

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

UNIVERSITE SAAD DAHLEB
BLIDA



Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie et physiologie cellulaire

Mémoire présenté Pour l'obtention du Diplôme de

MASTER EN Bioinformatique

Sous le Thème :

***Imputabilité des effets indésirables d'Azathioprine et
étude in Silico de son interaction avec son récepteur
dans le cadre du suivi de pharmacovigilance***

Présenté par :

Melle BOUZERAR Ghania

Membres de jury

Président ***M^{me} TOBAL S. MCB.Blida 1***

Examinatrice ***M^{me} CHERRALAH. MCB.Blida 1***

Promotrice ***M^{me} LOUMI N. Pr, CNPM .Alger***

Co-promoteur ***Mr KRID A. MAA-UFM.Constantine***

Promotion 2017

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu de m'avoir accordé la santé et a donné la force et le courage d'accomplir ce travail.

J'exprime ma sincère gratitude à Madame le Docteur AIT HAMMOU KENZA pour précieuse et honorable aide dans l'orientation, explication et la direction de ce travail.

J'adresse respectueux remerciements à Madame le Professeur LOUMI NADJET de ma avoir permis de réaliser mon mémoire au sein du CNPM, pour son soutien, ses précieux conseils et sa contribution à l'achèvement de ce mémoire.

L'aspect bioinformatique et modélisation de ce travail a principalement été encadré par Monsieur KRID ADEL. Je vous remercie de m'avoir guidé tout au long de ce travail tout en étant vraiment perdue , de m'avoir permis de mieux appréhender l'utilisation de nombreux outils et méthodes de calculs nécessaires dans la réalisation des calculs et de la modélisation moléculaire. Je vous remercie pour la confiance que vous avez accordée durant mon travail. Merci à vous de m'avoir écouté dans les moments difficiles et de m'avoir reboosté.

Je remercie vivement Madame TOBAL SEGHIR , qui m'a fait l'honneur de participer à notre jury de mémoire .

Tout le respect et je remercie Madame CHERRALAH qui a pleine consacrer leur temps et leur attention afin d'évaluer mon travail qui espérons le sera à la hauteur de leur attente.

Je tiens à remercier Madame KIBBAS SALIMA, Madame KHEMILI SOUAD et Madame BENMAHDI pour l'information qui vous avez donnée.

Mes remerciements bien sûr à tous nos amis de la promotion Bioinformatique pour leur sympathie et leur soutien moral.

Je tiens sincèrement à remercier toute personne ayant collaboré de loin ou de près à réaliser ce travail.

Sincères remerciements.

Dédicaces

Je dédie humblement ce manuscrit à :

*A celle qui s'est toujours dévouée et sacrifiée pour moi ; celle qui m'a aidée du mieux qu'elle pouvait pour réussir ; celle qui m'a accompagnée tout au long de ce parcours périlleux ; celle qui a toujours été là dans mes moments de détresse ; **ma très chère Mère** que dieu le garde et protège.*

*A mes très chères sœurs « **Chiraz, Farida, Mina, Chaïma, wissem.** »*

*A mes très chères nièces « **Melissa et Alaa** »*

*Et à mes très chers frères « **Ismail, Walid.** » qui m'ont énormément aidée et à qui je témoigne mon affection et ma profonde reconnaissance.*

*A mon ami de l'enfance **Oukaci Rafik.***

*A mes meilleurs amies : **Somia, Samia.***

*A **Boukhalfa Athemane** qui m'a aidée et donnée le soutien moral merci d'être avec moi.*

*Aussi à des gens qui m'ont aidé dans ce travail : **Bouabellou Hamden, Khelifi Djalel, Mr Alane , Rédha, Halim, Azzedine, Sidali , Aichi Mouhamed .***

*Sans oublier tous les gens de **Constantine du Café Time.***

*A mes collègues de la section **Bioinformatique** et tous les enseignants.*

A toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce projet.

Table des matières

Problématique

Objectifs

Introduction générale	01
-----------------------------	----

Partie Théorique

Chapitre I : pharmacovigilance

1. Historique	03
---------------------	----

2. l'intérêt de pharmacovigilance	03
---	----

I. Pharmacovigilance

I.1. Définition.....	04
----------------------	----

I.2. Les effets Indésirables des Médicaments	04
--	----

I.2.1. Définition	04
-------------------------	----

I.2.2. Classification des effets indésirables des médicaments	05
---	----

1. Classification selon la fréquence.....	05
---	----

2. Classification selon la nature	05
---	----

3. Classification selon le mécanisme de survenue	05
--	----

I.3. Pharmacovigilance à l'échelle internationale.....	07
--	----

I.4. Pharmacovigilance en Algérie.....	07
--	----

I.4.1. Présentation du CNPM.....	07
----------------------------------	----

I.4.2. Organisation	08
---------------------------	----

I.4.3. Missions du centre	08
---------------------------------	----

Chapitre II : L'imputabilité

II.1. Définition.....	09
-----------------------	----

II.2. La méthode française d'imputabilité.....	09
--	----

II.3. Les critères chronologiques et sémiologiques	10
--	----

Chapitre III : Médicament Azathioprine

III.1. Anti-méthabolites	13
--------------------------------	----

III.1.1. Azathioprine.....	14
----------------------------	----

III.1.2. Pharmacodynamique	15
----------------------------------	----

III.1.3. Pharmacocinétique.....	16
---------------------------------	----

III.1.4. Indication.....	16
--------------------------	----

III.1.5. Effets indésirables	16
------------------------------------	----

Chapitre IV : Etude *in silico* : Docking Moléculaire

IV.1. Introduction.....	17
IV.2. Définition	17
IV.3. La Modalisation Moléculaire.....	18
IV.3.1 Docking Moléculaire.....	18
IV.3.2 Les interactions protéine-ligands.....	19
IV.3.3. Les étapes du docking moléculaire.....	21
IV.3.4. la Protéine Data Bank (PDB).....	22
Partie Pratique	
1. Matériels	23
2. Méthodes.....	28
Résultats et Discussion	
1- Etude de cas : l'imputabilité d'un cas reçu au CNPM concernant l'Azathioprine	29
2- Etude in Silico	32
I. Docking moléculaire et étude des interactions.....	33
I.1. Préparations des protéines.....	33
I.2. Résultats obtenus lors de la stimulation du docking.....	33
II. Etude des interactions TPMT-Ligands.....	34
II.1. interactions TPMT-AZA.....	34
II.2. interactions TPMT-6MP.....	36
II.3. interactions TPMT-6MMP.....	37
II.4. interactions TPMT-6TG.....	38
II.5. interactions ADN-6TG.....	39
III. Complémentarité géométrique entre macromolécules et ligands.....	39
IV. Règle de Lipinski (Molinspiration).....	40
Conclusion.....	42
Conclusion générale	43
Références bibliographiques	46

Résumé

Le développement de molécules, à usage thérapeutique ou diagnostique, reste un enjeu majeur en biologie, ainsi la bioinformatique par modélisation moléculaire est devenue une partie intégrante dans la recherche et dans le développement de nouvelles molécules thérapeutiques et biologiques actives dans les sciences du vivant.

La pharmacovigilance permet l'amélioration de la sécurité du patient par la surveillance continue de l'impact sanitaire de l'utilisation des produits de santé et par l'évaluation du rapport bénéfice/risque de ces produits pour réduire la gravité des choses.

Une imputabilité a été établie pour faire le lien entre l'effet indésirable notamment l'atteinte hépatique et l'azathioprine, revenue plausible (I2) en imputabilité intrinsèque, avec effet notoire en imputabilité extrinsèque (B3).

L'étude in Silico nous a permis de modéliser les interactions entre des ligands de la famille des thiopurine et leurs cibles enzymatiques. Cette étude est effectuée principalement par le biais du docking moléculaire.

Mots clés :

- Effet indésirable, pharmacovigilance, imputabilité, Azathioprine , in Silico ,docking moléculaire .

Abstract

The development of molecules, for therapeutic or diagnostic use, remains a major challenge in biology, so bioinformatics through molecular modeling has become an integral part of the research and development of new therapeutic and biological molecules active in the life sciences.

Pharmacovigilance improves patient safety by continually monitoring the health impact of health product use and evaluating the benefit / risk ratio of these products to reduce the severity of the situation.

Accountability was established to link the adverse reaction, including hepatic involvement and azathioprine, with plausible returns (I2) in intrinsic imputability, with a notable effect in extrinsic (B3) accountability.

The study in Silico allowed us to model the interactions between ligands of the thiopurine family and their enzymatic targets. This study is carried out mainly through molecular docking.

Keywords :

- Adverse reaction, pharmacovigilance , imputability, Azathioprine , in Silico, molecular docking .

ملخص

مع التطور الجزيئات للاستعمال العلاجي او التشخيصي يبقى تحديا كبير في علم الاحياء و كذلك الاعلام الحيوي بنمذجة الجزيئية اصبحت جزء لا يتجزا من البحث وتطوير للجزيئات الجديدة العلاجية والبيولوجية النشطة في علم الاحياء.

اليقضة الصحية سمحت بتحسين سلامة المرضى و ذلك عن طريق مراقبة الدائمة للاثار صحية نتيجة استعمال للدوية وتقييم نسبة الفائدة /المخاطر من هذه المنتوجات لنقص من شدة الوضع .

لقد استعملنا الضمنية لربط بين الاثار غير مرغوب فيها خاصة التلف الكبدي و الازوتيوبرين مع عوائد معقولة (21) الضمنية الداخلية وتأثيركتابي في الضمنية الخارجية(ب3).

الدراسة ان سيليكو سمحت لنا بنمذجة التفاعلات بروابط من عائلة ثيوبورين والبروتين الانزيمي, يتم تنفيذ هذه الدراسة اساسا من خلال الالتحام الجزيئي.

مفاتيح الكلمات:

- اثار غير مرغوب فيها

- اليقضة الصحية

- الازوتيوبرين

- الضمنية

- ان سيليكو

-الالتحام الجزيئي

Liste des tableaux

Tableau récapitulatif de la classification des effets indésirables selon le mécanisme de survenue.	06
Tableau 01 : Table de décision combinant les critères chronologiques de la méthode française d'imputabilité.	10
Tableau 02 : Table de décision combinant les critères sémiologiques de la méthode française d'imputabilité.....	10
Tableau 03 : Table de décision de l'imputabilité intrinsèque (I)	11
Tableau 04 : différent scores obtenus lors du docking moléculaire des quatres molécules avec l'entrée 2BZG.	33
Tableau 05 : les différentes liaisons hydrogènes obtenues	34
Tableau 06 : les différents résultats de la règle de lipinski (Molinspiration).....	41

Liste des figures

Figure 01 : résumé de ce qu'est la bioinformatique translationnelle.....	02
Figure 02 : formules chimiques de l'azathioprine (AZA), 6-Mercaptopurine (6-MP), 6-thioguanine (6-TG).....	13
Figure 03 : S-méthylation de la 6MP catalysé par la Thiopurine méthyl transférase.....	14
Figure 04 : Chemin du métabolisme de l'azathioprine: les voies concurrentes entraînent une inactivation par TPMT ou XO, ou l'incorporation de nucléotides cytotoxiques dans l'ADN..	15
Figure 05 : Représentation schématique du docking moléculaire	19
Figure 06 : Les interactions de Van Der Walls	20
Figure 07 : liaison hydrogène.....	20
Figure 08 : Les interactions hydrophobes.....	20
Figure 09 : Les interactions électrostatiques.....	21
Figure 10 : différentes liaisons hydrogènes entre la 2BZG et l'azathioprine.....	35
Figure 11 : différentes liaisons hydrogènes entre la 2BZG et l'azathioprine.....	35
Figure 12 : différentes liaisons hydrogènes entre la 2BZG et la 6-MP.....	36
Figure 13 : interactions de vdW et hydrophobiques entre la 6-MP et la TPMT.....	36
Figure 14 : différentes liaisons hydrogènes entre la 2BZG et la 6-MMP.....	37
Figure 15 : interactions de vdW et hydrophobiques entre la 2BZG et la 6MMP.....	37
Figure 16 : différentes liaisons hydrogènes entre la 2BZG et la 6-TG.....	38
Figure 17 : interactions de vdW et hydrophobiques entre la 2BZG et la 6-TG.....	38
Figure 18 : interactions de vdW entre la 1BNA et la 6-TG.....	39
Figure 19 : complémentarité géométrique 2BZG/AZA.....	39
Figure 20 : complémentarité géométrique 2BZG/6-MP	39
Figure 21 : complémentarité géométrique 2BZG/6-MMP.....	40
Figure 22 : complémentarité géométrique 2BZG/6-TG.....	40
Figure 23 : complémentarité géométrique 1BNA/6-TG.....	40

Liste des abréviations

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire.

OMS: Organisation Mondial de Santé.

EIM: Effets Indésirables des Médicaments.

CNPM: Centre National de Pharmacovigilance et Matéiovigilance.

TP: Thiopurines .

AZA: Azathioprine.

6-MP: 6- Mercaptopurine.

6-MMP: 6-MéthylMercaptopurine.

6-TG/TG: 6-Thioguanine /Thiguanine.

TPMT: Thiopurine Métyl Transférase.

SAM: S-adénosyl-Méthionine.

AND: Acide désoxyribonucléique .

ARN: Acide ribonucléique.

GMPS: Guanosine monophosphate synthetase

HGPRT: Hypoxanthine-guanine-phosphoribosyltransferase

IMPD: Inosine monophosphate dehydrogenase

MeMP: Methylmercaptopurine

MeMPN: Methylmercaptopurine nucleotide

TGN_s: Thioguanine nucleotides

TIMP: Thioinosine monophosphate

TU: Thiouric acide

XO: Xanthine oxidase

Problématique :

Le développement de molécules, à usage thérapeutique ou diagnostique, reste un enjeu majeur en biologie, ainsi la bioinformatique par modélisation moléculaire est devenue une partie intégrante dans la recherche et dans le développement de nouvelles molécules thérapeutiques et biologiques actives dans les sciences du vivant.

Nous avons étudiées les interactions du médicament et la modélisation moléculaire qui regroupe de différentes techniques pour l'étude expérimentale des structures 3d des complexes (cristallographie, RMN, cryo-microscopie électronique, etc.) qui présentent de nombreuses limitations (taille, nature des protéines) et sont très coûteuses en temps et en prix. C'est pourquoi les techniques de **Docking**(interaction) ont été développées. Elles visent à prédire la structure 3d fonctionnelle d'un complexe protéique à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre permet de connaître la conception d'un médicament, moins cher et plus rapide que les méthodes expérimentales *in vitro* (Grosdidier, 2007). Les approches utilisées actuellement sont des outils bioinformatique qui collectent les informations utiles de pharmacovigilance.

Objectif :

L'objectif principal de ce travail est de faire le lien de causalité entre les effets indésirables et le médicament notamment l'Azathioprine, et la prédiction, la visualisation et l'optimisation de structure 3D de ce médicament et la compréhension entre les interactions entre protéines. Il est fondamental :

- De mieux appréhender les bases moléculaires des processus biologiques développer des méthodes de conception de ligands en vue d'obtenir des agents thérapeutiques et/ou diagnostiques en utilisant la bioinformatique, et d'autre part diagnostiquer un effet indésirable survenant au cours du traitement d'une maladie et en faire le lien (pharmacovigilance).
- Collecter les informations utiles.
- Etablir un lien de causalité entre le médicament (Azathioprine) et l'effet indésirable (imputabilité).

Introduction générale

Introduction :

L'histoire de la pharmacovigilance internationale remonte à plus de trente ans, quand la vingtième Assemblée de l'Organisation Mondiale de la Santé a adopté une résolution sur la création d'un système international de surveillance des effets indésirables des médicaments. Cette résolution était la base du programme de l'OMS pour la surveillance internationale des effets indésirables des médicaments.^[1]

Le médicament est un enjeu de développement garantissant l'allongement de la durée de vie, l'amélioration de la prise en charge des pathologies graves et chroniques et la qualité de vie en général.

Néanmoins, le médicament peut aussi engendrer des effets, c'est pourquoi la Sécurité du médicament est une composante importante de toute politique de santé.^[2]

Depuis le début, des efforts de séquençage du concept de médecine personnalisée ont été évoqués. Ce concept s'est développé et on parle aujourd'hui de **médecine des 4P** à savoir **Prédiction, Personnalisation, Prévention et Participation**. La vision serait de pouvoir prédire la susceptibilité d'une personne à certaines maladies connues suite au séquençage de son génome (prédiction), de prendre des mesures préventives (participation) et même correctives (prévention) avant l'apparition de la maladie et, le cas échéant, de personnaliser les traitements en fonction du bagage génétique (personnalisation)^[3]. Ceci implique toutefois la participation de plusieurs domaines d'études composés d'équipes multidisciplinaires dont fait partie le bio-informaticien.

Voici quelques domaines couramment cités dans la médecine des 4P.

- ✓ La pharmacogénomique étudie la relation entre le médicament et les variations génétiques présentes chez un individu. Ces variations représentent environ 1% du génome humain, mais puisqu'elles ne se situent pas toutes dans des régions codantes ou régulatrices, du point de vue médical, la différence entre individus est estimée à 0.0003%.
- ✓ La pharmacocinétique étudie la vitesse de l'élimination du médicament de l'organisme.
- ✓ La pharmacodynamique étudie l'effet de la médication sur l'organisme et la pharmacovigilance étudie les effets indésirables du médicament .

Le bioinformaticien est donc appelé à se spécialiser et à acquérir les compétences spécifiques au domaine qu'il aura intégré. En médecine personnalisée, ces spécialités seront entre autres la

bioinformatique translationnelle^[4], ou encore la conception de médicaments assisté par ordinateur^[5]

L'informatique translationnelle est définie par l'Association Américaine d'Informatique Médicale comme étant le développement de méthodes d'entreposages, analytiques et d'interprétations visant la transformation du grand volume de données génomiques et biomédicales en médecine des 4P. Les défis sont l'hétérogénéité des données, leur analyse, la compression des données, l'établissement de consensus et l'acquisition de moyens pour évaluer les résultats^[6].

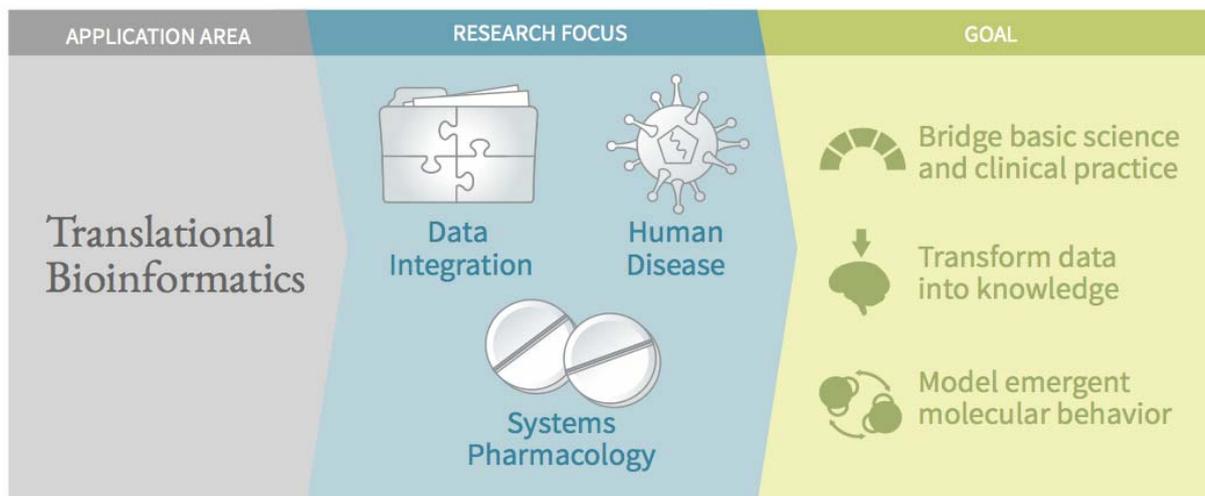


Figure 01 : résumé de ce qu'est la bioinformatique translationnelle.

Source: <https://www.dbmi.columbia.edu/research/research-areas/translational-bioinformatics/>

Chapitre I :

Pharmacovigilance

1. L'historique de la pharmacovigilance :

La phocomélie chez les enfants dont les mères prenaient la thalidomide au premier trimestre de la grossesse se caractérisant par une atrophie des membres c'est le drame du thalidomide en 1961.

En 1962, un an après le drame sensibilisateur de la thalidomide, la 15^{ème} Assemblée générale de l'OMS promu un programme visant à améliorer l'efficacité et l'innocuité des médicaments.

L'année suivante, la 16^{ème} Assemblée générale a invité les états membres à entreprendre la création de centres nationaux dans dix puis dans douze pays.

C'est en 1971 que l'OMS crée le centre mondial de pharmacovigilance (WHO Drug Monitoring Center) à Genève.

Aux USA, découverte de plusieurs cas de cancers du vagin chez les jeunes filles de 15-22 ans dont les mères avaient été traitées par le diéthylstilbestrol durant leur grossesse entre 1970 et 1971.

L'organisation de la pharmacovigilance française a à peine plus de vingt ans.

Le 19 décembre 1973, le syndicat national de l'industrie pharmaceutique, les conseils nationaux de l'ordre des médecins et les centres de lutte des intoxications créent, avec l'aval de l'administration, le centre national de pharmacovigilance. Parallèlement, à l'initiative de professeurs de pharmacologie ou de toxicologie, six centres hospitaliers pilotes de pharmacovigilance ont été créés.

L'arrêté du 2 décembre 1976 la création d'une commission technique de pharmacovigilance. Création d'un centre collaborateur de l'OMS pour la surveillance internationale des drogues en 1978 (UPPSALA, Suède).

En France, en 1982 il existe 28 centres régionaux implantés dans un service de pharmacologie, ou de toxicologie, hospitalo-universitaire.

Création de l'Agence Européenne des Médicaments en 1995.^[7]

2. L'intérêt de la pharmacovigilance :

La pharmacovigilance a pour intérêt l'amélioration de la sécurité du patient par la surveillance continue de l'impact sanitaire de l'utilisation des produits de santé et par l'évaluation du rapport bénéfices/risques de ces produits pour réduire la gravité des effets.

I. La pharmacovigilance (PV)

I.1.Définition :

La pharmacovigilance est définie comme étant la science et les activités relatives à la détection, à l'évaluation, à la compréhension et à la prévention des effets indésirables ou de tout autre problème liés aux médicaments. (OMS ; 1972).

La pharmacovigilance englobe la prévention, l'identification, l'évaluation et la correction du risque médicamenteux potentiel ou avéré (iatrogénie médicamenteuse). Elle s'attache notamment à évaluer les facteurs évitables du risque médicamenteux.

Rôle de la pharmacovigilance :

- Le signalement des effets indésirables consécutifs à la prise d'un médicament et le recueil des informations les concernant.
- L'enregistrement, l'évaluation et l'exploitation de ces informations dans un but de prévention.
- La réalisation de toutes études et de tous travaux concernant la sécurité d'emploi des médicaments.

I.2.Effets Indésirables des Médicaments(EIM) :

Plusieurs termes sont préconisés pour désigner un effet indésirable :

- Effet latéral
- Effet accessoire
- Effet secondaire
- Effet nocif ...

Le terme le plus approprié est : « Effet Indésirable Médicamenteux »

En Anglais « Adverse drug reaction »

I.2.1 Définition :

Un effet indésirable est une réaction nocive et non voulue, se produisant aux posologies normalement utilisées chez l'homme pour la prophylaxie, le diagnostic ou le traitement d'une maladie ou la modification d'une fonction physiologique. (OMS ; 1972).

C'est également toute réaction résultant d'un :

Mésusage, Usage abusif, Syndrome de sevrage, Pharmaco dépendance, Erreur médicamenteuse, Inefficacité thérapeutique, Produit défectueux ou de mauvaise qualité. (OMS ; 2000).

I.2.2 Classification des EIM :

Il existe plusieurs type de classifications, ils sont classés selon leur fréquence, leur nature ou selon le mécanisme :

1. Classification selon la fréquence :

- EIM fréquent, si fréquence de survenue $> 5\%$.
- EIM occasionnel, si fréquence de survenue située entre 0.1% et 5%.
- EIM rare, si fréquence de survenue $< 0.1\%$.

2. Classification selon la nature :

- Aucune spécificité d'organe.
- Réaction aiguë, subaigu ou chronique.
- Bénigne ou grave.
- Précoce ou tardive.

3. Classification selon le mécanisme de survenue :

Type A (Augmented) : Pharmacologique.

Type B (Bizarre) : Immunoallergique / Non immunoallergique.

Type C (Continuous) : Prise Chronique^[8].

Tableau récapitulatif de la classification des effets indésirables selon le mécanisme de survenue^[8].

	Types		
Caractéristiques	A	B	C
Mécanisme	<u>Pharmacologique</u> : - <u>Pharmacodynamique</u> : lié à l'effet principal ou latéral du médicament - <u>pharmacocinétique</u> : Résorption, Distribution Métabolisme, Elimination - <u>Pharmaceutiques</u> : Produit périmé, altéré.	<u>Immun allergique</u> : Nécessitent une sensibilisation de plusieurs jours ou lors d'une nième prise Immédiate, Retardée. Non immun allergiques : - <u>Pseudoanaphylactiques</u> : Réaction similaire à une réaction allergique due à la libération directe d'histamine secondaire à la dégranulation des basophiles, sans réaction Ag-AC, donc en l'absence de sensibilisation préalable. - <u>Idiosyncrasiques</u> : C'est une disposition personnelle particulière, généralement innée, à réagir à l'action des agents extérieurs, physiques ou chimiques.	mécanisme inconnu
Fréquence	Élevée (0.5-30%)	Rare < 1%	Rare < 1%
Délai de survenue	Suggestif	Suggestif	NON suggestif retardé
Mortalité	Faible	importante	faible
Dose dépendant	Oui	Non	Non
Détection	Essais clinique Reproductible lors études expérimentales Notification spontanées	Notification spontanées Études épidémiologiques Non reproductibles expérimentalement	Difficilement reproductible expérimentalement Études de cohorte
Mesure Réglementaire	Retrait rare Modification du RCP	Aboutit souvent au retrait du médicament	Aboutit rarement au retrait du médicament

I.3. La pharmacovigilance à l'échelle internationale :

Le Programme OMS de pharmacovigilance internationale a été lancé en 1968 pour mettre en commun les données existantes sur les réactions indésirables aux médicaments. Il s'agissait à l'origine d'un projet pilote mené dans dix pays avec les systèmes nationaux existants de notification des effets indésirables.

Actuellement, 86 pays participent à ce programme qui est coordonné par l'OMS avec l'aide de son centre collaborateur d'Uppsala, en Suède. Le centre collaborateur se charge d'alimenter la base de données mondiale Vigibase sur les réactions indésirables aux médicaments. Actuellement, cette base de données contient plus de 3 millions de notifications de réactions indésirables. (OMS, 2000).

I.4. La pharmacovigilance en Algérie :

I.4.1. Présentation du Centre National de Pharmacovigilance et de Matéiovigilance (CNPM) :

Le CNPM a été créé par décret exécutif N°98-192 du 3 juin 1998 portant création, organisation et fonctionnement d'un Centre National de Pharmacovigilance et de Matéiovigilance.^[9]

C'est un établissement public à caractère administratif, doté de la personnalité morale et de l'autonomie financière, il est placé sous tutelle du ministère de la santé.

Le siège du centre est fixé à Alger. Il peut être transféré en tout autre lieu du territoire national par arrêté du Ministre chargé de la santé.

Des annexes du CNPM peuvent être créées par arrêté interministériel du ministère chargé des finances, du ministre chargé de la santé et de l'autorité chargée de la fonction publique.

I.4.2. Organisation :

Le centre est administré par un conseil d'orientation dirigé par un Directeur Général et doté d'un conseil scientifique.

I.4.3. Missions du centre :

Le centre a pour mission :

- Surveiller les réactions indésirables dues à l'usage de médicaments mis sur le marché (pharmacovigilance).
- Surveiller les incidents ou risques d'incidents résultant de l'utilisation de dispositifs médicaux (Matéiovigilance).
- Effectuer des recherches en vue d'établir les liens de causalité entre l'incident et l'agent causal.
- Améliorer les connaissances des praticiens sur les médicaments et les dispositifs médicaux.
- Assurer une collecte puis une diffusion d'informations sur l'efficacité des thérapeutiques et des stratégies thérapeutiques tant à l'échelle nationale que régionale.^{19]}

Pour faire le lien entre un effet indésirable et le médicament une imputabilité est établie. Plusieurs méthodes d'imputabilité existent. La méthode Française est utilisée au CNPM pour faire le lien de causalité.

Chapitre II :

Imputabilité

II. L'imputabilité

II.1. Définition :

L'imputabilité est l'évaluation clinique systématisée du lien causal susceptible d'exister entre un évènement indésirable et l'administration d'un médicament.

II.2. La méthode française d'imputabilité :

La méthode française d'imputabilité a été publiée pour la première fois en 1978 par Dangoumau, Evreux et Jouglard^[10]. Sa seconde version proposée par Bégaud, Evreux, Jouglard et Lagier^[11] est actuellement utilisée en France par les 31 centres régionaux de pharmacovigilance et l'industrie pharmaceutique. Elle est officielle, obligatoire (*cf.* Arrêté : Bonnes pratiques de Pharmacovigilance).^[12]

Cette méthode distingue l'imputabilité intrinsèque, qui ne concerne que le cas clinique, de l'imputabilité extrinsèque, qui est fondée sur les données bibliographiques. L'imputabilité intrinsèque repose sur sept critères (3 critères chronologiques et 4 critères sémiologiques).^[13]

II.3. Les critères chronologiques et sémiologiques :

L'imputabilité intrinsèque est basée sur l'évaluation de sept critères combinés dans deux tables de décision (critères chronologiques et sémiologiques).

Les critères chronologiques combinent :

- Le délai d'apparition de l'évènement indésirable (très suggestif, compatible ou incompatible).
- L'évolution à l'arrêt (suggestive, non concluante ou non suggestive).
- La Ré-administration du médicament (récidive de l'évènement, Ré-administration non faite ou non évaluable ou absence de récurrence de l'évènement).

La combinaison de ces trois critères permet d'obtenir un score chronologique avec quatre résultats possibles : C0 chronologie *incompatible*, C1 *douteuse*, C2 *plausible*, C3 chronologie *vraisemblable*.
 $R(+)$: réadministration positive, l'évènement récurrence ; $R(0)$: réadministration non faite ou non évaluable ; $R(-)$: réadministration négative, l'évènement ne récurrence pas.

Tableau 1 : Table de décision combinant les critères chronologiques de la méthode française d'imputabilité.

ADMINISTRATION DU MEDICAMENT	Délai d'apparition de l'effet						
	<i>Très suggestif</i>			<i>Compatible</i>		<i>Incompatible</i>	
Evolution à l'arrêt du médicament	Ré-administration du médicament						
	R(+)	R(0)	R(-)	R(+)	R(0)	R(-)	
« suggestive » : régression de l'événement coïncidant bien avec cet arrêt	C3	C3	C1	C3	C2	C1	C0
« non concluante » Régression paraissant au contraire plutôt spontanée ou provoquée par un traitement symptomatique non spécifique réputé efficace sur ces troubles, ou évolution inconnue, ou recul insuffisant ou lésions de type irréversibles (ou médicament non arrêté)	C3	C2	C1	C3	C1	C1	
« non suggestive » : absence de régression d'un événement de type réversible (ou régression complète malgré la poursuite du médicament)	C1	C1	C1	C1	C1	C1	

Le tableau sémiologique combine la recherche d'une autre cause connue de l'événement (absente ou plausible), les résultats d'un éventuel examen complémentaire spécifique fiable (positif, non disponible, ou négatif), la présence ou pas d'un facteur favorisant la survenue de l'événement et/ou d'une symptomatologie clinique ou para-clinique évocatrice du rôle du médicament. La combinaison de ces critères donne un score sémiologique avec trois résultats possibles : S1 sémiologie *douteuse*, S2 *plausible*, S3 *vraisemblable* ;

L(+) : test de laboratoire spécifique positif ; L(0) : test spécifique non disponible pour le couple événement médicament considéré ; L(-) : test spécifique négatif.

Tableau 2 : Table de décision combinant les critères sémiologiques de la méthode française d'imputabilité.

SEMILOGIE CLINIQUE OU PARACLINIQUE	Evocatrice* du rôle de ce médicament ET/OU facteur favorisant bien validé du couple effet indésirable/ médicament			Autres éventualités sémiologiques		
AUTRE(S) CAUSE(S) NON MEDICAMENTEUSE(S)	Examen complémentaire spécifique fiable (L)					
	L(+)	L(0)	L(-)	L(+)	L(0)	L(-)
Absente (après bilan approprié)	S3	S3	S1	S3	S2	S1
Possible (non recherchée ou présente)	S3	S2	S1	S3	S1	S1

Tableau 3. – Table de décision de l'imputabilité intrinsèque (I). Cette imputabilité est établie par croisement des scores chronologiques (C) Et sémiologiques (S) obtenus à partir des tableaux 1 et 2.

		SEMILOGIE		
		S ₁	S ₂	S ₃
CHRONOLOGIE	C ₀	I ₀	I ₀	I ₀
	C ₁	I ₁	I ₁	I ₃
	C ₂	I ₁	I ₂	I ₃
	C ₃	I ₃	I ₃	I ₄

L'association des critères chronologiques et sémiologiques permet de déterminer le score d'imputabilité intrinsèque I :

- I₄ : imputabilité très vraisemblable.
- I₃ : imputabilité vraisemblable.
- I₂ : imputabilité plausible.
- I₁ : imputabilité douteuse.
- I₀ : imputabilité incompatible.

L'imputabilité extrinsèque, fondée sur la bibliographie, complète l'évaluation. Elle comprend quatre catégories :

- B3 : effet notoire du médicament et bien décrit dans un des ouvrages de référence qui sont :

- Dictionnaire des médicaments
- Vidal
- Martindale
- Meyler's Side Effect

- B2 : effet non notoire du médicament publié seulement une ou deux fois avec une sémiologie relativement différente, ou rapporté seulement avec un médicament voisin, ou pour lequel seules des données expérimentales sont disponibles,

- B1 : effet non décrit conformément aux définitions B3 ou B2,

- B0 : effet tout à fait nouveau et jamais publié.

L'imputabilité est établie de manière indépendante pour chaque médicament pris par le malade avant la survenue de l'événement et n'est pas influencée par la prise de médicaments associés (imputabilité de détection).

Chapitre III :
Médicament« Azathioprine »

III. Médicament Azathioprine (Imuran®)

III.1. Anti-métabolites

III.1.1 Azathioprine :

Les immunosuppresseurs sont utilisés comme traitement de fond pour stabiliser la maladie et permettre une épargne cortisonique. Parmi ceux-ci, les Thiopurines (TP) sont la principale classe d'immunomodulateurs utilisés.

Les Thiopurines (TP), également appelées anti-purines, regroupent une famille de 3 substances: l'azathioprine (AZA), la 6-mercaptopurine (6-MP) et la thioguanine(TG).

Ces médicaments ont été synthétisés par Gertrude Elion et George Hitchings au début des années 50^[14].

L'azathioprine et la mercaptopurine sont des analogues des purines et ils agissent comme antagonistes des purines endogènes qui constituent les composants essentiels de l'ADN, de l'ARN^[15]. En une action anticancéreuse et immunosuppressive.

Le 6-Mercaptopurine (6-MP) et la 6-Thioguanine (6-TG) sont des agents anti leucémiques.

Formule chimique de l'azathioprine est 6-[(1-Méthyl-4-nitro-1H-imidazol-5-yl)thio]-1H-purine.

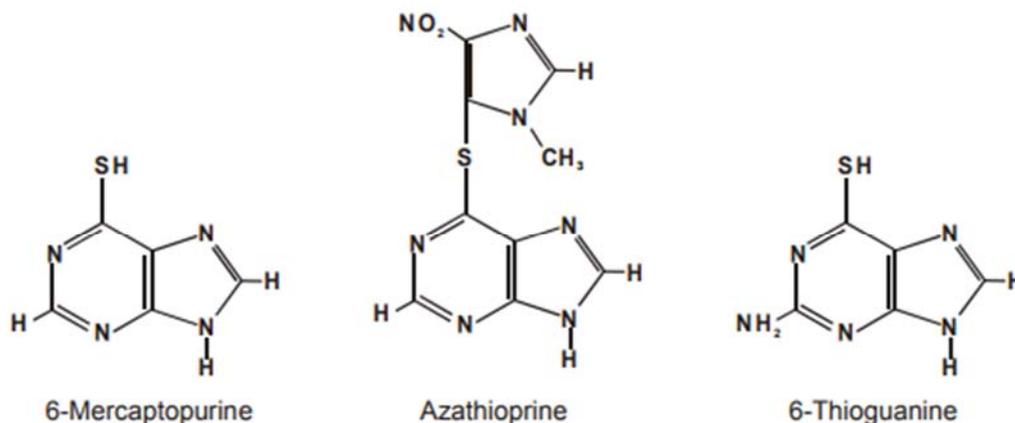


Figure02 : formules chimiques de l'azathioprine (AZA), 6-Mercaptopurine (6-MP), 6-thioguanine (6-TG)^[16].

Le 6-mercaptapurine est méthyle en 6-méthylmercaptapurine par TPMT qui est une transférase, utilisant le S-adénosyl-Lméthionine comme donneur de groupement méthyle.

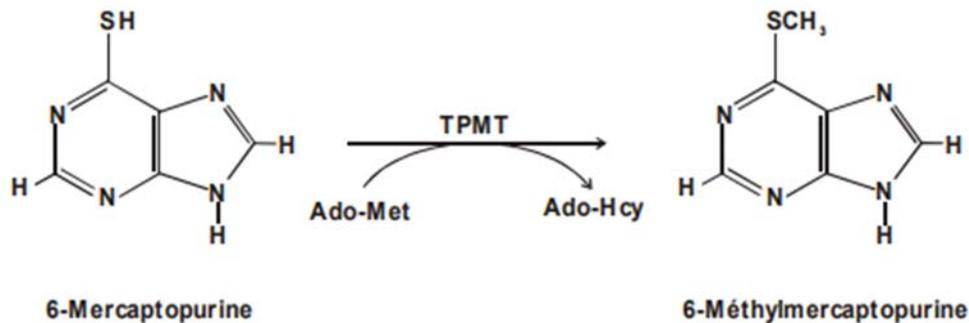


Figure 03 : S-méthylation de la 6MP catalysé par la Thiopurine méthyl transférase ^[17].

L'AZA est rapidement convertie par une conjugaison enzymatique et non-enzymatique via le Glutathion en MP, qui est, à son tour, convertie par différentes enzymes en des composés actifs et inactifs. Parmi les différentes enzymes impliquées: la Thiopurine Méthyl transférase (TPMT)

Thiopurine méthyl transférase (TPMT) :

La TPMT est une enzyme cytosolique retrouvée dans de nombreux tissus et est responsable de la catalyse par méthylation de nombreux cycles aromatiques, tels les thiopurines.

Pour exercer son action, elle nécessite la présence de S-adénosyl-méthionine (SAM), son cofacteur essentiel qui agit comme groupement moléculaire donneur de méthyle. Dès lors, une carence en cofacteur SAM diminue l'activité de la TPMT ^[18].

La TPMT est l'enzyme du métabolisme des TP la plus étudiée et la seule habituellement testée en pratique clinique. Le statut TPMT d'un individu peut être défini par des tests de génotypage ou de phénotypage de l'enzyme.

III.1.2. Pharmacodynamique :

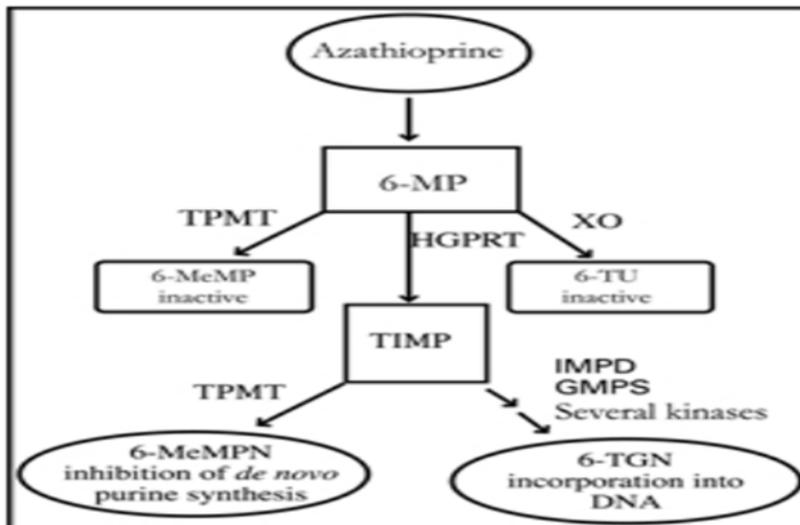


Figure 04. Chemin du métabolisme de l'azathioprine: les voies concurrentes entraînent une inactivation par TPMT ou XO, ou l'incorporation de nucléotides cytotoxiques dans l'ADN.

GMPS: Guanosinemonophosphatesynthetase

HGPRT: Hypoxanthine-guanine-phosphoribosyltransferase

IMPD: Inosinemonophosphatedehydrogenase

MeMP: Methylmercaptopurine

MeMPN: Methylmercaptopurinenucleotide

TGN: Thioguanine nucleotides

TIMP: Thioinosine monophosphate

TPMT: Thiopurine S-methyltransferase

TU: Thiouricacide

XO: Xanthine oxidase^[19]

L'azathioprine est transformée dans le tube digestif et métabolisée en présence du glutathion en 6-mercaptopurine qui est métabolisée en métabolites, qui inhibent la synthèse de purines des lymphocytes T. ^[20]

6-Thio-IMP est converti en 6-Thio-GMP puis en 6-Thio-GTP qui est incorporé dans l'ADN. Il y a synthèse d'ADN et d'ARN anormaux par remplacement des nucléotides physiologiques par des dérivés de la 6-mercaptopurine. La prolifération cellulaire est inhibée ainsi que les fonctions des lymphocytes. [21]

L'azathioprine est plus immunosuppressive que la 6-mercaptopurine.

III.1.3. Pharmacocinétique :

- la demi-vie est : $T_{1/2} \approx 30$ min
- Absorption orale : bonne
- la demi-vie du 6-Mercaptopurine ≈ 1 h, $T_{1/2}$ des autres métabolites ≈ 5 h
- Liaison aux protéines plasmatiques : faible
- Elimination essentiellement sous forme de métabolites
- Traverse le placenta et passe dans le lait maternel [22]

III.1.4. Indications :

- Prévention du rejet de greffe d'organe en association avec les corticoïdes et un autre immunosuppresseur, l'azathioprine est le premier immunosuppresseur mis au point, il n'est plus guère utilisé dans la prévention du rejet de greffe.
- Traitement des maladies auto-immunes : lupus, polyarthrite rhumatoïde, thrombopénie idiopathique, anémie hémolytique auto-immune, maladie de Crohn, dermatomyosite, insuffisance rénale ou hépatique. [23]

III.1.5. Effets indésirables :

- Myélosuppression donc leucopénie, thrombocytopénie, anémie,
- Infections (bactérienne, virale),
- Hépatotoxicité,
- Alopécie,
- Pancréatite,
- Troubles gastro-intestinaux donc à prendre pendant les repas,
- Augmentation du développement de cancer, lymphomes, néoplasie [24]

Chapitre IV : Etude in Silico : la modélisation moléculaire « Docking »

IV. La bioinformatique

IV.1-Introduction :

Au cours de la dernière décennie, la bioinformatique est devenue une partie intégrante de la recherche et du développement dans les sciences biomédicales. La bioinformatique a maintenant un rôle essentiel à la fois dans le déchiffrement des données génomiques, transcriptomiques et protéomiques générées par les technologies expérimentales à haut débit et dans l'organisation de l'information recueillie à partir de la biologie traditionnelle. Les méthodes d'analyse de gènes ou de protéines individuelles ont été élaborées et développées, pour analyser un grand nombre de gènes ou de protéines simultanément, comme dans l'identification de grappes de gènes apparentés et de réseaux de protéines qui interagissent. Avec les séquences génomiques complètes pour un nombre croissant d'organismes en main, la bioinformatique commence à fournir à la fois des bases conceptuelles et des méthodes pratiques pour détecter les comportements fonctionnels systémiques de la cellule et de l'organisme. [25]

IV-2- Définition:

La bioinformatique a émergé dans les années 1980, l'analyse et l'interprétation des informations biologiques contenues soit :

- Dans le génome (séquences ADN, ARN) => la génomique
- Dans le protéome => la protéomique
- C'est une discipline récente, multi-disciplinaire qui regroupe l'ensemble des utilisations de l'informatique pour manipuler, stocker et analyser les données biologiques. [26]

Des approches basées sur des calculs théoriques et de chimie quantique permettent de prédire le mode d'interaction d'un ligand avec un récepteur. Elles fournissent un moyen d'étudier les interactions au niveau moléculaire (voire atomique) et sont, de ce fait, une indication à l'activité biologique de nouvelles molécules ne tenant compte que des critères structuraux.

Ces approches peuvent être classées en deux catégories :

- De novo design.
- Le Docking moléculaire.

Le Docking moléculaire, vise à prédire la structure d'un complexe constitué d'un ligand et d'un récepteur (généralement protéique), pour prévoir les modes d'interactions possibles pouvant mener à une valeur d'enthalpie libre de formation ΔG qui traduit l'inhibition de la cible étudiée. Les anciens formalismes de Docking moléculaire, traitent la protéine ainsi que le ligand comme des corps rigides. A présent, les nouveaux codes prennent en compte la flexibilité du ligand et de la cible.

La modélisation moléculaire a pratiquement envahi la plus part des sciences fondamentale, les sciences appliquées et le domaine de l'engineering. Parmi le champ d'application de cette nouvelle discipline, le design et la conception de nouvelles molécules thérapeutiques. Un tel domaine de recherche nécessite un arsenal en matière de connaissance dans différents domaines : biologie, pharmacie, médecine, chimie et biotechnologie d'une part et nécessite aussi des outils informatiques assez puissant d'autre part.

IV.3. Modélisation moléculaire :

La recherche en biologie ne peut, actuellement , se passer des outils bioinformatiques pour traiter le flot de données produites et optimiser ses avancées. la modélisation moléculaire ,une de ces méthodes , exploite des lois de la chimie , de la physique et de la biologie afin de déterminer la structure et les propriétés d'entités chimiques et biochimique (protéines , acides nucléiques, complexes moléculaires ,solides , cristaux etc.).

Le but de cette approche est la compréhension ou la prédiction des phénomènes auxquels s'intéressent ces disciplines. [27]

La modélisation moléculaire permet de représenter le comportement des systèmes complexes en stimulant, à l'aide de fonctions mathématiques appropriées, les grandeurs réelles. [28]

Grâce à l'évolution de l'informatique, les méthodes pour modéliser le comportement d'une molécule et de son environnement se sont développées.

Utilisées dans le domaine du docking, ces applications permettent l'étude, au niveau atomique des interactions entre deux structures moléculaires. Elles visent la prédiction de l'agencement le plus probable de ces dernières en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations qui favoriseraient la formation du complexe le plus stables. [29,30]

IV.3.1. Docking Moléculaire (warren et al ,2006) :

Identifier les interactions entre molécules, impliquées dans la plupart des processus biologiques, représente dans la conception de composés pouvant être utilisés en thérapie. Ces s'obtiennent directement par le docking (amarrage ou ancrage).

Dans la majorité des cas, ce processus consiste à faire interagir deux molécules :

- Un ligand, petite molécule organique flexible d'origine exogène ou endogène.
- un récepteur, généralement, une macromoléculaire de nature protéique possédant un ou plusieurs sites actifs spécifiques avec une structure tridimensionnelle connue.

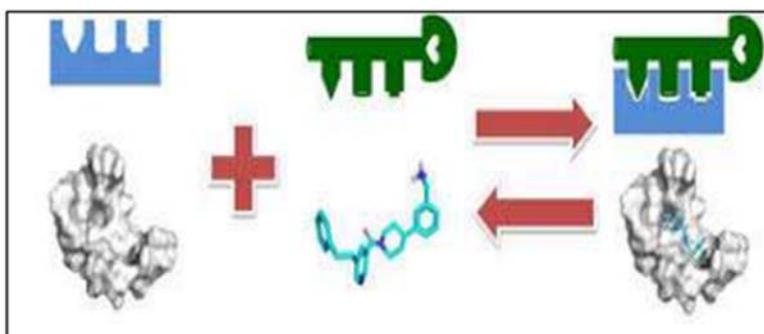


Figure 05 : Représentation schématique du docking moléculaire. ^[31]

La plupart des programmes existants, essayent de déterminer la géométrie du complexe macromolécule-ligand. L'algorithme de base tient essentiellement en trois points :

- Définir une géométrie du complexe.
- Evaluer la qualité de cette géométrie.
- Recommencer en classant les géométries.

IV.3.2. Les interactions protéine-ligands :

Le docking in silico rend possible l'identification des interactions qui existent dans la structure constituée à partir de la protéine et du ligand. La cohésion du complexe ainsi formé est assurée grâce à plusieurs types de liaisons faibles :

- **Les interactions de Van Der Walls :** résultent de l'interaction des nuages électroniques de deux atomes adjacents conduisant à la présence d'une force

attractive pour des distances de 3-4 Å. Les interactions de Van der Waals sont généralement faibles. Leur importance provient du nombre cumulé de liaisons créées.

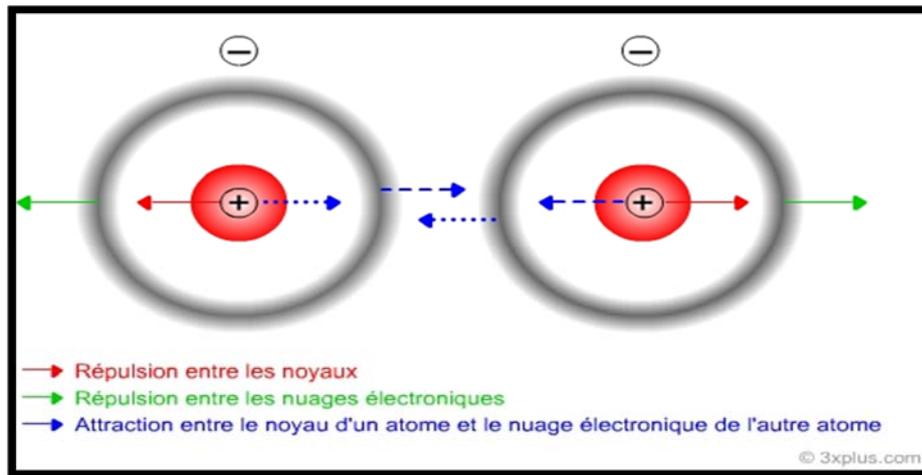


Figure 06 : Les interactions de Van Der Walls. ^[32]

- **Les liaisons hydrogène**, peu nombreuses, agissent à très courte distance (2,2 à 4 Å) et interviennent lorsqu'un atome d'hydrogène lié à un atome électronégatif (le donneur) est attiré par un autre atome électronégatif (l'accepteur).



Figure 07 : liaison hydrogène.

- **Les interactions hydrophobes** : Il s'agit d'interactions entre molécules dépourvues de groupes chargés ou d'atomes capables de former des liaisons hydrogènes. L'effet hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence.

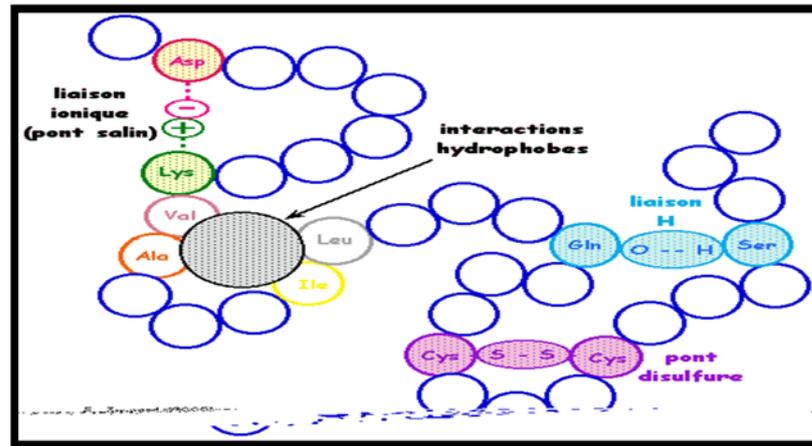


Figure 08 : Les interactions hydrophobes.

- **Les interactions électrostatiques** : sont des liaisons ioniques faibles résultant de l'interaction entre dipôles de charges opposées et conduisant à la création d'une force attractive.

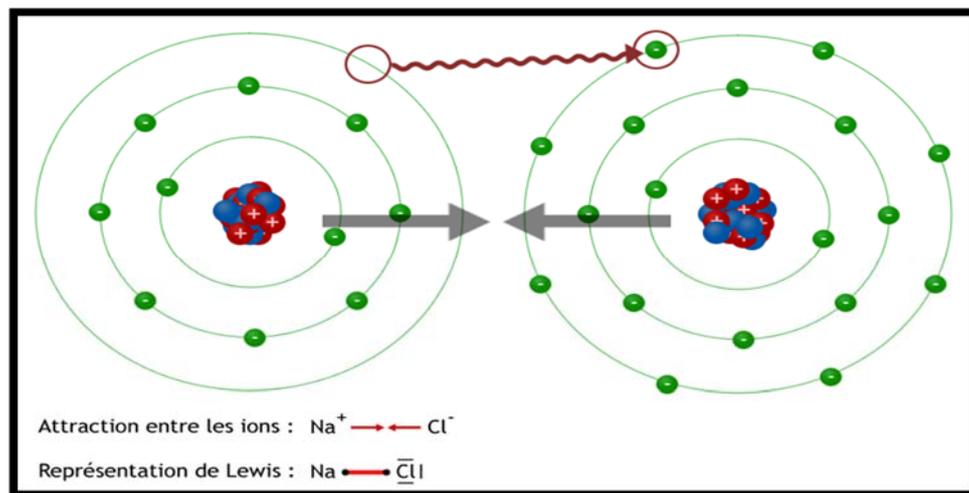


Figure 09 : Les interactions électrostatiques.

IV.3.3. Les étapes du docking moléculaire :

Tous les programmes de docking se décomposent en deux étapes :

- Etape 1: Searching
- Etape 2: Scoring

➤ Le searching

Il consiste à trouver les conformations du ligand apte à établir des interactions les plus probables avec le récepteur par un algorithme de recherche.

➤ Le scoring

Il représente l'évaluation des différentes conformations par des fonctions mathématiques appelées fonctions de score. Elles se basent sur un calcul rapide de l'énergie libre du système formé par la protéine et le ligand. Avec le code ArgusLab^[33], les conformations sont classées selon leurs énergies croissantes par « Ascore » formulée à partir de l'équation suivante :

$$\Delta G_{\text{Liaison}} = \Delta G_{\text{vdw}} + \Delta G_{\text{hydrophobique}} + \Delta G_{\text{Liaison-H}} + \Delta G_{\text{déformation}} + \Delta G_0 \text{ où}$$

ΔG_{vdw} -----interactions de Van Der Walls entre le ligand et la protéine.

$\Delta G_{\text{hydrophobique}}$ ----interactions hydrophobes.

$\Delta G_{\text{Liaison-H}}$ -----liaisons hydrogène.

$\Delta G_{\text{déformation}}$ -----pénalités de déformation.

ΔG_0 ----- constante qui exprime la perte d'entropie due à la déformation du complexe.

La procédure AUTODOCK se décompose en cinq étapes :

- ✓ Préparation des fichiers de coordonnées atomiques du ligand et de la macromolécule ;
- ✓ Définition des pivots flexibles du ligand ;
- ✓ Calcul des grilles de potentiel d'interaction du récepteur ;
- ✓ Recherche des solutions d'amarrage.
- ✓ Analyse des résultats

IV.3.4. La Protein Data Bank « PDB » :

La Protein Data Bank (PDB) est un répertoire mondial de dépôt d'informations sur la structure tridimensionnelle des protéines et des acides nucléiques.^[34]

La PDB est gratuitement accessible par Internet et contient un grand nombre d'informations complémentaires comme la séquence ou la phylogénie des macromolécules.

Le format PDB Contient:

- ✓ Les coordonnées atomiques,
- ✓ Certaines spécificités chimiques et biochimiques,
- ✓ Des détails expérimentaux,
- ✓ Des informations structurales comme la reconnaissance de structures secondaires,
- ✓ Les liaisons hydrogènes,
- ✓ L'assemblage biologique et les sites actifs.^[35]

Matériels et Méthodes

Ce travail a pour objectif l'étude le lien de causalité entre le médicament notamment l'Azathioprine et l'atteinte hépatique. Cette étude a été réalisée durant la période février 2017 à septembre 2017 grâce à plusieurs logiciels et serveurs bioinformatique, se basant sur les informations disponibles sur les plateformes des différentes bases de données.

1. Matériels

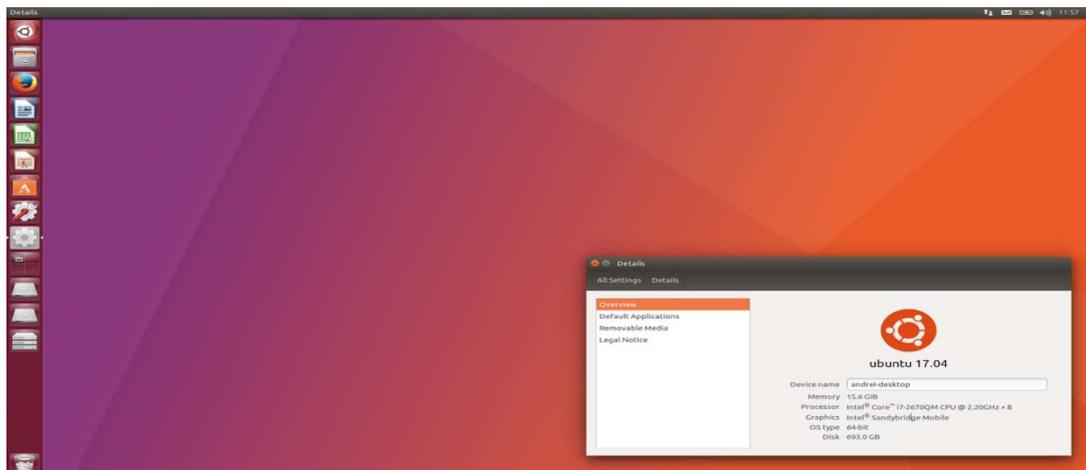
Pour réaliser ce travail deux études ont été réalisées :

Une étude d'imputabilité qui basé sur imputabilité intrinsèque et imputabilité extrinsèque collectent les informations utiles de pharmacovigilance et autre in Silico étudie les interactions entre ligands et la cible a été accomplie grâce à des techniques de modélisation via la stimulation, notamment le docking moléculaire.

Les outils bioinformatiques utilisés concernant les différentes plateformes de bases de données contenant les informations nécessaires à notre études et à savoir

- ✓ Linux ubuntu 17.04
- ✓ MGLTools 1.5.6
- ✓ Autodock Tools 1.5.6
- ✓ Autodock Vina 1.5.6
- ✓ Pymol 1.5.6
- ✓ Protéine-ligand interactions profiler (serveur)
- ✓ Molinspiration (serveur)
- ✓ Code Arguslab
- ✓ Drug Bank
- ✓ Protein Data Dank (PDB)

- ✓ **Ubuntu** est un système d'exploitation utilisé par des millions de pc à travers le monde et avec une interface simple, intuitive, et sécurisée.



- ✓ **MGLTools** est un logiciel développé au MolecularGraphicsLaboratory (MGL) de The ScrippsResearch Institute pour la visualisation et l'analyse des structures moléculaires.

- ✓ **AutoDockTools(ADT)** est un module du logiciel MGLTools et l'interface graphique gratuite en utiliser pour configurer, exécuter et analyser des stations d'ancrage AutoDock et des cartes d'affinité isocontourAutoGrid, ainsi que pour calculer des surfaces moléculaires ,afficher des rubans de structures secondaires , voir les molécules en 3D, attribuer des charges atomiques partielles au ligand et à la macromolécule, calculer des liaisons hydrogènes, préparation des entrées(fichiers PDBQT) et faire beaucoup plus de choses utiles.

site map accessibility

search

home downloads resources faqs & help forum contact

you are here: home → resources → autodocktools log in



THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE

navigation

- Home
- Downloads
- Resources
- AutoDock List
- Bugs
- Science
- Parameters
- AutoDockTools
- Raccoon
- Raccoon2
- AutoLigand
- Tools
- Databases
- Contribute

ADT / AutoDockTools

by [mattie](#) — last modified 2007-05-18 07:39

AutoDockTools, or ADT, is the free GUI for AutoDock developed by the same laboratory that develops AutoDock. You can use it to set up, run and analyze AutoDock dockings and Isocontour AutoGrid affinity maps, as well as compute molecular surfaces, display secondary structure ribbons, compute hydrogen-bonds, and do many more useful things.

AutoDockTools, or ADT, is the ultimate GUI to set up, launch and analyze AutoDockruns. With ADT, you can:

- View molecules in 3D, rotate & scale in real time.
- Add all hydrogens or just non-polar hydrogens.
- Assign partial atomic charges to the ligand and the macromolecule (Gasteiger or Kollman United Atom charges).
- Merge non-polar hydrogens and their charges with their parent carbon atom.
- Set up rotatable bonds in the ligand using a graphical version of AutoTors.
- Set up the AutoGrid Parameter File (GPF) using a visual representation of the grid box, and slider-based widgets.
- Set up the AutoDock Parameter File (DPF) using forms.
- Launch AutoGrid and AutoDock.
- Read in the results of an AutoDock job and graphically display them.
- View Isocontoured AutoGrid affinity maps.
- And much, much more...

How to Download AutoDockTools:

1. After you have clicked on this [AutoDockTools](#) link, you will be taken to our lab's "MGLTools Web Portal" downloads page.
2. Download the latest version of MGLTools: If you are running on Linux, Mac OS X, SGI, or Windows, we recommend you download the Binary distribution.
3. Follow the instruction provide on the website to install AutoDockTools.

news

- AutoDock4.2.6
2014-08-04
- AutoDock4.2.5.1
2013-01-03
- AutoDock Vina now has an FAQ
2011-02-18
- AutoDock Vina is now Open Source
2010-04-20
- Tutorial section has been updated
2010-02-25
- [More news...](#)

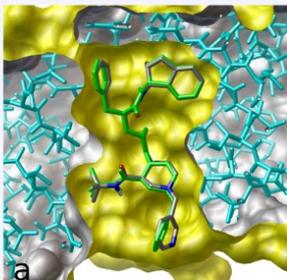
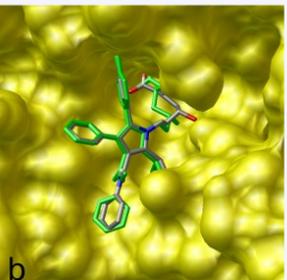
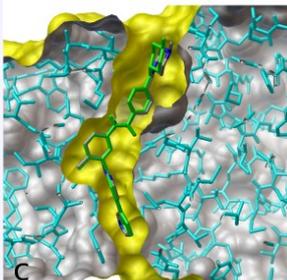
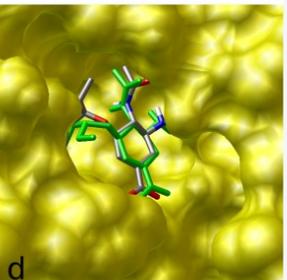
September 2017

Sun	Mon	Tue	Wed	Thu	Fri	Sat
						1 2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23

- ✓ **AutoDock Vina** est un programme open-source pour l'amarrage moléculaire qui améliore considérablement la précision moyenne des prédictions de mode liaison et optimisation globale stochastique de la fonction, le calcul des énergies atomiques.

vina.scripps.edu | Rechercher

Home Features Download Tutorial FAQ Manual Questions?

AutoDock Vina

AutoDock Vina is an open-source program for doing [molecular docking](#). It was designed and implemented by [Dr. Oleg Trott](#) in the Molecular Graphics Lab at The Scripps Research Institute.

The image on the left illustrates the results of flexible docking (green) superimposed on the crystal structures of (a) indinavir, (b) atorvastatin, (c) imatinib, and (d) oseltamivir bound to their respective targets.

- ✓ **Molinspiration** est un outil supportant la manipulation et le traitement des molécules, y compris la conversion SMILES et SDF, la normalisation des atomes, le calcul des divers propriétés chimique-physique moléculaires.

molinspiration
cheminformatics

Molinspiration Product and Services
Calculation of Molecular Properties and Prediction of Bioactivity
Galaxy 3D Structure Generator
Molecular Database - Substructure and Similarity Search
Molinspiration Publications
Molinspiration FAQ
JME Molecular Editor
About Molinspiration

Molinspiration Cheminformatics Software

Molinspiration offers **broad range of cheminformatics software tools** supporting molecule manipulation and processing, including SMILES and SDF conversion, normalization of molecules, generation of tautomers, molecule fragmentation, calculation of various molecular properties needed in QSAR, molecular modelling and drug design, high quality molecule depiction, molecular database tools supporting substructure and similarity searches. Our products support also fragment-based virtual screening, bioactivity prediction and data visualization. Molinspiration tools are written in Java, therefore can be used practically on any computer platform.

Free Web Tools for Cheminformatics Community

molinspiration

Calculation of Molecular Properties

molinspiration

Molinspiration supports internet chemistry community by offering **free on-line services** for calculation of important molecular properties (logP, polar surface area, number of hydrogen bond donors and acceptors and others), as well as prediction of bioactivity score for the most important drug targets (GPCR ligands, kinase inhibitors, ion channel modulators, nuclear receptors). **Number of molecules processed per month exceeds 80,000!**

More than 2800 Citations in Scientific Papers!

Molinspiration software is used by hundreds of cheminformatics experts in industry and academia to produce high-quality scientific results. According to the Google Scholar our tools are more than 2000 times cited! Check the (incomplete) [list of publications](#) produced with help of our software.

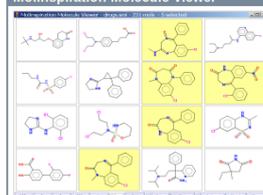
Cheminformatics on the Web

Molinspiration now also on Touch Devices!



Molinspiration interactive web services are available from now not only on desktop computers, but also on touch devices including iPhone, iPad and Android phones and tablets. Molecule structure input to our [property calculation](#) and [bioactivity prediction services](#) is powered by the [JSMF molecule editor](#) written in JavaScript. Also our [Galaxy 3D molecule visualizer](#) that allows interactive display of molecules in various modes and visualization of surface molecule lipophilicity potential and polar surface area is written in JavaScript.

Molinspiration Molecule Viewer

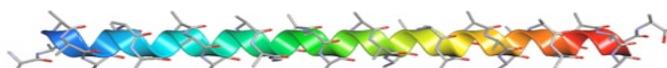


Molinspiration Molecule Viewer allows visualization of collection of molecules encoded as SMILES or SDF. SMILES is automatically transformed into molecule 2D representation by our [depiction engine](#). Display of associated data, selection of molecules, built-in substructure search and export of selected molecules is supported. Viewer is written in Java, therefore is platform independent and may be used on any computer where the Java runtime is installed. **Ask for free evaluation now!**

- ✓ **ArgusLab** est un programme se base sur une description géométrique du système protéine-ligand. Le ligand flexible va subir plusieurs translations suivies de rotations pour trouver sa position optimale dans le site actif de la cible qui est considéré rigide.

Welcome [ArgusLab](#) [ArgusLab for iPad](#) [Publications](#) [Music & Ancestors](#) [Critters](#)
[Tree Frogs](#) [Peetie Pics](#) [Bearded Dragon](#) [Warhammer](#)

ArgusLab

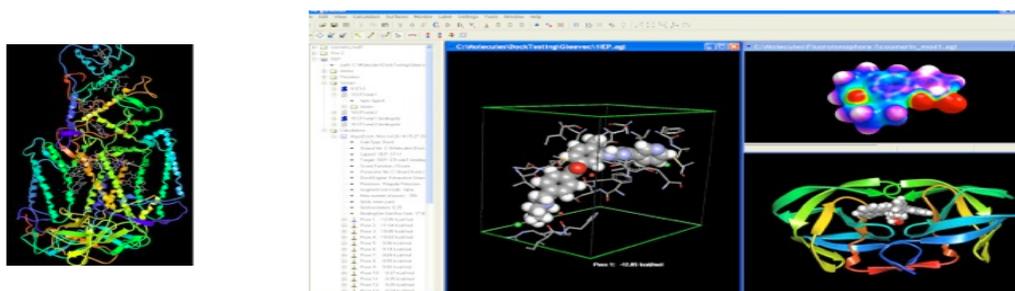
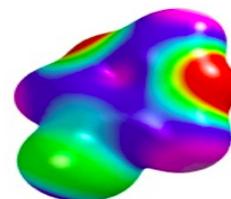


ArgusLab is a molecular modeling, graphics, and drug design program for Windows operating systems. It's getting a little dated by now, but remains surprisingly popular. To date, there are > 20,000 downloads.

ArgusLab is freely licensed. You don't need to sign anything. You can use as many copies as you need if you are teaching a class where your students might benefit from using ArgusLab. You are not allowed to redistribute ArgusLab from other websites or sources. However, you may link to this website from your own websites if you like.

A low-key effort is currently underway to port ArgusLab to the iPad. In addition, I've done some work with the Qt cross-platform development environment in an effort to support Mac, PC, and Linux....no promises! :)

[Click here to download ArgusLab](#)



- ✓ **DrugBank** est une vaste base de données publique et gratuite, concernant la bioinformatique et la chimioinformatique contenant des informations sur les médicaments et les cibles médicamenteuses

DRUGBANK

Browse Search Downloads About Help Contact Us

DrugBank Release Version 5.0.8

Release notes Help All Releases

COMPLETE DATABASE STRUCTURES EXTERNAL LINKS PROTEIN IDENTIFIERS TARGET SEQUENCES DRUG SEQUENCES OPEN DATA

These DrugBank datasets are released under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](#). They can be used freely in your non-commercial application or project.

To access this data, you need to create a free account.

[Sign Up](#)

Already have an account? [Login](#)

Interested in using DrugBank in a commercial product or application?

If you are interested in using DrugBank data in a commercial product or application, please contact us for more information on DrugBank+.

[Learn More about DrugBank+](#)

RELEASED ON VERSION SIZE COMMAND DOWNLOAD (XML) SCHEMA DEFINITION

- ✓ **Protein-Ligand Interaction Profiler (plip)** analyser les interactions protéine-ligand non-covalentes dans les structures 3D dans PDB.

Protein-Ligand Interaction Profiler

TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN

Welcome to Protein-Ligand Interaction Profiler (PLIP)!

Easy and fast identification of noncovalent interactions between proteins and their ligands.

PDB file: Aucun fichier sélectionné. max. 10 MB

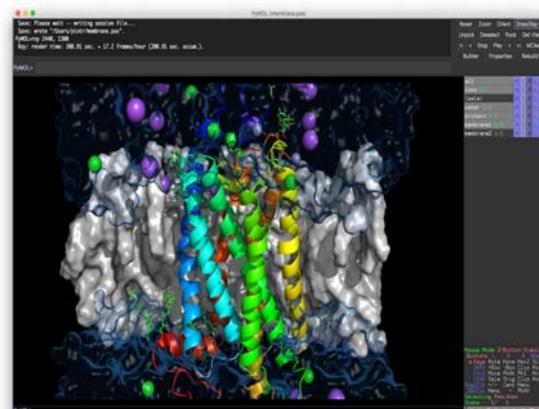
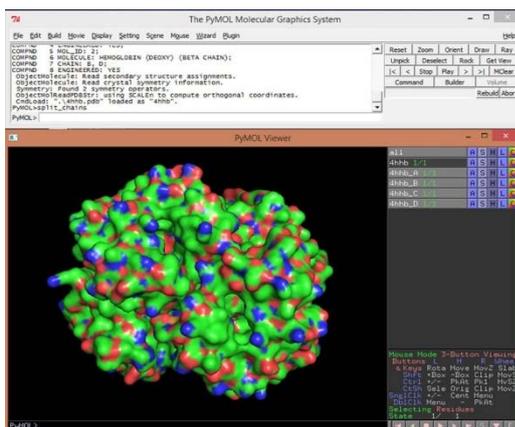
PDB ID:

[Show advanced options](#)

TUTORIAL | HELP | ABOUT | DOWNLOAD

- ✓ **Protein Data Bank (PDB)** est un répertoire mondial de dépôt d'informations sur la structure 3D elle est gratuitement accessible par internet.

- ✓ **Pymol** est l'un des programmes les plus populaires pour la visualisation moléculaire et utilisé pour visualiser les résultats d'amarrage et convertir différents formats de fichiers de structures.



2. Méthodes

Etant que bioinformaticiens, nous avons utilisées le docking moléculaire (warren et al ,2006) qui sert à identifier les interactions entre molécules dans la partie suivante nous expliquerons comment appréhender les méthodes de conception de ligands en vue d'obtenir des agents thérapeutiques et/ou diagnostiques et d'autre part établira un lien de causalité entre le médicament (Azathioprine) et l'effet indésirable (Imputabilité).

Résultats et Discussion

Etude de cas : l'imputabilité d'un cas reçu au CNPM concernant l'Azathioprine :

Patient RN âgé de 22 ans ; maçons de profession sans ATCD particuliers suivi pour maladie de Behçet avec atteinte vasculaire dans sa formes sévère ayant nécessité la prise de l'Azathioprine (Imurel®) un immunosuppresseur à dose progressive jusqu'à 3 Cp/j (150 mg/j) et mis sous un traitement anticoagulant et corticothérapie (prednisoneCp 50 mg).

Le patient a présenté au bout de 15 j de traitement à 150 mg/j ; une perturbation du bilan hépatique (syndrome de cytolyse et cholestase), l'obligeant à arrêter le traitement jusqu'à normalisation du bilan hépatique puis le relais par endoxan®(cyclophosphamide) durant 6 mois.

Etant donné,le risque d'azoospermie par endoxan®chez ce jeune patient,la réintroduction de l'azathioprine serait-elle possible chez ce patient ?

Discussions et résultats :

La maladie de Behçetest une vascularite chronique, récidivante et multi systémique caractérisée par des lésions mucco-cutanées, des manifestations articulaires, vasculaires, oculaires et du système nerveux central.

L'Hépatite est une inflammation du foie,elle peut avoir plusieurs origines, elle peut être aussi d'origine médicamenteuse.

Le patient a pris Azathioprine dans 15 jours avec dose progressive, ila présenté des perturbations du bilan hépatique, syndrome cytolyse(maladie du foie un surdosage, une allergie à un traitement particulier vont entrainer une hépatite cytolytique) et syndrome cholestase(une diminution ou disparition de l'écoulement de la bile(liquide visqueux de couleur jaune ,verdâtre produit par foie qui aide à la digestion aliments) générant augmentation subite du volume de bile dans les vois biliaires)

Obligee patient à arrêter le traitement immédiatement avec suivi du bilan hépatique jusqu'à la normalisation le patient a été mis sous l'endoxan® (cyclophosphamide) pendant 6 mois.

Imputabilité

Nous avons établi un lien de causalité entre le médicament et l'effet indésirable « l'hépatite »

Azathioprine :

1/ Imputabilité intrinsèque :

Critères chronologiques :

ADMINISTRATION DU MEDICAMENT	Délai d'apparition de l'effet					
	<i>Très suggestif</i>			<i>Compatible</i>		<i>Incompatible</i>
Evolution à l'arrêt du médicament	Ré-administration du médicament					
	R(+)	R(0)	R(-)	R(+)	R(0)	R(-)
« suggestive » : régression de l'événement coïncidant bien avec cet arrêt	C3	C3	C1	C3	C2	C1
« non concluante » Régression paraissant au contraire plutôt spontanée ou provoquée par un traitement symptomatique non spécifique réputé efficace sur ces troubles, ou évolution inconnue, ou recul insuffisant ou lésions de type irréversibles (ou médicament non arrêté)	C3	C2	C1	C3	C1	C1
« non suggestive » : absence de régression d'un événement de type réversible (ou régression complète malgré la poursuite du médicament)	C1	C1	C1	C1	C1	C1

- ✓ Le Délai d'apparition de l'effet indésirable et la prise de médicament est de 15 jours : délaicompatible.
- ✓ La Ré-administration du médicament n'a pas été faite donc R(0).
- ✓ Evolution à l'arrêt du médicament est suggestive : régression de l'évènement coïncidant bien avec l'arrêt du médicament.

La combinaison de ces trois critères permet d'obtenir un score chronologique de résultat **C2** : **Plausible.**

Critères sémiologique :

SEMILOGIE CLINIQUE OU PARACLINIQUE	Evocatrice* du rôle de ce médicament ET/OU facteur favorisant bien validé du couple effet indésirable/ médicament			Autres éventualités sémiologiques		
AUTRE(S) CAUSE(S) NON MEDICAMENTEUSE(S)	Examen complémentaire spécifique fiable (L)					
	L(+)	L(0)	L(-)	L(+)	L(0)	L(-)
Absente (après bilan approprié)	S3	S3	S1	S3	S2	S1
Possible (non recherchée ou présente)	S3	S2	S1	S3	S1	S1

- ✓ Sémiologie clinique évocatrice du rôle de ce médicament.
- ✓ Ils n'ont pas fait d'examen complémentaire spécifique donc L(0).
- ✓ Autre(s) cause(s) non médicamenteuses (s) est possible (non recherchée ou présente) : ils n'ont pas recherché les causes d'hépatite médicamenteuse par des examens biologiques courants.

Le score sémiologique **S2 : plausible**.

D'après le tableau 3 mentionné dans la partie théorique le croisement des scores chronologiques (C) et sémiologique (S) permet de déterminer le score d'imputabilité intrinsèque « I » qui est :

I2 : imputabilité plausible.

2/ Imputabilité extrinsèque :

B3 : Effet notoire du médicament, il est bien décrit sur Martindale –The complete Drug Reference- thirty-seventh 37 edition.

Conclusion :

L'Azathioprine a probablement été la cause de l'hépatite. Le CNPM ne recommande pas la réintroduction de ce médicament, ce qui risquerait une majoration de l'atteinte hépatique.

Dans la première partie de ce manuscrit et de ce travail, nous avons étudié l'imputabilité des effets indésirables (voir toxiques) du médicament azathioprine. Le mécanisme d'action de ce médicament est complexe. Les principales actions sont l'inhibition de la synthèse de novo des purines et la perturbation de l'interconversion de ces bases bloquant la synthèse d'ADN.

Les différents métabolites de l'azathioprine qui sont très actifs tels que l'acide thioinosinique et le nucléotide dérivés de la 6-thioguanine.

L'azathioprine a un métabolisme essentiellement hépatique. Il est transformé en 6-MP. Ce dernier comporte 3 voies métaboliques. L'hypoxanthine guanine phosphoribosyl transférase (HGPRT) la transforme en 6-TGs. Ces derniers sont responsables d'une part de l'effet immunosupresseur et d'autre part d'une toxicité proportionnelle à leurs concentrations.

Par contre la xantine oxydase (XO) inactive la 6-MP en acide thiourique. La thiopurinéméthyltransférase (TPMT) transforme la 6-MP en 6-méthylmercaptapurine (6-MMP) par méthylation de la fonction thiol.

C'est dans ce contexte, que nous sommes intéressés à étudier les interactions entre l'enzyme, la thiopurinéméthyltransférase (TPMT), dont le code pdb est 2BZG d'une part avec des molécules de la famille des thiopurines. Ces molécules sont l'azathioprine (AZA), la 6-mercaptapurine (6-MP), la 6-méthylmercaptapurine (6-MMP) et la 6-thioguanine (6-TG).

Comme le métabolisme de la 6-MP dans la cellule engendre les molécules 6-TGs, ces derniers altèrent l'ADN. De ce fait nous nous sommes intéressés à l'étude des interactions entre un dodecamer d'ADN (code pdb 1BNA) et la molécule 6-TG d'autre part.

Le choix de ces molécules a été justifié dans la partie précédente.

Il est à noter que les effets indésirables du médicament Azathioprine sont connus, quoi que la manifestation de la toxicité hépatique ne soit pas encore connue et bien élucidée. A notre niveau nous ne pouvons pas expliquer ce constat par modélisation moléculaire. Cependant cette partie est consacrée à l'application du docking moléculaire afin de modéliser les différentes interactions entre ces molécules et les cibles choisies.

I-Docking moléculaire et étude des interactions

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à appliquer la technique du docking moléculaire afin de prédire le mode d'inclusion, le mode d'interaction de chacune des molécules au sein des deux macrocycles d'une part et évaluer leur énergies d'interactions (scoring) d'une autre.

Pour cela, nous avons utilisé le logiciel de docking moléculaire AutoDock Vina.

I-1-Préparation des protéines

Avec le logiciel AutoDock Tools de la compagnie MGL Tools l'entrée pdb des macromolécules ont été traitées et préparée.

D'abord les molécules d'eau, ont été retirées des deux macromolécules (**2BZG**) et (**1BNA**).

Les atomes d'hydrogène ont été rajoutés aux protéines. Les structures sont enregistrées en format *PDBQT*.

Les quatres ligands ont été optimisés avec le code Arguslab en utilisant une méthode semi-empirique AM1. Ces ligands ont été traités par le logiciel Autodock Tools et enregistrés sous le même format *PDBQT*.

Comme seconde étape, une boîte GRID (GRID BOX) a été calculée afin de définir l'espace de recherche conformationnel du ligand docké. A partir de la littérature nous avons retenu les paramètres suivants :

- **2BZG : 48, 48, 64 Å³** et un centre $(x, y, z) = (19.364, 10.487, 12.187)$.
- **1BNA : 32, 34, 32 Å³** et un centre $(x, y, z) = (14.779, 20.976, 8.804)$.

I-2-Résultats obtenues lors de la simulation du docking

Le logiciel AutoDock Vina, nous a permis d'obtenir les énergies de complexation suivantes :

	Azathioprine	6-MP	6-MMP	6-TG
ΔG (kcal/mol)	-6.6	-4.5	-4.8	-5.4

Tableau 4: différent scores obtenus lors du docking moléculaire des quatres molécules avec l'entrée 2BZG.

L'énergie d'interaction entre la 6-thioguanine (6-TG) avec le dodecamère d'ADN est de - 5.8kcal/mol.^[36,37]

D'après l'évaluation des énergies d'interactions (scoring), on remarque que :

- L'azathioprine forme le complexe le plus stable suivie par la 6-TG.
- La légère différence en énergies entre les deux molécules 6-MP et 6-MMP pourrait être expliqué par la faite que la seconde diffère (sur le plan structural) par rapport à la molécule 6-MP par un groupe méthyl. Ce groupement pourrait affecter légèrement la position de cette molécule au niveau du site actif de la protéine.
- L'azathioprine avec son squelette moléculaire le plus grand forme le complexe le plus stable. Ceci pourrait être expliqué par la présence de groupements supplémentaires et par les liaisons rotatables qu'il en possède.

II- Etude des interactions TPMT-ligands :

Dans ce qui s'en suit, **les acides aminés en rouge sont ceux qui sont hydrophobes** (pour désigner les interactions hydrophobiques).

II.1- interaction TPMT-AZA

Le complexe formé avec l'azathioprine et le récepteur 2BZG est gouverné par un réseau de liaisons hydrogènes. Le tableau suivant résume les différentes liaisons hydrogènes obtenues.

Acide aminé	GLU17	GLN17	ARG163	TYR198	GLU203
Distance A°	3.63	3.17	2.37	2.76	3.57
	3.85		2.88		

La figure suivante schématise ces différentes liaisons hydrogènes.

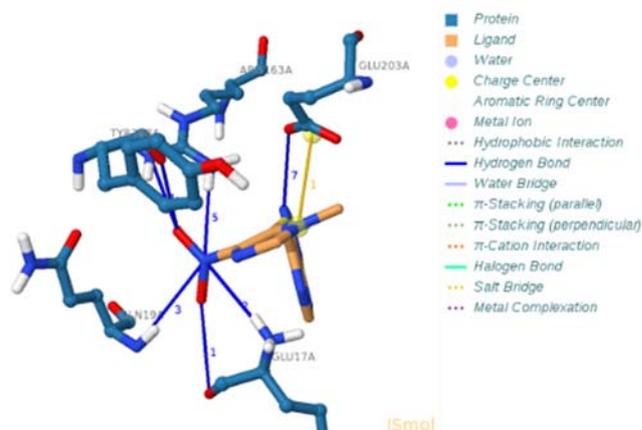


Figure 10 : différentes liaisons hydrogènes entre la 2BZG et l'azathioprine.

Les deux entités moléculaires forment un ensemble d'interactions de type VdW et hydrophobique. Les acides aminés responsables de ces interactions sont : **PRO200**, ARG163, GLN19, GLU17 et LYS20.

La figure suivante schématise ces différentes interactions.

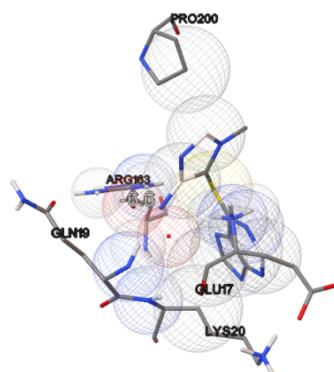


Figure 11 : interactions de Vdw et hydrophobique entre TPMT et AZA.

II-2- Interaction TPMT-6-MP

Concernant la molécule 6-MP, comme c'est déjà vu, elle se positionne au sein du site actif de la 2BZG en formant diverses interactions de type VdW et liaisons hydrogènes.

Les liaisons hydrogènes obtenues sont formées essentiellement avec les acides aminés PRO195 à une distance de 3.49 Å, ARG226 à une distance de 2.38 Å. La TRP230 forme deux liaisons hydrogènes à des distances de 3.38 Å et 3.48 Å.

La figure suivante représente ces différentes liaisons hydrogènes.

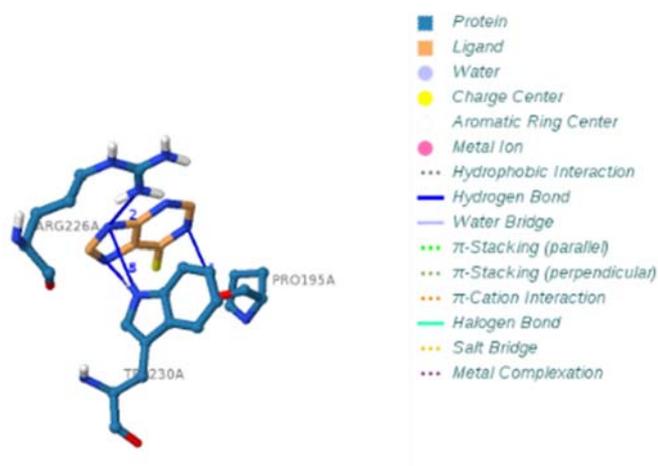


Figure 12 : différentes liaisons hydrogènes entre la 2BZG et la 6-MP.

D'après la figure suivante, nous remarquons que la plus part des acides aminés entourant le ligand 6-MP forment des interactions de type hydrophobiques et VdW. (PHE40, ARG226, TRP230, PRO196, PRO195, SER229).

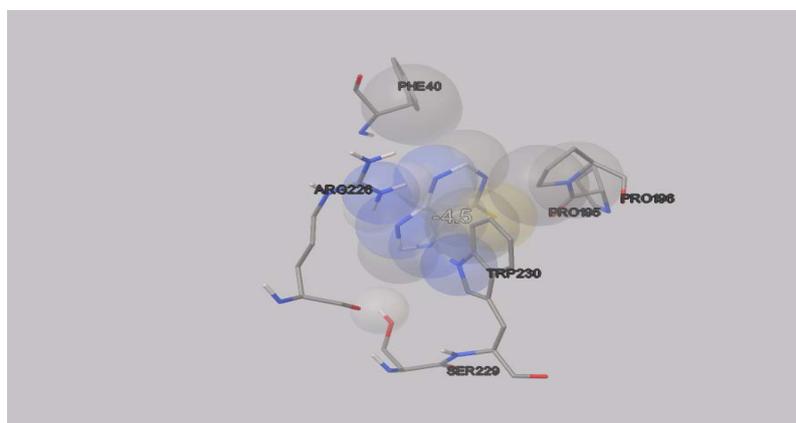


Figure 13 : interactions de VdW et hydrophobiques entre la 6-MP et la TPMT.

II-3- Interaction TPMT-6-MMP :

Il est à noter que cette molécule ne se positionne pas de la même manière que ces deux autres homologues au sein de la cavité enzymatique. Ceci pourrait être expliqué du faite que le groupement méthyle (avec son caractère hydrophobe) influe et donc guide l'orientation et le positionnement de ce ligand.

L'adaptation de cette orientation a pu engendrer la formation de deux liaisons hydrogènes avec l'acide aminé ARG226 à des distances de 3.35 Å et 3.64 Å.

De même, plusieurs interactions de type hydrophobiques et VdW sont manifestées avec l'ensemble des résidus entourant la 6-MMP. (PHE40, ARG226, TRP29, PRO196).

Les figures suivantes représentent les diverses interactions observées.

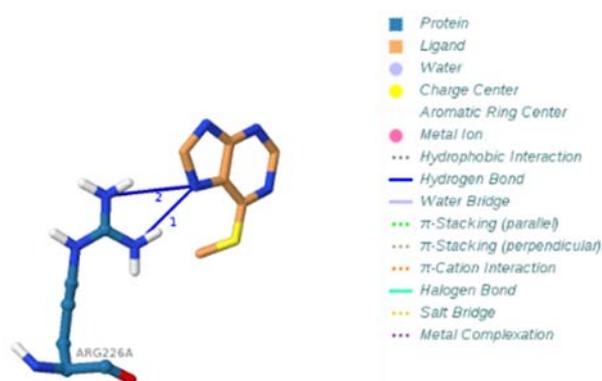


Figure 14 : différentes liaisons hydrogènes entre la 2BZG et la 6-MMP.

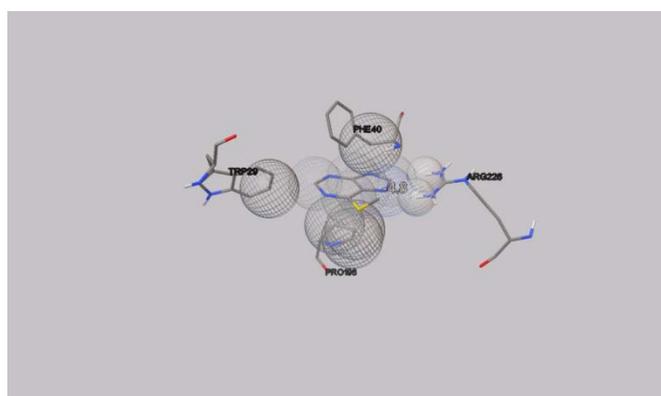


Figure 15 : interactions de VdW et hydrophobiques entre la 2BZG et la 6-MMP.

II-3- Interaction TPMT-6-TG:

Concernant la molécule 6-TG, cette dernière se positionne d'une manière quasi-similaire à la 6-MP. L'acide aminé ARG226 forme deux liaisons hydrogènes à des distances de 3.35Å et 2.36Å. il est à noter que le groupement -NH₂ n'intervient pas à la formation de telles interactions avec le récepteur.

De même, en analysant et comparant les interactions de type VdW et hydrophobiques, nous remarquons que plusieurs acides aminés appartenant à la cavité enzymatique interviennent fortement dans la stabilité de ce complexe. Ceci pourrait expliquer le fait que le complexe formé possède un enthalpie libre de formation le plus élevé par rapport à ces homologues.

Les acides aminés formant ces interactions sont (ARG226, TRP230, PRO196, LEU185, GLY153, ARG152 et PHE40).

Les figures suivantes résument ces différentes interactions observées.

Figure 16 : différentes liaisons hydrogènes entre la 2BZG et la 6-TG.

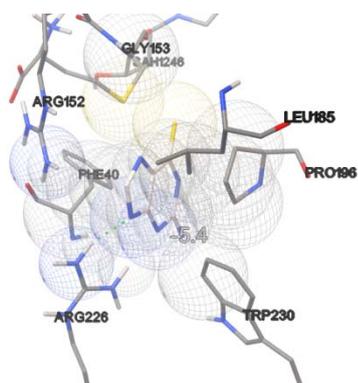
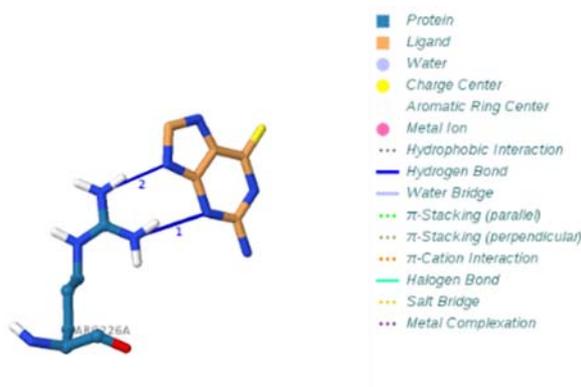


Figure 17 : interactions de VdW et hydrophobiques entre la 2BZG et la 6-TG.

II-4- Interaction ADN-6-TG:

Concernant l'inclusion et le mode d'interaction de la 6-TG au sein du dodecamère d'ADN, nous notons en premier lieu que son affinité est de -5.8 kcal/mol, plus négative que celle avec la TPMT. Cette stabilité n'est pas gouvernée par des liaisons hydrogènes mais essentiellement par un réseau d'interactions vdW comme le montre la figure suivante.

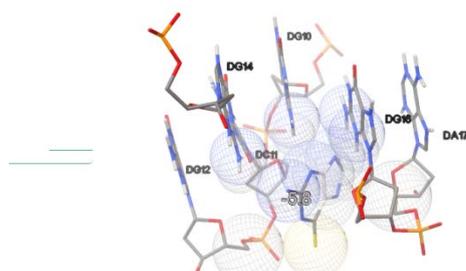


Figure 18 : interactions de VdW entre la 1BNA et la 6-TG.

III- Complémentarité géométrique entre macromolécules et ligands :

Les figures suivantes montrent l'aspect clé-serrure et la complémentarité géométrique entre les deux macromolécules et les ligands choisis.

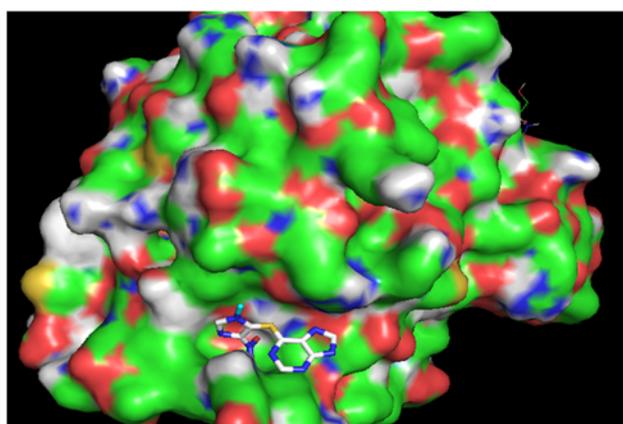


Figure 19 : Complémentarité géométrique
2BZG/AZA

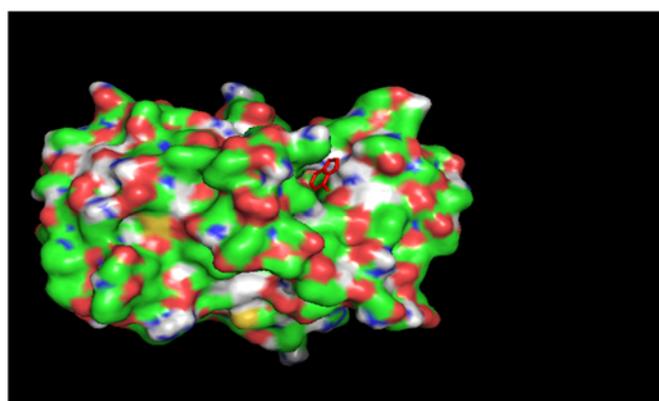


Figure 20 : Complémentarité géométrique
2BZG/6-MP

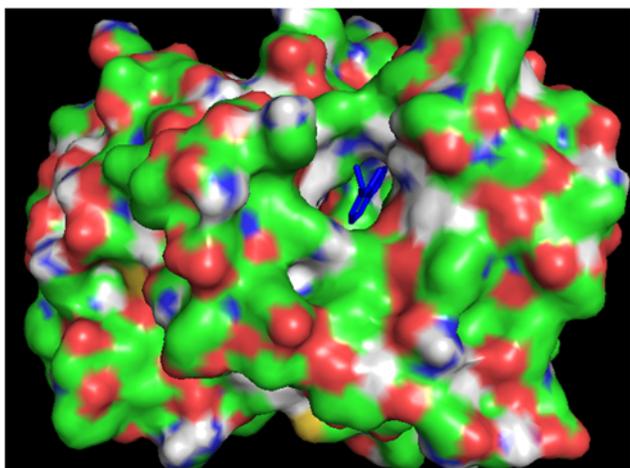


Figure 21 : complémentarité géométrique
2BZG/6-MMP.

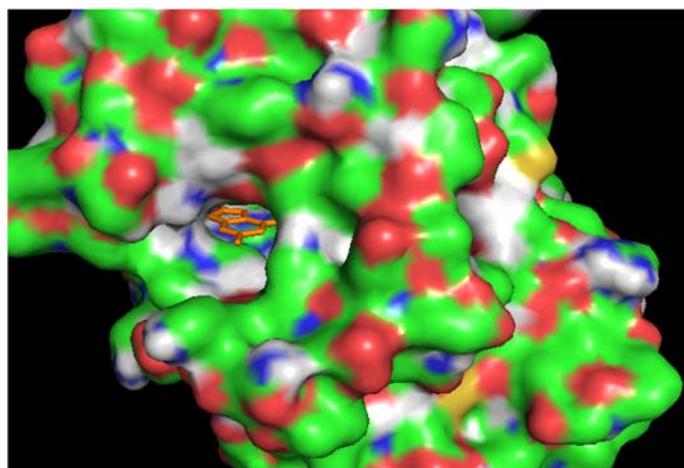


Figure 22 : complémentarité géométrique
2BZG/6-TG.

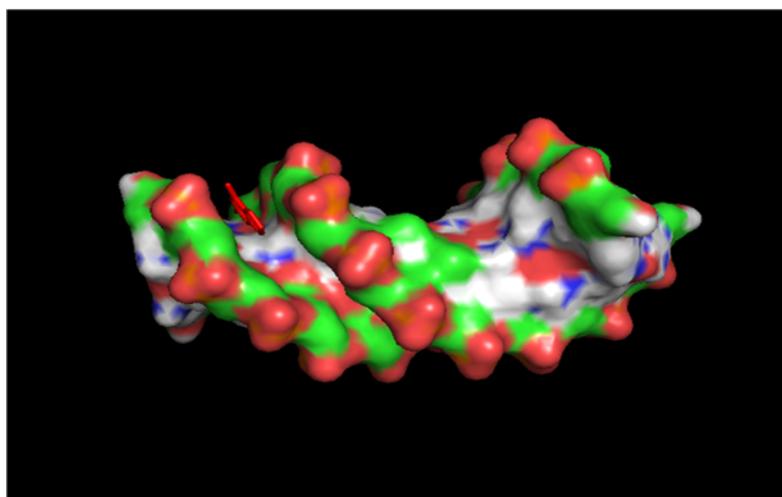


Figure 23 : complémentarité géométrique 1BNA/6-TG.

IV- Règles de Lipinski (Molinspiration)

Est un ensemble de descripteurs moléculaires simples utilisés par Lipinski dans la formulation de sa "Règle 5" [35]. Les états de règle, que la plupart des molécules "drug-like" ont :

- Caractère lipophile (**logP**) ≤ 5 ,
- Poids moléculaire (**MW**) ≤ 500 ,
- Le nombre de liaisons hydrogène accepteurs (**nO,N**) ≤ 10 ,
- Le nombre de donneurs de liaison hydrogène (**nOH,NH**) ≤ 5 .

Les molécules viole plus d'un de ces règles peuvent avoir des problèmes avec la biodisponibilité.

Application des règles de Lipinski sur ces composées :

Dans le but d'enrichir notre étude qui concerne les interactions entre nos ligands thiopuriniques et les deux entrées PDB, nous les avons soumis au serveur *Molinspiration* afin d'appliquer les cinq règles de Lipinski et voir par la suite si nos molécules sont pharmacologiquement prometteuses.

Le tableau suivant résume les différents résultats obtenus :

Molécule	MiLogP	TPSA	N atome	MW	nO N	nO HN H	nviolations	nrotb	volume
Azathioprine	0,50	118.12	19	277.27	9	1	0	3	211.19
6-MP	-0.39	57.37	10	152.18	4	2	0	0	117.56
6-TG	-0.58	83.39	11	167.20	5	4	0	0	128.84
6-MMP	0.54	54.47	11	166.21	4	1	0	1	135.24

Il est remarquable qu'il y a une corrélation entre les énergies d'interaction des molécules et leurs poids moléculaires, et le nombre de liaisons hydrogène accepteurs (nO,N). Cette corrélation est observée aussi avec le volume de chaque molécule.

Ce constat nous permet de prédire, voir synthétiser des molécules de la même famille des thiopurines respectant cette corrélation afin d'améliorer l'activité biologique.

Conclusion :

Les meilleurs ligands ayant le maximum de donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène ont formés les complexes les plus stables avec les macromolécules. Ceci démontre bien l'importance des groupements et des liaisons rotatables qui confèrent une certaine flexibilité de la molécule afin de former d'autres interactions.

Conclusion générale

L'azathioprine est un médicament qui a des effets indésirables sur l'organisme ainsi la pharmacovigilance a pour but la détection et la prévention des effets indésirables.

Le présent mémoire représente une contribution qui rentre dans le cadre de la recherche du lien de causalité entre les effets indésirables et le médicament notamment l'Azathioprine, et la prédiction, la visualisation et l'optimisation de structure 3D de ce médicament ainsi que la compréhension entre les interactions entre protéines.

Pour réaliser ce travail deux études ont été réalisées : une étude d'imputabilité et autre in silico.

Nous avons étudié l'imputabilité intrinsèque dont résulte un score plausible et une imputabilité extrinsèque montrant c'est un effet notoire du médicament, il est bien décrit sur Martindale.

L'étude in silico des interactions entre les ligands et la cible a été accomplie grâce à des techniques de modélisation via la stimulation, notamment le docking moléculaire.

Les outils informatiques utilisés pour le docking sont Linux Ubuntu17.04, le logiciel Autodock Tools 1.5.6, Autodock vina 1.5.6, Pymol 1.5.6, protéine-ligand interactions profiler (serveur), Molinspiration (serveur), PDB, Drug Bank et le code de Arguslab se base sur une description géométrique du système protéine ligand et les règles de lipinski.

A partir de ces dernières, les énergies de liaison ΔG_{bind} ainsi que les liaisons hydrogène, hydrophobique et de van der Waals formées dans les complexes protéine-ligands sont employés pour analyser les interactions entre les différentes thiopurines testées et le site actif SAM de la protéine TPMT. Les informations recueillies, après criblage, permettent de déterminer quels sont les complexes les plus stables.

Confrontées entre elles et classées comme suivants :

- 1- Azathioprine (-6.6 ka/mol)
- 2- 6-Thioguanine avec l'ADN (-5.8)
- 3- 6-Thioguanine (-5.4)

Par contre les deux homologues du 6-MP et 6-MMP, ils ont des légères différences d'énergie par rapport à leur structure chimique.

Toujours du point de vue énergétique, le complexe le plus stable et qui a maximum de donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène c'est l'azathioprine avec plus de flexibilité.

Conclusion

Le lien de causalité entre le médicament notamment l'Azathioprine et l'atteinte hépatique est de type plausible. L'étude in Silico des interactions entre les ligands et la cible ayant été accomplie grâce à des techniques de modélisation via stimulation, notamment le docking moléculaire nous a permis de montrer le lien entre l'Azathioprine avec TPMT et le 6-TG avec L'ADN et TPMT, le 6-MP avec TPMT ainsi que le 6-MMP avec TPMT .

Ces résultats sont l'ébauche d'informations qui pourraient nous orienter vers d'autres études in Vitro et in Silico pour nous permettre de confirmer nos résultats.

Les References Bibliographies

1. OMS. "The importance of pharmacovigilance safety monitoring of medicinal products"; 2002-ISBN 92 4 1590157: QV (38), World Health Organisation.
1. OMS. "Surveillance de la sécurité d'emploi des médicaments. Guide pour la création et le fonctionnement d'un centre de pharmacovigilance. Genève, Organisation mondiale de la Santé", 2000.
2. "le manuel des bonnes pratiques de pharmacovigilance", centre national de pharmacovigilance, B.P.6671-rabat-Maroc.
3. Alyass, A., Turcotte, M., & Meyre, D. (2015). "From big data analysis to personalized medicine for all: challenges and opportunities". BMC medical genomics, 8(1), 33-45).
4. Londin, E. R., & Barash, C. I. (2015). "What is translational bioinformatics?. Applied & Translational Genomics", (6), 1-2.
5. Katara, P. (2013). "Role of bioinformatics and pharmacogenomics in drug discovery and development process. Network Modeling Analysis in Health Informatics and Bioinformatics", 2(4), 225-230.
6. Maude, A., Claudine,P. "Bioinformatique et médecine personnalisée de congrès de Bioinformatique".
6. Allorge D, Loriot MA. La pharmacogénétique ou la promesse d'une médecine personnalisée : variations du métabolisme et du transport des médicaments. Annales de Biologie Clinique. 2004;62:499-511.
- 7."Bonne pratiques de pharmacovigilance", 29 aout 2011, AFSSAP.
Dr P. EFTEKHARI., 2013-" Organisation de la Pharmacovigilance". CRPV Fernand Widal Paris. Dr. TALEB N., la pharmacovigilance.
7. Organisation Mondiale de santé. "Série de rapports technique n 489, Pharmacovigilance internationale : rôle des centres nationaux". Genève, 1972.
8. Rawlins MD, Thompson JW. "Pathogenesis of adverse drug reactions .In: Davies DM,ed. Textbook of adverse drug reactions". Oxford: Oxford University press, 1977:10.
9. Décret exécutif N 98-192 du 8 safar 1919 correspondant au 3 juin 1998, "Journal officiel de la république algérienne" N39.
9. "Bultin d'information de Pharmacovigilance et de Matériovigilance", Ministère de la Santé, ISSN : 1112-6183, vol.7N2.

10. Dangoumau J, Evreux JC, Jouglard J. "Method for determination of undesirable effects of drugs. *Therapie*. 1978; 33: 373-81.
11. Begaud B, Evreux JC, Jouglard J, Lagier G. "Imputation of the unexpected or toxic effects of drugs. Actualization of the method used in France". *Therapie*. 1985; 40: 111-8.
12. Arrêté du 28 avril 2005 relatif aux bonnes pratiques de pharmacovigilance.
13. Thiessard F, Roux E, Miremont-Salame G, Fourrier-Reglat A, Haramburu F, Tubert-Bitter P, et al. "Trends in spontaneous adverse drug reaction reports to the French pharmacovigilance system" (1986-2001). *Drug Saf*. 2005; 28: 731-40.
14. Hitchings GH, Elion GB, Falco EA, Russell PB, Vanderwerff H. "Studies on analogs of purines and pyrimidines". *Ann N Y Acad Sci* 1950; 52(8):1318-35.
15. Elion GB, Vanderwerff H. "Antagonists of nucleic acid derivatives". VI. Purines. *J Biol Chem* 1951; 192:505-18.
16. Elion GB, Callahan SW, Hitchings GH, Rundles RW. "The metabolism of 2-amino-6-[(1-méthyl 1-4 nitro -5- imidazole)] Thiopurine (BW 57 -323) in man". *Cancer chemotherapy Rep*, 1960, 8, 47-52.
17. Elion GB. "The purine path to chemotherapy. *Science*", 1989, 244, 41-47.
18. Milek M, Smid A, Tamm R, Kuzelicki NK, Metspalu A, Mlinaric-Rascan I. Post-"translational stabilization of thiopurine S-methyltransferase by S-adenosyl--methionine reveals regulation of TPMT*1 and *3C allozymes". *Biochem Pharmacol* 2012; 83(7):969-76.
19. "Adapted from *Pharmacogenomics*" 2002; 3:89-98; and *Cancer Res* 2001; 61:5810-5816.
20. Bégnud B ;Evreux J.C ;Jouglard J ;Lagier G. "Imputabilité des effets inattendus ou toxique des médicaments. Actualisation de la méthode utilisée en France". *Thérapie*. 1985, 40, 111-118.
21. Abu-Shakra M, Shoenfeld Y. Azathioprine therapy for patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2001; 10:152-3
22. Dangoumau J ; Evreux J.C ;Jouglard J .- "Méthode d'imputabilité des effets indésirables des médicaments". *Thérapie*. 1978. 33, 373-381.
23. Jones CD, Smart C, Titus A, Blyden G, Dorvil M, Nwadike "N. Thiopurine methyltransferase activity in a Korean population". *Br J Pharmacol, Ther*, 1993, 53, 348-353.
23. Hélène Theophile; 2011- "Etude de la causalité en pharmacovigilance et en pharmaco-Epidémiologie", Bordeaux Segalen.
24. Jean Dubois, Henri Mitterand, Albert Dauzat, 2006- "Dictionnaire étymologique et historique du français", Éditions Larousse, Paris.

24. Heusghem J ;Lechal P, Introduction. In:Heusghem C;Lechal P. "Les effets indésirables des médicaments",PP.21-22.Paris ,masson,1973.
25. Kanehisa M., Bork P., 2003 - "Bioinformatics in the post-sequence era" Nature Genetics 33, 305 – 310.
26. KERMAZELI Y., 2013-L3" Biologie cellulaire moléculaire (Bioinformatique) ", BHK.
27. Leach AR, 2001-"Molecular modelling, Principles and Application", Prenticehall, New jersey.
28. Bastard K, 2005-"Assemblage flexible de macromolécules : la théorie du champ moyen appliquée au remodelage des boucles protéiques". UFR Biologie et Sciences de la Nature.
29. Liotta D, 1988-"Advances in Molecular Modeling", Ed. JAI Press. p1.
30. Toulhoat H, 2007-"Modélisation moléculaire : Bases théoriques des propriétés microscopiques aux propriétés macroscopiques". Techniques de l'ingénieur J. 1-013.
31. Warren GL, Andrews CW, Capelli AM, and al., 2006-"A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions", J. Med. Chem. 49: 5912-5931.
- 32.Heinz L., Klaus M., Albrecht Z., "Atlas de poche de pharmacologie", paris.
33. Akifumi ODA, Ohgi Takahashi,2009-Validation of ArgusLab Efficiencies for Binding Free Energy Calculations. Chem-Bio Informatics Journal,9:52-61.
34. Gao F, Zhang CT, 2008-"Ori-Finder: a web-based system for finding oriCs in unannotated bacterial genomes", BMC Bioinformatics, 9:79.
- 35.Martindale-"Thirty-Seven edition Volume A"-Drug Monograph.37 Edition.
36. Teml A, Schaeffeler E, Herrlinger KR, Klotz U, Schwab M. Thiopurine treatment in inflammatory bowel disease: clinical pharmacology and implication of pharmacogenetically guided dosing. Clin Pharmacokinet. 2007a;46:187-208.
37. Tavadia SM, Mydlarski PR, Reis MD, Mittmann N, Pinkerton PH, Shear N, Sauder DN. Screening for azathioprine toxicity: a pharmacoeconomic analysis based on a target case. J Am Acad Dermatol. 2000;42:628-32.