre étude, nous avons validé le résultat de docking par utilisation du serveur d'arrimage Achilles Blind qui a montré une forte corrélation entre les énergies obtenues.

Les résultats issus de l'analyse par SwissADME indiquent que les ligands le Wilforlide A et le Cucurbitacin S, sont en conformité avec les critères établis par les règles de Lipinski et de Veber. Cette conformité suggère des caractéristiques favorables en matière de biodisponibilité potentielle et d'absorption par voie orale. Cependant, les données recueillies par ProToxII et PKCSM révèlent que le Rosamultin et le Wilforlide A présentent un potentiel d'immunotoxicité notablement élevé, soulevant ainsi des inquiétudes quant à leur impact sur le système immunitaire lors d'une utilisation médicamenteuse.

D'un autre côté, le Létrozole présente un risque notable de neurotoxicité, ce qui requiert une surveillance attentive lors de son administration thérapeutique. En contraste, la zéaxanthine se distingue comme le composé présentant le plus faible niveau de toxicité parmi ceux examinés, suggérant ainsi une meilleure tolérance dans un contexte médical. Ces observations soulignent l'importance de considérer non seulement l'efficacité des composés, mais aussi leur profil de toxicité et de tolérance pour une utilisation sûre et efficace en clinique.

La zéaxanthine ne provoque pas d'effets toxiques lorsqu'il est utilisé comme médicament. En effet, il a une forte probabilité d'être non toxique dans la plupart des domaines examinés, y compris l'hépatotoxicité, la neurotoxicité, la cardiotoxicité, l'immunotoxicité, la mutagénicité et la toxicité cellulaire. Cependant, des études *in vivo* et *in vitro* seront nécessaires pour valider ces résultats.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Bibliographie

Lapôtre-Ledoux, B., Remontet, L., Uhry, Z., Dantony, E., Grosclaude, P., Molinié, F., ... & d'Almeida, T. C. (2023). Incidence des principaux cancers en France métropolitaine en 2023 et tendances depuis 1990. *BEH* 12-13.

Cecchi, M., Ninot, G., Rebillard, X., Thuret, R., Droupy, S., Ayuso, D., & Poinas, G. (2023). Quelles interventions non médicamenteuses proposer aux patients traités par hormono-suppression pour un cancer de la prostate ? Revue systématique de la littérature. *Progrès en Urologie*.

Debiais, F. (2011). Inhibiteurs de l'aromatase, analogues de la LH-RH et de l'ostéoporose. *Monographies de la Revue du Rhumatisme*, 78 (2), 81-87.

Acar Çevik, U., Kaya Çavuşoğlu, B., Sağlık, B. N., Osmaniye, D., Levent, S., Ilgın, S., ... & Kaplancıklı, Z. A. (2020). Synthesis, docking studies and biological activity of new benzimidazole-triazolothiadiazine derivatives as aromatase inhibitor. *Molecules*, 25(7), 1642.

Tonry, C., Finn, S., Armstrong, J., & Pennington, S. R. (2020). Clinical proteomics for prostate cancer: understanding prostate cancer pathology and protein biomarkers for improved disease management. *Clinical Proteomics*, 17, 1-31.

Rani, N., Khare, N., & Jha, A. K. (2020). Molecular Docking Study of Dihydrohelenalin against DNMT1 to Treat Oral Cancer.

Sağlık, B. N., Şen, A. M., Evren, A. E., Çevik, U. A., Osmaniye, D., Kaya Çavuşoğlu, B., ... & Kaplancıklı, Z. A. (2020). Synthesis, investigation of biological effects and in silico studies of new benzimidazole derivatives as aromatase inhibitors. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 75(9-10), 353-362.

TIFOURAK, D. (2019). Etude par Docking Moléculaire de l'inhibition des CYP3A4 par le jus de pamplemousse.

Mariya, S. (2023). Conception par modélisation moléculaire et criblage in silico de nouveaux inhibiteurs de la protéine kinase B.

ROUAISSIA HAMIDA, M. M. (2020). Etude par Docking Moléculaire de l'activité inhibitrice des Furanocoumarines Contenues dans le Jus de Pamplemousse sur les Cytochromes CYP3A4.

Références Bibliographiques

ASLI, F. (2020). Étude de docking moléculaire: application au récepteur du facteur de croissances épidermique.

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 (Soudani et al., 2020).

GUIBEDJ, D. (2020). *Les complexes métalliques du methoxyphenyl N-sulfamoyloxazolidinone avec Cu (II) et Co (II): Mise en évidence, études par DFT/B3LYP (B2PLYP) et docking moléculaire* (Doctoral dissertation).50

Mohanty, M., & Mohanty, P. S. (2023). Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: A tutorial review. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 154(7), 683-707.

Arya, M., Bott, S. R., Shergill, I. S., Ahmed, H. U., Williamson, M., & Patel, H. R. (2006). The metastatic cascade in prostate cancer. *Surgical oncology*, 15(3), 117-128.

Sciarra, A., Di Silverio, F., Salciccia, S., Gomez, A. M. A., Gentilucci, A., & Gentile, V. (2007). Inflammation and chronic prostatic diseases: evidence for a link? *European urology*, 52(4), 964-972.

Rivest, P. (2010). Effets de certains pesticides sur l'enzyme aromatase chez les souris bioluminescentes et sur la voie de signalisation dépendante des androgènes dans les cellules de la prostate cancéreuses humaines (LNCaP). Institut National de la Recherche Scientifique (Canada).

Compérat, E., Varinot, J., & Srigley, J. R. (2013, August). Lésions bénignes mimant le cancer de la prostate. Challenges diagnostiques. In *Annales de Pathologie* (Vol. 33, No. 4, pp. 237-246). Elsevier Masson.

EL MESSAOUDI, F. A. T. I. M. A. (2020). L'ASSOCIATION HYPERTROPHIE BENIGNE DE LA PROSTATE ET ADNÉOCARCINOME PROSTATIQUE (à propos de 16 cas).

Références Bibliographiques

Brueggemeier, R. W., Hackett, J. C., & Diaz-Cruz, E. S. (2005). Aromatase inhibitors in the treatment of breast cancer. In *Endocrine Reviews* (Vol. 26, Issue 3, pp. 331–345). <https://doi.org/10.1210/er.2004-0015>.

Carreau, S. (2000). Mise au point Estrogènes et reproduction chez le mâle. *Andrologie*, 10(2), 141-147.

Carreau, S., & Levallet, J. (1998). The testicular aromatase: From the gene to the protein. *Andrologie*, 8, 191-198.

Stefan O et Waler R, *Cancer de la prostate*, springer, (2008), P 250_300.

Marie, H.L. (2009). Expression Des Récepteurs Stéroïdiens, Des Enzymes De La Stéroïdogénèse Et De Biomarqueurs Potentiels Dans La Prostate Humaine Normale Et Ses Pathologies. Doctorat. Faculté De Médecine Université Laval Québec.

Chen, S., Zhou, D., Swiderek, K. M., Kadohama, N., Osawa, Y., & Hall, P. F. (1993). Structure-function studies of human aromatase. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 44(4-6), 347-356.

CHULIA, A. J. et FAGNERE, C. (2005). Cancer du sein. Synthèse et évaluation de dérivés flavonoïdiques inhibiteurs de l'aromatase (Thèse de doctorat). UNIVERSITE DE LIMOGES.

Ghosh, D., Griswold, J., Erman, M., & Pangborn, W. (2010). X-ray structure of human aromatase reveals an androgen-specific active site. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 118(4-5), 197-202.

Suvannang, N., C., Isarankura-Na-Ayudhya, C., & Prachayasittikul, V. (2011). Molecular docking of aromatase inhibitors. *Molecules*, 16(5), 3597-3617.

Ghosh, D., Griswold, J., Erman, M., & Pangborn, W. (2010). X-ray structure of human aromatase reveals an androgen-specific active site. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 118(4-5), 197-202.

Ellem, S. J., & Risbridger, G. P. (2006). Aromatase and prostate cancer. *Minerva endocrinologica*, 31(1), 1-12.

Chen, S. (1998). Aromatase and breast cancer. *Front Biosci*, 3, d922-d933.

Références Bibliographiques

Audenet, F., Murez, T., Ripert, T., Villers, A., & Neuzillet, Y. (2013). Inhibiteurs de CYP17A1 dans le cancer de la prostate : mécanismes d'action indépendants de la voie de signalisation androgénique. *Progrès en urologie*, 23, S9-S15.

Balam, F. H., Ahmadi, Z. S., & Ghorbani, A. (2020). Inhibitory effect of chrysin on estrogen biosynthesis by suppression of enzyme aromatase (CYP19): A systematic review. *Heliyon*, 6(3).

Jump, S. M., Kung, J., Staub, R., Kinseth, M. A., Cram, E. J., Yudina, L. N., ... & Firestone, G. L. (2008). N-Alkoxy derivatization of indole-3-carbinol increases the efficacy of the G1 cell cycle arrest and of I3C-specific regulation of cell cycle gene transcription and activity in human breast cancer cells. *Biochemical pharmacology*, 75(3), 713-724.

Bezerra, P. H., Amaral, C., Almeida, C. F., Correia-da-Silva, G., Torqueti, M. R., & Teixeira, N. (2023). In Vitro Effects of Combining Genistein with Aromatase Inhibitors: Concerns Regarding Its Consumption during Breast Cancer Treatment. *Molecules*, 28(13), 4893.

Kuo, S. M., & Leavitt, P. S. (1999). Genistein increases metallothionein expression in human intestinal cells, Caco-2. *Biochemistry and cell biology*, 77(2), 79-88.

Chaput, G., & Sumar, N. (2022). Thérapies endocriniennes contre les cancers du sein et de la prostate : Éléments essentiels en première ligne. *Canadian Family Physician*, 68(4), e120-e126.

Imene, T. L. I. L. I. (2019). Simulation par docking moléculaire des interactions enzyme-inhibiteur : cas de la Lanosterole 14 alpha-déméthylase

Rani, N., Khare, N., & Jha, A. K. (2020). Molecular Docking Study of Dihydrohelenalin against DNMT1 to Treat Oral Cancer.

Dallakyan, S., & Olson, A. J. (2015). Small-molecule library screening by docking with PyRx. *Chemical biology: methods and protocols*, 243-250.

Burley, S. K., Berman, H. M., Kleywegt, G. J., Markley, J. L., Nakamura, H., & Velankar, S. (2017). Protein Data Bank (PDB): the single global macromolecular structure archive. *Protein crystallography: methods and protocols*, 627-641.

Références Bibliographiques

Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., ... & Bolton, E. E. (2019). PubChem 2019 update: improved access to chemical data. *Nucleic acids research*, 47(D1), D1102-D1109.

Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., ... & Bryant, S. H. (2016). PubChem substance and compound databases. *Nucleic acids research*, 44(D1), D1202-D1213.

Drwal, M. N., Banerjee, P., Dunkel, M., Wettig, M. R., & Preissner, R. (2014). ProTox: a web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic acids research*, 42(W1), W53-W58.

Roy, P. P., & Roy, K. (2010). Docking and 3D-QSAR studies of diverse classes of human aromatase (CYP19) inhibitors. *Journal of molecular modeling*, 16, 1597-1616.

Ranjith, D., & Ravikumar, C. (2019). SwissADME predictions of pharmacokinetics and drug-likeness properties of small molecules present in *Ipomoea mauritiana* Jacq. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(5), 2063-2073.

Pires, DE, Blundell, TL et Ascher, DB (2015). pkCSM : prédire les propriétés pharmacocinétiques et toxiques des petites molécules à l'aide de signatures graphiques. *Journal de chimie médicinale*, 58 (9), 4066-4072.

Dong, J., Wang, NN, Yao, ZJ, Zhang, L., Cheng, Y., Ouyang, D., ... et Cao, DS (2018). ADMETlab : une plateforme d'évaluation ADMET systématique basée sur une base de données ADMET exhaustivement collectée. *Journal de chiminformatique*, 10, 1-11.

Aziza CHABIRA, Z. D. (2021). La prédiction in silico des propriétés ADME des molécules d'huile essentielle de *Lavandula dentata*.

Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. 1997. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews* 23(1-3): 3-25.

Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of medicinal chemistry*, 45(12), 2615-2623.

ABDELLI, K., AGOUDJIL, N., & BOURENANE, A. (2021). Conception in silico de nouveaux inhibiteurs anti-EGFR en vue d'une application anticancéreuse.

Références Bibliographiques

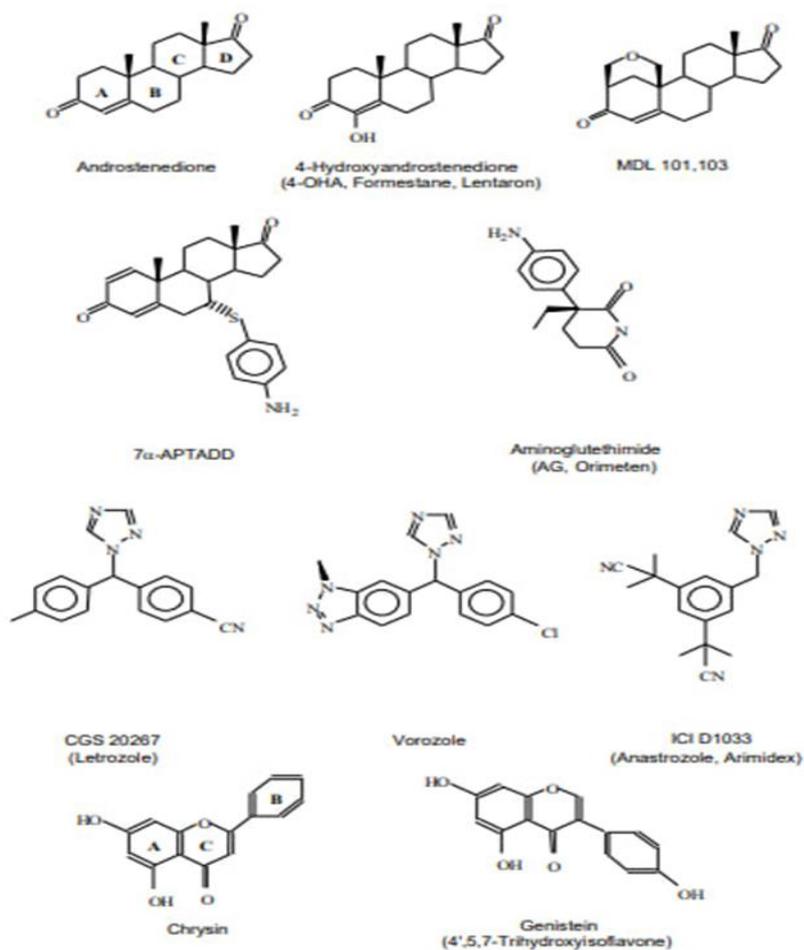
Abboud Faten, S. I. (2021). Etude par modélisation moléculaire des propriétés cytotoxiques de certains dérivés de 1, 2-dithiole-3-thione.

Lipinski, CA, Lombardo, F., Dominy, BW et Feeney, PJ (1997). Approches expérimentales et informatiques pour estimer la solubilité et la perméabilité dans les contextes de découverte et de développement de médicaments. Examens avancés de l'administration de médicaments, 23 (1-3), 3-25.

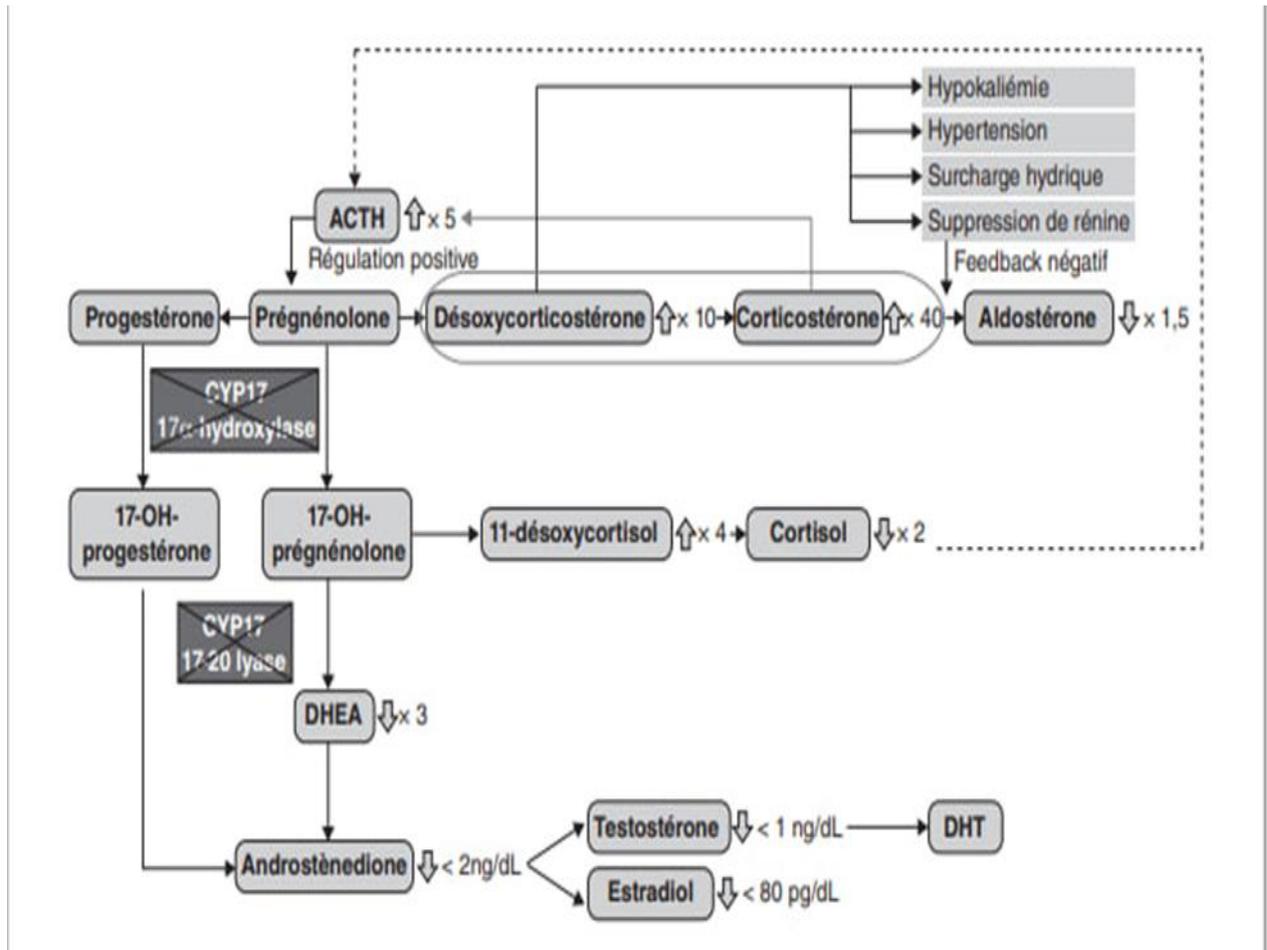
Ghose, A. K., Viswanadhan, V. N., & Wendoloski, J. J. (1999). A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. Journal of combinatorial chemistry, 1(1), 55-68.

DAHNOUN, O. (2019). *Etude géologique et caractérisation pétrophysique d'un champ pétrolier à Hassi Messaoud. Cas d'étude : Hors zone sud* (Doctoral dissertation, Ecole Nationale Supérieure des Mines et de la Métallurgie. Amar Laskri. Annaba).

Les annexes



Annexe N°1 : Structures de sept inhibiteurs d'aromatase et de deux phytoestrogènes. (Chen, 1998)



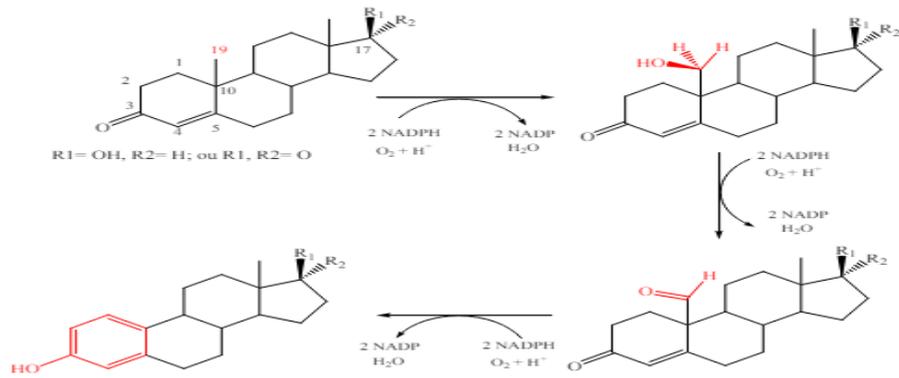
Annexe N°2 : Mécanismes d'action des inhibiteurs de l'Aromatase (Les voies de synthèse des stéroïdes et leur inhibition par l'acétate d'abiratérone) (Audenet et al., 2013)

| COMPLICATION | SOMMAIRE DES ÉVÉNEMENTS | PRISE EN CHARGE |
|---|--|---|
| Maladie cardiovasculaire | <ul style="list-style-type: none"> • Risque accru d'événements cardiaques • Risque accru d'AVC • Risque accru de TVP/EP | <ul style="list-style-type: none"> • Modifications du mode de vie favorisant une alimentation et un poids santé • Abandon du tabac • Physiothérapie • Surveillance et optimisation médicale de la glycémie, de la tension artérielle et de la lipidémie • Envisager un antagoniste de la GnRH chez les patients qui présentent des comorbidités cardiaques importantes • Envisager une demande de consultation en oncologie cardiaque |
| Modification de la composition corporelle | <ul style="list-style-type: none"> • Hausse de l'IMC • Pourcentage accru de graisses corporelles • Baisse de la masse musculaire | <ul style="list-style-type: none"> • Modifications du mode de vie favorisant une alimentation et un poids santé • Physiothérapie • Surveillance et optimisation médicale de la glycémie, de la tension artérielle et de la lipidémie |
| Variation des paramètres métaboliques | <ul style="list-style-type: none"> • Résistance à l'insuline/intolérance au glucose • Risque accru de nouveau diabète • Aggravation de la maîtrise de la glycémie • Altération du profil lipidémique • Risque accru de syndrome métabolique | <ul style="list-style-type: none"> • Modifications du mode de vie favorisant une alimentation et un poids santé • Physiothérapie • Surveillance et optimisation médicale de la glycémie, de la tension artérielle et de la lipidémie |
| Santé des os | <ul style="list-style-type: none"> • Baisse de la DMO • Risque accru d'ostéoporose • Risque accru de fractures cliniques | <ul style="list-style-type: none"> • Abandon du tabac et de l'alcool • Apport adéquat en calcium (1200 mg/j) et supplémentation de vitamine D (800-1000 UI/j) • Physiothérapie • Pharmacothérapie par un bisphosphonate ou le dénosumab chez les hommes qui présentent des facteurs de risque de fracture des os (c.-à-d. antécédents de fracture faiblement traumatique, diagnostic d'ostéoporose, risque modéré ou élevé de fracture à 10 ans) |
| Bouffées de chaleur | s.o. | <ul style="list-style-type: none"> • Éviter les déclencheurs • Pharmacothérapie • Envisager l'acupuncture • Envisager le TAA intermittent |
| Événements mammaires | <ul style="list-style-type: none"> • Gynécomastie • Mastodynie | <ul style="list-style-type: none"> • Traitement par le tamoxifène ou RT à faible dose (privilégier le tamoxifène) • Prise en charge chirurgicale chez certains patients |

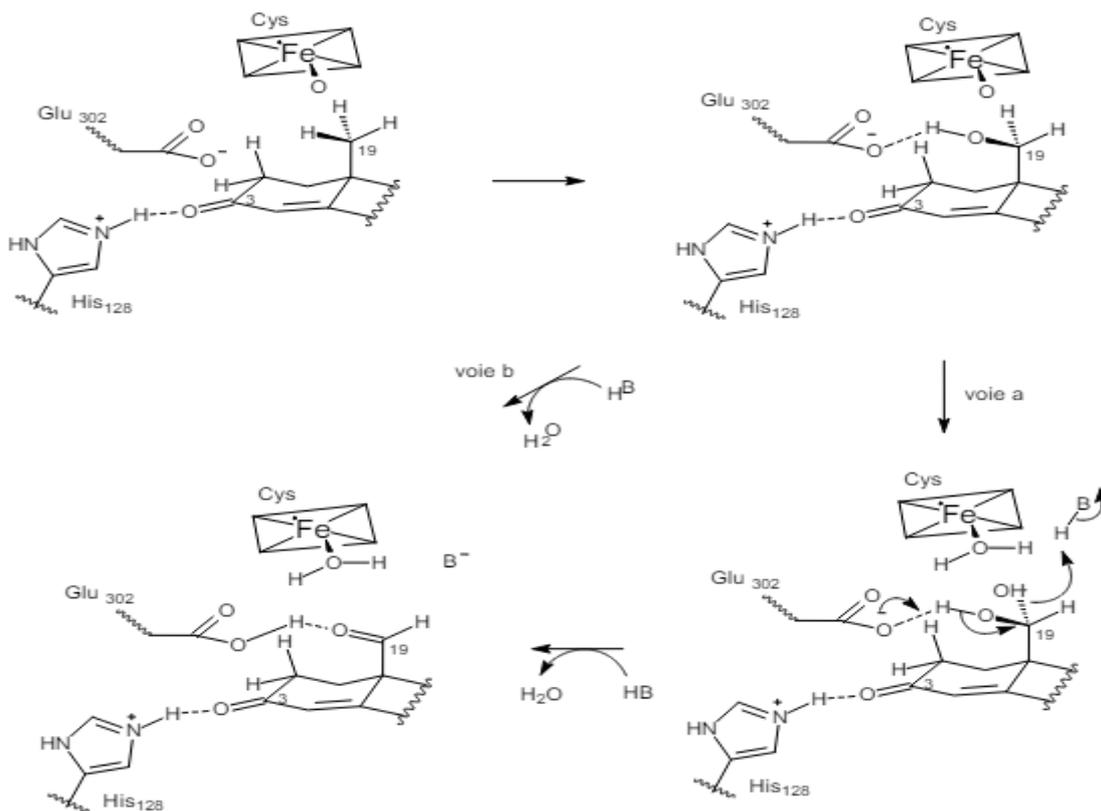
| COMPLICATION | SOMMAIRE DES ÉVÉNEMENTS | PRISE EN CHARGE |
|---|--|---|
| Fonction cognitive | <ul style="list-style-type: none"> • Concentration • Mémoire • Démence • Dépression | <ul style="list-style-type: none"> • Les données étayant la causalité sont de mauvaise qualité • Éducation appropriée du patient et surveillance des symptômes |
| Fatigue et anémie | s.o. | <ul style="list-style-type: none"> • Physiothérapie pour la fatigue • Bilan des causes secondaires de l'anémie et demande de consultation en hématologie lorsqu'indiqué |
| Affaiblissement de la fonction sexuelle | <ul style="list-style-type: none"> • Réduction de la taille du pénis et des testicules • Perte de la libido • Sensibilité réduite à la stimulation sexuelle • Dysfonction érectile | <ul style="list-style-type: none"> • Counseling approprié avant le traitement • Sexothérapie • Inhibiteur de la PDE5 et autres traitements du DE, lorsqu'indiqués • Envisager le TAA intermittent |
| Qualité de vie | • Nombreux domaines | <ul style="list-style-type: none"> • Physiothérapie • Envisager le TAA intermittent |

DE—dysfonction érectile, DMO—densité minérale osseuse, EP—embolie pulmonaire, GnRH—gonadolibérine, IMC—indice de masse corporelle, PDE5—phosphodiesterase 5, RT—radiothérapie, s.o.—sans objet, TAA—traitement anti-androgénique, TVP—thrombose veineuse profonde. Reproduit avec la permission de Kokorovic et coll.¹³ ©2021 Canadian Urological Association ou ses concédants.

Annexe N°3 : Résumé des effets indésirables du traitement endocrinien du cancer de la prostate et de leur prise en charge. (Chaput et Sumar, 2022)



Annexe N°4 : Conversion des androgènes en estrogènes par l'aromatase. (CHULIA et FAGNERE, 2005).



Annexe N°5 : Etapes 1 et 2 de l'oxydation du méthyle -19 : transformation en aldéhyde. (CHULIA et FAGNERE, 2005).

Résumé

Résumé :

Le cancer de la prostate est une maladie qui a une relation œstrogénique et **l'aromatase** joue un rôle clé dans la conversion des androgènes en œstrogènes. Afin d'inhiber cette enzyme, nous avons étudié la silice à partir de la méthodologie de conception de médicaments basée sur la structure, qui a été réalisée par liaison moléculaire. Enzyme d'aromatase de protéine cible (PDB : 3qem) et ligands de letrozole (CID : 3902), Hopeachinol B (CID : 102004724), Wilforlide A (CID : 158477), cucurbitacine s), en utilisant **programme d'amarrage**. Après avoir préparé la protéine par **Biovia Discovery Studio Visualizer**, les ligaments ont été importés pour le dépistage virtuel via PyRx, Parmi ces composés, il semble que Hopeachinol B et Wilforlide A ont la meilleure affinité "10.0- kcal/mol" et "9,8- kcal/mol" respectivement. La zéaxanthine semble être la meilleure liaison globale en termes de combinaison de **propriétés pharmaco motrices** favorables (absorption GI élevée, BHE perméable, conformité à Lipinski (si nous excluons PM (g / mol) et Viber) et de faible toxicité totale.

Mot clés : Le cancer de prostate, Aromatase, programme d'amarrage, pyrx, Biovia Discovery Studio Visualizer, propriétés pharmaco motrices

Abstract:

Prostate cancer is a disease that has an estrogenic relationship and aromatase plays a key role in converting androgens into estrogens. In order to inhibit this enzyme, we studied silica from the structure-based drug design methodology, which was performed by molecular binding. Target protein aromatase enzyme (PDB: 3qem) and letrozole ligands (CID: 3902), Hopeachinol B (CID: 102004724), Wilforlide A (CID: 158477), cucurbitacin s), using docking program. After preparing the protein by Biovia Discovery Studio Visualizer, the ligaments were imported for virtual screening via PyRx, among these compounds, it seems that Hopeachinol B and Wilforlide A have the best affinity "10.0- kcal/mol" and "9.8- kcal/mol" respectively. Zeaxanthin appears to be the best overall binding in terms of a combination of favorable pharmacomotor properties (high GI absorption, permeable BBB, Lipinski compliance (if we exclude PM (g/mol) and Viber) and low total toxicity.

Keywords: prostate cancer, aromatase, docking program, pyrx, Biovia Discovery Studio Visualizer, pharmacomotor properties

الملخص

سرطان البروستاتا هو مرض له علاقة هرمون الاستروجين ويلعب الأروماتاز دورًا رئيسيًا في تحويل الأندروجين إلى هرمون الاستروجين. من أجل تثبيط هذا الإنزيم، درسنا السيليكات من منهجية تصميم الدواء القائمة على الهيكل، والتي تم وربطات ليتروزول (PDB: 3qem) إجراؤها عن طريق الارتباط الجزيئي. إنزيم أروماتاز البروتيني المستهدف Hopeachinol B (CID: 102004724)، Wilforlide A (CID: 158477)، cucurbitacin (CID: 3902)، تم استيراد Biovia Discovery Studio Visualizer، باستخدام برنامج الالتحام. بعد إعداد البروتين بواسطة (s) Hopeachinol B و Wilforlide A، ومن بين هذه المركبات، يبدو أن PyRx الأربطة للفحص الافتراضي عبر هو أفضل ارتباط Zeaxanthin على التوالي. يبدو أن "kcal/mol" و "9.8 kcal/mol" لديهما أفضل تقارب "10.0 Lipinski النفاذ، امتثال BHE العالي، GI شامل من حيث مزيج من الخصائص الدوائية الحركية المواتية (امتصاص، والسمية الإجمالية المنخفضة (Viber) و (PM (g/mol) إذا استبعدنا)

الكلمات الرئيسية:

، Biovia Discovery Studio Visualizer، pyrX سرطان البروستاتا، أروماتاز، برنامج الالتحام، الخصائص الدوائية الحركية .