

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur  
Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière  
Département des Sciences de la Matière

Mémoire de fin d'études  
Master



Spécialité : Chimie physique

*Présenté par :*

*TIFOURAK Dalal*

---

**Etude par Docking Moléculaire de l'inhibition des CYP3A4  
par le jus de pamplemousse**

---

Sous la Direction de :

**Dr. DJEMIL Rayenne**  
**Dr. MESSAOUDI Boulanouar**

**Juin 2019**

## **Remerciements**

*En premier lieu, je tiens à remercier notre dieu, qui m'a donné la force pour accomplir ce travail.*

*Je remercie sincèrement, mon encadreur, **Mme DJEMIL Rayenne**, de m'avoir donné la possibilité de réaliser ce mémoire de Master, orienté, conseillé et encouragée tout au long de la réalisation de ce travail.*

*J'exprime mes sincères gratitude à **Mme LACHI Nadia**, pour son aide à se familiariser avec le logiciel Auto dock Vina, sa patience et sa disponibilité.*

*J'ai le plaisir d'exprimer ma profonde gratitude à **Mr BOULANOUAR Messaoudi** pour son aide dans la correction du mémoire.*

*Je tiens à remercier tous les enseignant du département des sciences de la matière, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.*

*Mes derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres, vont à tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail*

## *DEDICACE*

*Je dédie ce travail à ma mère Nasima, ma raison d'être, la lanterne qui éclaire mon chemin et m'illumine d'affection et d'amour.*

*A mon père Ahcen, en signe d'amour et de gratitude pour tous les soutiens et les sacrifices dont il a fait preuve à mon égard.*

*A mon frère Raïd Islame, à ma sœur Sofia, à tous mes proches et mes amis.*

*Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir éclatant et plein de bonnes promesses*

*A tous les gens qui ont cru en moi et qui me donnent l'envie d'aller en avant, Je vous remercie tous vos encouragements et votre soutien me donnent la force de continuer.*

# Sommaire

---

Sommaire	
Liste des Figures .....	I
Liste des Tableaux .....	III
Liste des Abréviations.....	IV
Résumé .....	VI
Introduction générale .....	1
<b>Chapitre 1 : Docking Moléculaire</b>	
1-Introduction .....	3
2-Définition .....	3
3-Types de Docking .....	4
4-Outils .....	4
4.1- Le récepteur .....	5
4.2- Ligand .....	5
4.3- Programme .....	5
5-Le processus de Docking .....	6
5.1- Le Docking Ligand- Protéine .....	6
5.2- Le Docking protéine- protéine .....	7
6- Principe du Docking .....	8
7-Les algorithmes de recherche .....	8
7.1- Méthodes systématiques .....	8
7.2-Méthode stochastique (génétique) .....	9
7.3- Méthodes de Simulation .....	9
8-Fonctions de score .....	9
8.1- Fonctions de score basées sur les champs de force .....	10
8.2- Fonctions de score empiriques .....	10
8.3- Fonctions de score basées sur la connaissance « knowledge-based » .....	10
8.4- Fonctions de score consensus .....	11
9- Les logiciels .....	11
9.1- AutoDock Vina .....	11
9.2- DOCK .....	11
9.3- FlexX .....	11
9.4- GOLD .....	12
10- Applications .....	12

## Sommaire

---

Références .....	13
<b>Chapitre 2 : les Cytochromes P450</b>	
1-Généralités .....	17
2-Les cytochromes P450 .....	17
3-Propriétés générales .....	18
3.1-Structure générale .....	18
3.2- Réactions catalysées .....	20
3.3- Nomenclature .....	20
4-Le rôle des cytochromesP450 .....	22
4.1- La sous-famille CYP3A .....	22
4.2-CYP3A4 .....	22
5-Inhibition enzymatique .....	24
5.1-Inhibition réversible .....	25
a) Inhibiteur compétitif .....	25
b) Inhibiteur incompétitif .....	26
c) Inhibiteur non compétitif .....	27
5.2- Inhibition irréversible, inhibition « suicide » .....	27
6- Inhibition des Cytochromes P450 .....	28
7- Le jus de pamplemousse .....	28
7.1- Les constituants responsables de l'interaction .....	29
a) Les flavonoïdes .....	29
b) Les furanocoumarines .....	30
8-Interactions jus de pamplemousse et médicaments .....	32
9-Action Jus de Pamplemousse sur le cytochrome P450 .....	32
Références .....	34

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

1- Introduction .....	37
2- Présentation des molécules étudiées .....	37
2.1-Récepteur .....	37
2.2-Les inhibiteurs .....	38
2.3-Les médicaments .....	40
3- Méthodologie .....	42
3.1-Logiciel .....	42
3.2-Préparation des protéines .....	42
3.3-Préparation des ligands .....	43

## Sommaire

---

3.4- Calcul des grilles de potentiel .....	43
4- Résultats et discussion .....	44
4.1-Le RMSD .....	44
4.2-La concentration inhibitrice médiane (IC50) .....	45
4.3-Docking du cytochrome P450 3A4 .....	46
4.4-Interactions des CYP 4I3Q .....	50
a) Interaction avec DHB .....	50
b) Interaction avec le Félodipine .....	51
4.5-Interactions des CYP 1TQN .....	51
a) Interaction avec Naringine .....	51
b) Interactions avec Miconazole et kétoconazol .....	52
4.6-Interactions des CYP 1W0E .....	54
a) Interaction avec Naringine et Bergamottine .....	54
b) Interaction avec Diltiazem .....	55
Références .....	57
Conclusion générale .....	58
Annexe 01	
Annexe 02	
Annexe 03	

## Liste des figures

<i>N°</i>	<i>Intitulé des Figure</i>	<i>page</i>
<b><i>Chapitre I : Docking Moléculaire</i></b>		
Figure I.1	Représentation schématique du Docking.	4
Figure I.2	Comparaison des programmes de Docking les plus cités.	6
Figure I.3	Le Docking ligand protéine.	7
Figure I.4	Le Docking protéine- protéine.	7
Figure I.5	Principe générale d'un programme de docking.	8
<b><i>Chapitre II : Les cytochromes P450</i></b>		
Figure II.1	Structure générale des CYP450.	19
Figure II.2	a) Représentation schématique d'un CYP. b) Protoporphyrine IX de fer constituant l'hème des CYPs, A, B, C et D désignent la nomenclature des quatre cycles pyrroles vu du dessus de la face distale de l'hème.	19
Figure II.3	Structure générale du CYP3A4. La partie N-terminale est colorée en bleu dégradant au vert, jaune et rouge vers la partie C-terminale. L'hème et l'atome de fer sont évidents au centre de la structure.	24
Figure II.4	Inhibition compétitive.	25
Figure II.5	Inhibition incompétitive.	26
Figure II.6	Formule chimique de la naringine.	29
Figure II.7	Formule chimique de la naringenine.	30

## Liste des figures

Figure II.8	Formule chimique de la 6'7'dihydroxybergamotine.	31
Figure II.9	Formule de chimique de la bergamottine.	31
<b><i>Chapitre III : Résultats et discussion</i></b>		
Figure III.1	La structure de CYP 3A4.	37
Figure III.2	Visualisation des différents complexes de RMSD.	45
Figure III.3	Valeurs expérimentales en pourcentage d'IC50 des Inhibiteurs.	47
Figure III.4	Valeurs expérimentales en pourcentage d'IC50 des médicaments.	49
Figure III.5	Mode d'interaction 4I3Q – DHB.	50
Figure III.6	Mode d'interaction 4I3Q – Felodipine.	51
Figure III.7	Mode d'interaction 1TQN –Naringine.	52
Figure III.8	Mode d'interaction 1TQN – Miconazole.	53
Figure III.9	Mode d'interaction 1TQN – kitoconazole.	53
Figure III.10	Mode d'interaction 1W0E – Nraingine.	54
Figure III.11	Mode d'interaction 1W0E – Bergamottine.	55
Figure III.12	Mode d'interaction 1W0E – Diltiazem.	56

## Liste des tableaux

---

<i>N°</i>	<i>Intitulé des Tableaux</i>	<i>page</i>
<b><i>Chapitre II : Les cytochromes P450</i></b>		
tableau II.1	Classification des 57 CYPs humains fondée sur leur principal substrat.	21
<b><i>Chapitre III : Résultats et discussion</i></b>		
Tableau III.1	La structure des inhibiteurs.	38
Tableau III.2	La structure des médicaments.	40
Tableau III.3	La boîte GRID BOX des enzymes.	43
Tableau III.4	RMSD du quelques complexe protéine-ligand.	44
Tableau III.5	Résultats de Docking moléculaire des constituants de jus Pamplemousse.	46
Tableau III.6	Valeurs d'IC50 expérimentaux de des inhibiteurs.	46
Tableau III.7	Résultats de Docking moléculaire des médicaments.	48
Tableau III.8	Valeurs d'IC50 expérimentaux des médicaments.	48

## Liste des Abréviations

---

ADN	Acide désoxyribonucléique
ALA	Alanine
AMBER	Assisted Molecular Buildnig and Energy Refinement
ARG	Arginine
ARN	Acide ribonucléique
ASN	Asparagine
CHARMM	Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics
CYP	Cytochrome
CYS	Cystéine
DHB	6'7'dihydroxybergamottine
FMO	Flavine mono oxygénases
GLU	Acide Glutamique
GLY	Glycine
GROMOS	GRONingenMOlecular Simulation System
ILE	Isoleucine
LEU	Leucine
LYS	Lysine
MAO	Monoamine oxydases
MET	Methionine
MMFF	MerckMolecular Force Field
NAT	N-acétyltransférases
OATP	Organic-anion-transporting polypeptide
OPLS	Optimized Potentials for Liquids simulation
PDB	Protéine Data Bank

## Liste des Abréviations

---

P-gP	Permeability-GlycoProtein
PMF	Potential of Mean Force
PHE	Phényalanine
PRO	Proline
PM3	Parametric Model number 3
RMN	Résolution magnétique nucléaire
RMSD	RootMean Square Deviation
RX	Rayons X
SER	Serine
THR	Threonine
TRP	Tryptophan
TYR	Tyrosine
UGT	UDP-glucuronosyltransférases
VAL	Valine
3D	Tridimensionnelle

## Résumé

---

Dans ce travail, nous avons étudié par Docking moléculaire l'inhibition des cytochromes CYP3A4 par le jus de pamplemousse afin de mieux connaître les constituants du pamplemousse responsables de l'inhibition de ces CYPs et de prédire l'action de jus de pamplemousse sur les CYPs et sur le métabolisme des médicaments avec lesquels il interagit. Pour cela, nous avons docké chaque récepteur CYP450 (4I3Q, 1TQN, 1W0E) avec les constituants de jus de pamplemousse inhibiteurs (les furanocoumarines et les flavonones) et avec les médicaments.

Les résultats obtenus révèlent les furanocoumarines (la DHB et la bergamottine) et la naringine sont les composants du jus de pamplemousse responsables de l'interaction présentant ainsi une inhibition du métabolisme des cytochromes P450 3A4 (CYP3A4) ce qui est en accord avec les résultats expérimentaux.

**Mot clés :** CYP3A4.Docking moléculaire.Inhibiteur.Jus de pamplemousse.

## Introduction générale

---

L'importance portée sur l'influence de l'alimentation sur l'activité des médicaments est de plus en plus marquée. En effet, les patients interrogent régulièrement leur pharmacien afin de connaître le meilleur moment pour prendre leurs médicaments.

De nombreux produits alimentaires sont connus pour provoquer des interactions avec certains médicaments, comme les produits laitiers, les jus tels que le jus de pamplemousse

L'interaction du jus de pamplemousse avec les médicaments n'est pas connue de tout le monde. Cependant, Ce boisson a une réelle action sur le métabolisme des médicaments avec lesquels il interagit. En effet, la consommation de jus de pamplemousse au moment de la prise de certains médicaments entraîne une modification d'un ou plusieurs paramètres pharmacocinétiques de ces médicaments par rapport à une administration avec de l'eau. Les médicaments pour lesquels ont été remarqué ces modifications sont des molécules métabolisées par les cytochromes P450 et plus spécifiquement les cytochromes P450 3A4 (CYP3A4).

Ces enzymes sont essentiels pour effectuer des biotransformations des xénobiotiques comme les médicaments et les polluants. Ils détoxifient l'organisme de ces molécules étrangères (xénobiotiques) à celui-ci en les oxydant.

L'inhibition des enzymes du métabolisme, et spécialement des cytochromes P450, intéresse beaucoup l'industrie pharmaceutique car l'inhibition enzymatique est à l'origine des interactions médicamenteuses, lorsque deux molécules ou plus sont administrés au même temps.

Le but de ce travail est de mieux connaître les constituants du pamplemousse afin de comprendre l'interaction du jus de pamplemousse avec les cytochromes P450 (CYP3A4) et les médicaments. Cette interaction (jus de pamplemousse- féلودipine), découverte par hasard il y a trente ans demeure encore méconnue malgré le nombre d'études menées et son importance clinique.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à déterminer les modes d'interaction des complexes enzymes-ligands utilisant la technique de modélisation moléculaire, regroupées sous le nom « Docking moléculaire » pour la prédiction des modes d'interactions possibles et l'étude des interactions moléculaires entre le CYP comme récepteur avec les constituants de jus de pamplemousse inhibiteurs d'une part et entre le CYP et les médicaments d'autre part.

## Introduction générale

---

Nous présenterons ce travail en trois chapitres :

**Le premier chapitre :** est consacré à la description du Docking moléculaire et les différents concepts théoriques sur lesquels se base.

**Le second chapitre :** comprend une présentation générale des cytochromes CYP450

**Le dernier chapitre :** renferme les principaux résultats obtenus au cours de ce travail en comparaison avec l'expérimental

## 1-Introduction

La biologie structurale s'intéresse au rapport entre la structure des molécules et leur activité biologique. La connaissance de la structure des complexes protéine- ligand permet aux chercheurs de mieux comprendre les mécanismes clés mis en jeu lors d'une interaction entre protéine-ligand, ce qui constitue un enjeu scientifique majeur, autant en termes fondamentaux (expliquer une fonction cellulaire) que pour la recherche appliquée (inhiber spécifiquement une fonction cellulaire).

Les progrès en matière de cristallographie et l'introduction de structures obtenues par RMN a conduit à la création d'une ressource basée sur les technologies modernes qui faciliterait l'usage et l'analyse de données structurales. Dans, le domaine de la biologie, la «Protein Data Bank» (PDB) est la base de données par excellence [1].

Cependant, les outils informatiques ont pris place pour traiter le flot de données produites et optimiser ses avancées. L'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme anglo-saxon "docking") est l'une des méthodes *in silico* les plus récentes. La problématique du « docking », a été de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand par étude l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation de complexes moléculaires. [2, 3].

## 2-Définition

Les interactions protéine-protéine et protéine-ligand jouent un rôle clé dans l'organisation des systèmes biologiques. Elles permettent la régulation de certains processus biologiques, la transmission des signaux ou encore la catalyse de diverses réactions biochimiques.

Connaître la façon dont les protéines interagissent avec d'autres entités biochimiques est une étape essentielle pour comprendre les processus biologiques dans lesquels elles sont impliquées.

Le Docking moléculaire est l'étude *in silico* des différents mécanismes et interactions mis en jeu entre ces biomolécules dans le but de prédire et reproduire la structure du complexe formé par un ligand et son récepteur [4].

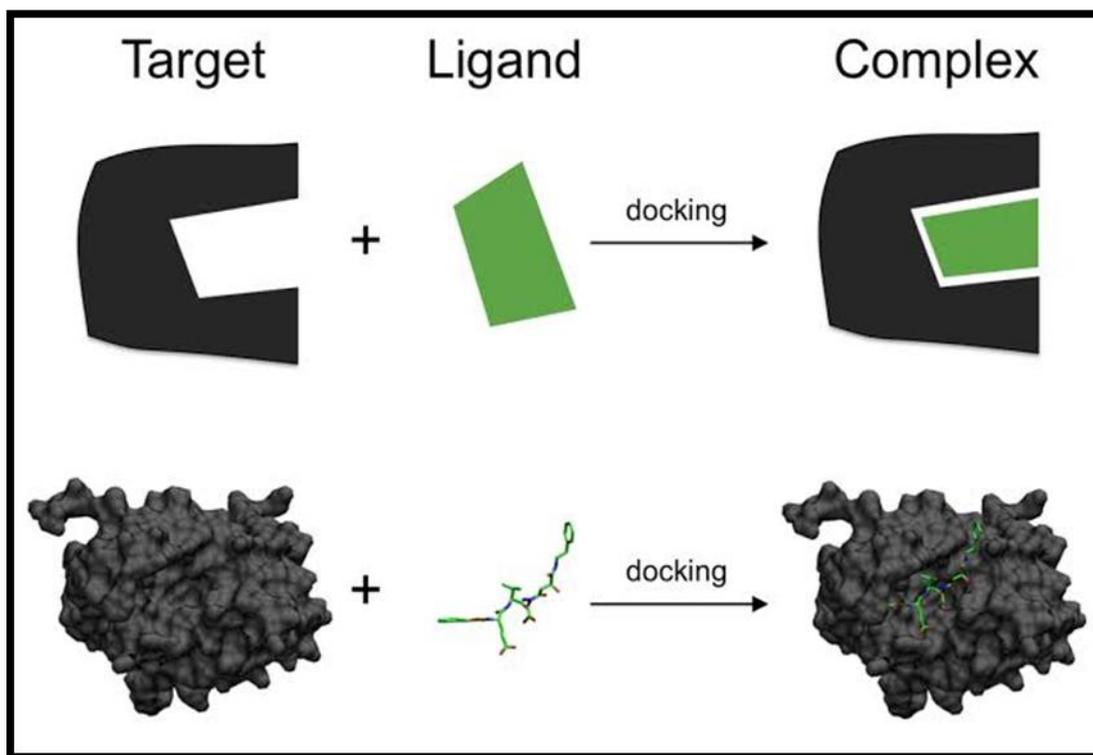


Figure 01 : Représentation schématique du Docking

### 3-Types de Docking

Il existe trois types de docking moléculaire :

**Le Docking rigide** consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéine-ligand en considérant que chacune des deux molécules étant une entité rigide tout en conservant une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité, en interaction dans le complexe, n'est pas prise en compte. Cependant, il est tout à fait concevable que les structures de la protéine et du ligand soient modifiées durant le processus de docking moléculaire afin d'optimiser au mieux l'interaction entre les deux entités. On parle, dans ce cas, de **Docking flexible** [4].

Entre les deux modes existe le **Docking semi-flexible**, où les partenaires d'interaction sont partiellement déformables. En général, le récepteur est traité comme étant rigide et le ligand comme étant totalement flexible, se sont imposés, car elles permettent d'obtenir des résultats plus précis.

### 4-Outils

Les éléments indispensables pour pratiquer un docking moléculaire se limitent en un récepteur macromoléculaire de nature protéique appelée : cible, une petite molécule appelée ligand et un

programme de docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi.

#### 4.1- Le récepteur

Un récepteur est un organe, une cellule ou une molécule qui assure la réception d'information. Dans le cas d'une molécule, le récepteur est une protéine spécialisée capable de se lier spécifiquement et réversiblement à une autre molécule appelée ligand.

Les structures 3D que nous utilisons proviennent de la PDB (« Protein Data Bank », (en anglais), la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques, comme les protéines et les acides nucléiques (ARN et ADN) [5].

#### 4.2- Ligand

Ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal [6].

En docking moléculaire, le choix du ligand est une étape très importante. Ce choix doit être pertinent en raison de la spécificité du site actif de la cible évitant de tester inutilement des molécules [7].

A présent, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné : la première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelés chimiothèques ou espaces chimique [8]. Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (*pdb*, *mol*, *mol2*....etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que chemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl pour ne citer que ces exemples.

#### 4.3- Programme

Le docking moléculaire à pour objectif essentiel de prédire la conformation (position et orientation relative) la plus favorable du ligand au sein de son récepteur. Initié au début des années 1980, ce domaine s'est développé pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de produits biologiquement actifs [9, 10].

Plus de 30 programmes de docking moléculaire (commerciaux ou non) sont disponibles [11]. Les plus fréquemment cités sont respectivement: AutoDock [12], GOLD [13], FlexX [14], DOCK

[15] et ICM [16].

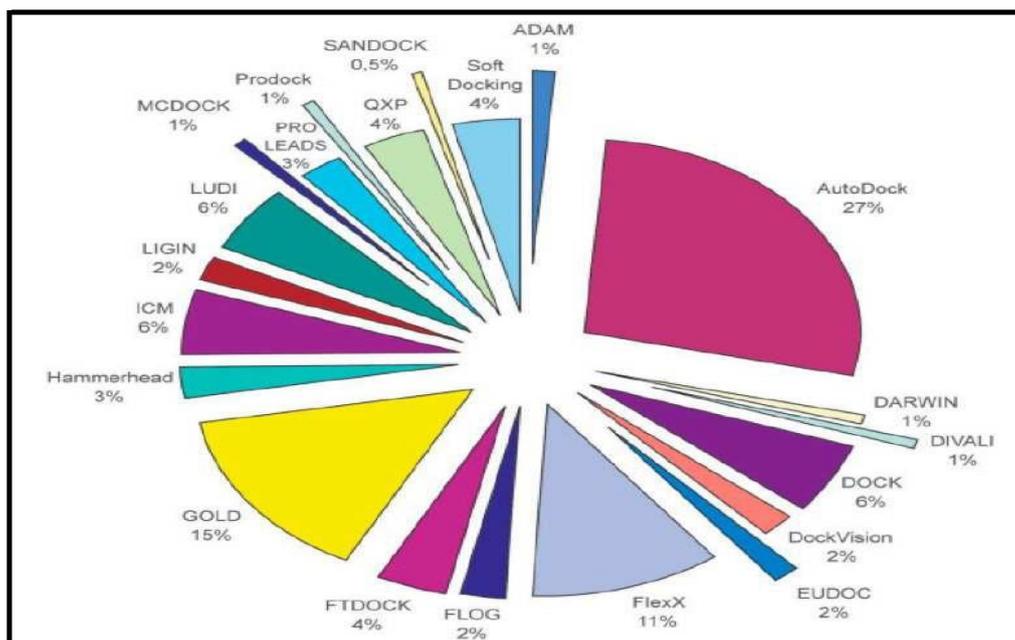


Figure 02 : Comparaison des programmes de Docking les plus cités [17]

## 5-Le processus de docking

Les méthodes du docking cherchent à assembler les protéines afin de construire un complexe [18]. Le processus de docking consiste à faire interagir une petite molécule organique avec le récepteur, généralement de nature protéique [19]. L'objectif étant de parvenir à déterminer comment ces molécules vont s'agencer les unes par rapport aux autres.

Dans la biologie moléculaire, il y a deux principales types d'association dans le docking: Le docking ligand- protéine et le docking protéine- protéine.

### 5.1- Le Docking Ligand- Protéine

Dans ce type d'association une grande molécule (la protéine est aussi appelée « le récepteur ») interagit avec une petite molécule (le ligand) et il est très utile dans le développement de médicaments. Il ressemble à la situation de « la clé dans la serrure », quand le ligand est amarré dans la cavité de la protéine.

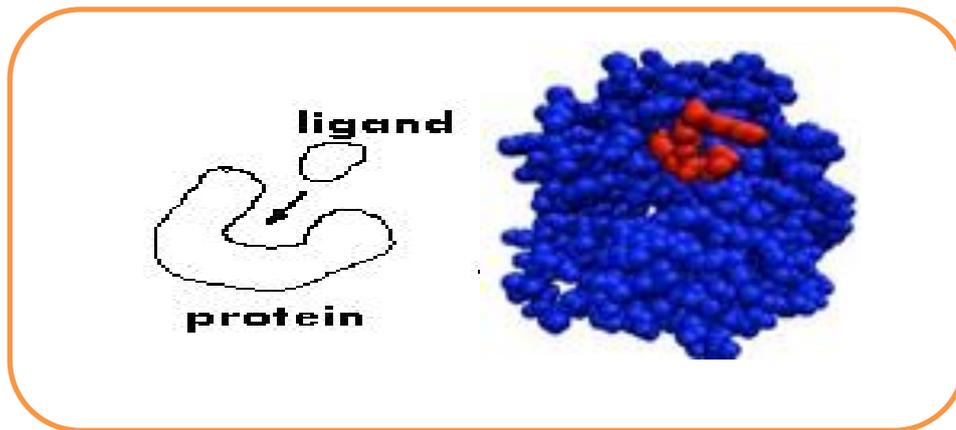


Figure 03 : Le Docking ligand protéine

## 5.2- Le Docking protéine- protéine

Dans cette association interagissent deux protéines approximativement de même taille. Donc, souvent le site de fixation est une surface plus planaire que dans le docking ligand- protéine, et les cas où le docking se produit quand une des molécules est située à l'intérieur d'une cavité de l'autre molécule, sont très rares.

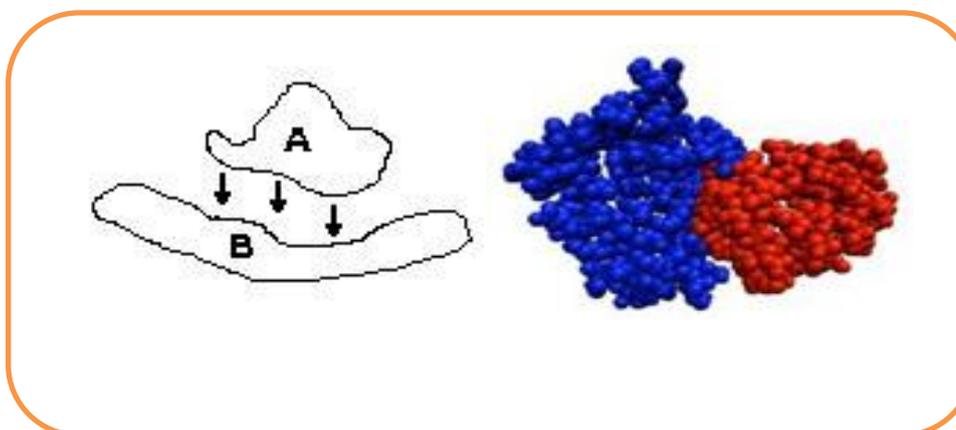


Figure 04 : Le Docking protéine- protéine

## 6- Principe du Docking :

Le Docking moléculaire s'accomplit en deux étapes complémentaires. La première «*Docking*» est l'étape de sélection, qui consiste à placer le ligand dans le site actif de la protéine et échantillonner les conformations, les positions et les orientations possibles (poses), en retenant que celles qui représentent les modes d'interaction les plus favorables en utilisant des algorithmes de recherche.

La deuxième dite «*Scoring*» est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité de liaison entre le ligand et la protéine et donner un score aux poses obtenues lors de la phase de Docking. Ce score permet de retenir la meilleure conformation.

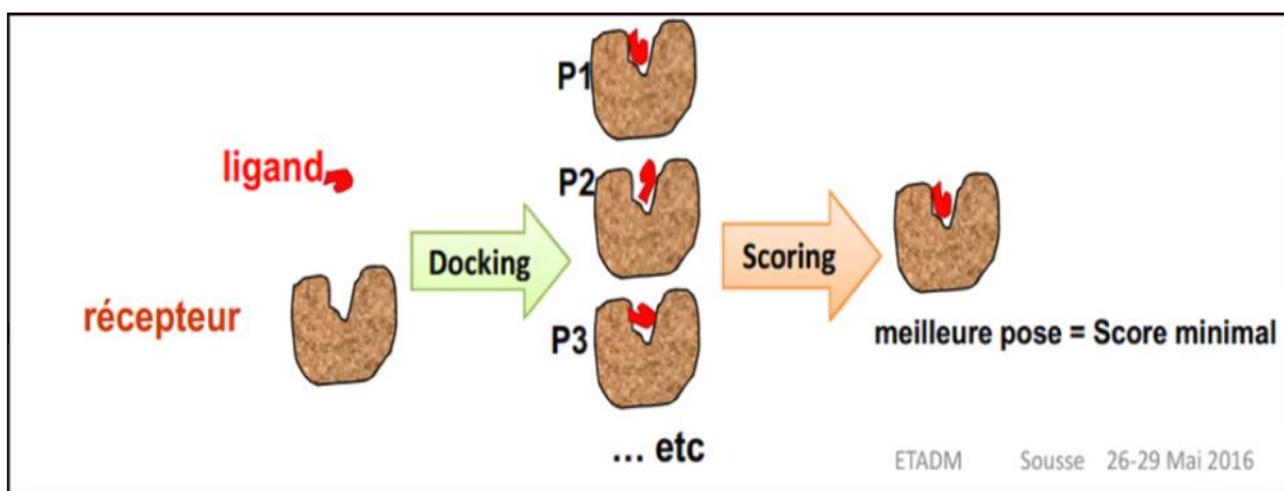


Figure 05 : principe général d'un programme de docking

## 7-Les algorithmes de recherche

Un algorithme est une méthode utilisée pour résoudre un problème particulier dont on est sûr qu'elle trouve toujours une réponse en un temps d'exécution fini. Ils ont été conçus pour rechercher de façon objective, rapide et efficace les modes d'association récepteur ligand les plus favorables. Il existe trois types d'algorithmes pour le traitement de la flexibilité du ligand.

### 7.1- Méthodes systématiques :

Le principe général est de couper le ligand en fragments rigides et flexibles. Dans un premier lieu, un ou plusieurs fragments qui doivent être rigides sont placés au sein du site actif et donc mis en interaction avec la cible, puis le ligand est reconstruit en plaçant les fragments flexibles d'une manière successive tout en exploitant les angles de torsion [20]. Des programmes comme *FlexX*,

*Surflex* et *Dock* utilisent cette approche qui permet notamment un criblage rapide de vastes chimiothèques de molécules [21].

### 7.2-Méthode stochastique (génétique) :

L'approche stochastique est plus précise, à partir d'une position initiale aléatoire, à l'extérieur du site actif, le ligand considéré dans son entier explore le site actif étudié par la répétition successive de mouvements et d'évaluations de l'interaction ligand-récepteur. Ces techniques sont plus lentes que la méthode systématique mais prennent mieux en considération la flexibilité du ligand et permettent l'exploration de régions plus vastes. Dans cette catégorie, nous pouvons citer *GOLD* et *Auto Dock* [22].

### 7.3- Méthodes de Simulation :

Les méthodes de simulation sont basées sur la résolution des équations du mouvement de Newton. Elles comprennent notamment les techniques de dynamique moléculaire et des algorithmes de minimisation. Les premières ne sont jamais utilisées pour générer de la flexibilité sur le ligand car elles demandent un temps de calcul non compatible avec la gestion de bases de molécules. Les secondes en revanche sont parfois utilisées dans les programmes de docking, en complément d'un autre algorithme de recherche, afin d'atteindre une conformation de basse énergie [23].

## 8-Fonctions de score

Sont des méthodes mathématiques et des fonctions discriminant les poses de docking correctes de celles incorrectes. Ce score permettra non seulement de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées, mais également de classer la meilleure pose de différents ligands pour identifier les meilleurs d'entre eux. Dans les programmes de docking, on trouve différents types de fonction de score : celles utilisant un champ de force de mécanique moléculaire, celles reposant sur les connaissances actuelles et les méthodes empiriques.

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique est le suivant [24] :

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

Concrètement, le score est une estimation de l'affinité entre la macromolécule et la petite molécule organique. Un score ne prédit donc en rien une activité mais bien une affinité.

### 8.1- Fonctions de score basées sur les champs de force

Les fonctions de score basées sur un champ de force qui est une fonction mathématique exprimant l'énergie d'un système par la somme de divers termes issus de la mécanique moléculaire. L'utilisation de champ de force permet de calculer l'énergie d'interaction du complexe récepteur-ligand (interactions intermoléculaires) et l'énergie interne du ligand. Les interactions entre récepteur et ligand comprennent souvent des termes de Van der Waals et électrostatiques [25, 26].

Les fonctions de score qui se basent sur les champs de force les plus rigoureux comme AMBER [27, 28], CHARMM (Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics) [29, 30], GROMOS (GRONingen MOlecular Simulation System) [31] et OPLS (Optimized Potentials for Liquids simulation) [32].

### 8.2- Fonctions de score empiriques

Les fonctions empiriques de score estiment l'affinité des complexes protéine-ligand en se basant sur un décompte du nombre d'interactions dans le système protéine-ligand comme par exemple le nombre de liaisons hydrogène, les contacts hydrophobes, les contacts hydrophiles, les contraintes de torsion dues à la formation du complexe protéine-ligand, *etc.* Elles sont utilisées dans la plupart des algorithmes d'amarrage notamment FlexX[14], Chemscore et LUDI [25, 33].

### 8.3- Fonctions de score basées sur la connaissance « knowledge-based »

Ces fonctions proviennent de l'analyse des structures tridimensionnelles de complexes ligand-protéine déterminés de manière expérimentale. Des règles définissant la géométrie préférentielle des interactions sont déduites de ces structures grâce à des moyens statistiques [34].

Ces fonctions statistiques permettent d'établir une corrélation entre l'état thermodynamique du complexe protéine-ligand qui forme un système et la probabilité de trouver ce complexe dans un état microscopique donné. Ainsi les fréquences sont converties en enthalpie libre (énergie) grâce à une distribution de Boltzmann, les potentiels sont donc nommés potentiels de force moyenne (Potential of Mean Force : PMF).

## 8.4- Fonctions de score consensus :

Les fonctions de score consensus [35, 36], combinent les informations obtenues à partir des différents score, afin de compenser les erreurs des fonctions de score individuelles. Plusieurs études ont montré que ces fonctions performant le calcul des énergies libres des complexes et ainsi les interactions protéine - ligand mieux que les fonctions individuelles [37, 38]. Un exemple de fonction de score consensus est X-CSCORE [39] qui combine un PMF [40-42] et ChemScore [43].

## 9- Les logiciels

### 9.1- AutoDock Vina

AutoDock Vina est un programme de docking dérivé d'AutoDock4 comme son nom l'indique, qui a également été développé par le groupe de Arthur J. Olson au 'Scripps Research Institute' (<http://autodock.scripps.edu/>) [44]. Son principal objectif est l'augmentation de la vitesse d'exécution tout en conservant des résultats à la hauteur voire meilleurs qu'AutoDock4. Ce gain de vitesse provient de l'implémentation du parallélisme dans l'algorithme, par multi-tâches (multithreading) sur plusieurs processeurs de calcul en même temps (multi-core).

### 9.2- DOCK

Le DOCK est l'un des logiciels de docking ligand-protéine les plus anciens et les plus connus. La version initiale utilise des ligands rigides, la flexibilité a été incorporée plus tard par l'intermédiaire de la construction par incrémentation du ligand dans la poche de liaison.

Le DOCK est une méthode basée sur des fragments qui utilise les méthodes de complémentarité chimique et de forme pour créer des orientations possibles pour le ligand. Ces orientations peuvent être scorées en utilisant trois fonctions de score différentes, cependant aucune d'elles ne contient des termes explicites de liaison d'hydrogène, des termes de solvation/desolvation, ou des termes d'hydrophobicité.

### 9.3- FlexX

FlexX est une autre méthode basée sur des fragments en utilisant des ligands flexibles et des protéines rigides. Il utilise la base de données d'angle de torsion de MIMUMBA pour la création des conformations. Le MIMUMBA est une base de données géométrique d'interaction employée pour décrire exactement les formes d'interaction intermoléculaires.

Pour le score, la fonction de Boehm (avec des adaptations mineures nécessaires pour le docking)

---

est appliquée. FlexX est présenté ici pour montrer l'importance des fonctions de score. Bien que FlexX et DOCK tous les deux sont des méthodes basées sur les fragments, elles produisent des résultats très différents.

### 9.3- GOLD

Le logiciel GOLD (*Genetic Optimisation for Ligand Docking*) est l'un des programmes de docking les plus réussis et largement utilisé, provient d'une collaboration entre l'Université de Sheffield, GlaxoSmithKline plc et CCDC (*Cambridge Crystallographic Data Centre*) [45].

## 10- Applications

Il y a deux principales applications au programme de docking, La plus ancienne est la prédiction du mode d'interaction. La seconde consiste à optimiser des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur. Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer les performances des différents programmes de docking pour chaque application. L'aptitude d'un algorithme à trouver l'emplacement correct du ligand par rapport à son récepteur est habituellement déterminée au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (root-mean-square deviation) du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure du cristal. La valeur admise est une différence maximale de 2 angströms au-delà de laquelle la prédiction est considérée comme non adéquate [46, 47]. En général, les erreurs de docking sont dues à un échantillonnage insuffisant ou à une fonction de score inadéquate.

Pour savoir de quel type d'erreurs il s'agit, il faut comparer l'énergie la plus basse obtenue par docking avec le score de la structure cristalline. Si le score du complexe de docking est moins favorable à celui de la structure cristalline il s'agit d'un problème de la partie chargée de parcourir l'espace conformationnel.

---

**Références**

- [1]-Gargouri. M., Ben Akacha. N., Kotti. F., Ben Rejeb. I. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement. (2008)., 12 .p185.
- [2]-Conde. C., Deltrob. S., Gerosa.H. J. Plant. Physiol. (2008)., 165. p1545.
- [3]-Yilmaz.E., Tandon. K.S., Scott. J.W., Baldwin. E.A., Shewfelt. R.L. J. Plant. Physiol. (2001)., 158 .p1111.
- [4]-Thiriot E. Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques : développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Méthionine Sulfoxyde Réductases de classe A. thèse de doctorat d'université : Chimie informatique et théorique. Nancy : Université de Nancy. France. (2009). p291.
- [5]-Martin L. Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif : une application sur la protéine kinase FAK. Thèse de doctorat d'université : Bioinformatique. Montpellier : Université Montpellier 2. France. (2006). p149.
- [6]-Shibata, D., Slusarenko, A., Casey, R., Hildebrand, D., Bell, E. Lipoxygenases. Plant Molecular Biology Reporter. (1994); 12 .p41.
- [7]-Monge A. Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche « *in silico* » de nouveaux composés bioactifs. Thèse de doctorat d'université : Chimie Informatique et Théorique. Orléans : Université d'Orléans. France. (2006). p154.
- [8]-Renvez G. Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines : vers un processus de docking. Thèse de doctorat d'université: Nano physique. Toulouse : l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. France. (2010) .p163.
- [9]-Thiriot E. Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques : développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Méthionine Sulfoxy de Réductases de classe A. Thèse de doctorat d'université : Chimie informatique et théorique. Nancy : Université de Nancy. France. (2009). p291.
- [10]-Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase – Substances antibactériennes a l'aide de techniques de 'docking' (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université Mentouri de Constantine. Algérie. (2007). p90.
- [11]-Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. (2007). p90.

- [12]-Morris G. M., Goodsell D. S., Halliday R. S., Huey R., Lindstrom W., Hart W. E., et al. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J. Comput. Chem.* (1998); 19 .p1639.
- [13]-Jones G., Willett P., Glen R. C., Leach A. R., Taylor R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J.Mol. Biol.* (1997); 267 .p727.
- [14]-Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm., *J.Mol. Biol.* (1996); 261 .p470.
- [15]-Ewing T. J., Makino S., Skillman A. G., Kuntz I. D. DOCK 4.0: search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* (2001); 15 .p411.
- [16]-Abagyan R., Totrov M. Biased probability Monte Carlo conformational searches and electrostatic calculations for peptides and proteins. *J.Mol. Biol.* (1994); 235 .p983.
- [17]-Sousa S. F., Fernandes P. A., Ramos M. J. Protein-Ligand Docking: Current Status and Future Challenges. *Proteins.* (2006); 65 .p15.
- [18]-Bastard K., "Assemblage flexible de macromolécules : la théorie du champ moyen appliquée au remodelage des boucles protéiques", Thèse Doctorat, Université de paris 7 - Denis Diderot , (2005).
- [19]-May A., Cordes F., Schmidt-Ehrenberg v, Eisenhardt S., "Rigid Body Docking for Virtual Screening", Berlin.(2003).
- [20]-Bouchrit,H., Thèse de magister université Mentouri. Algérie. (2012). p70.
- [21]-Bessadok, M.A., Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie. France.(2011). p189.
- [22]-Brut, M., Thèse de doctorat. Université pierre et marie curie France.(2009). p123.
- [23]-Vieth. M., Hirst.JD., Kolinski. A., Brooks. CL. *J. Comput. Chem.* (1998)., 19 .p1612.
- [24]-Arrault A. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de doctorat d'université : Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. Orleans : Université d'Orleans. France. (2007). p176.
- [25]-Kitchen D. B., Decornez H., Furr J. R., Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Drug discovery.* (2004)., 3 .p935.
- [26]-Bissantz C., Folkers G., Rognan D. Protein-Based Virtual Screening of Chemical Databases. 1. Evaluation of Different Docking/Scoring Combinations. *J. Med. Chem.* (2000)., 43 .p4759.
- [27]-Weiner P.K., Kollman P.A., AMBER-assisted model building with energy refinement-a general program for modeling molecules and their interactions., *J. Comput. Chem.* (1981); 2 .p 287.
- [28]-Weiner S.J., Kollman P.A., Nguyen D.T., D.A. Case, An all-atom force field for simulations of

---

protein and nucleic acids., J. Comput. Chem. (1986); 7 .p 230.

[29]-Brooks B.R., Bruccoleri R.E., Olafson B.D., States D.J., Swaminathan S., Karplus M., CHARMM-a programm for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations., J. Comput. Chem.(1983); 4. p187.

[30]-Nilsson L., Karplus M., Empirical energy functions for energy minimization and dynamics of nucleic acids., J. Comput. Chem. (1986); 7. p591.

[31]-Van Gunsteren W.F., Berendsen H.C., Computer simulations of molecular dynamics: methodology, applications, and perspectives in chemistry., Angew Chem Int Ed . (1990); 29 . p 992.

[32]-Jorgensen W.L., Tirado-Rives J., The OPLS [optimized potentials for liquid simulations] potential functions for proteins, energy minimizations for crystals of cyclic peptides and crambin., J. Am. Chem. Soc. (1988); 110 .p1657.

[33]-Reddy A. S., Pati S. P., Kumar P. P., Pradeep H. N., Sastry G. N. Virtual Screening in Drug Discovery – A Computational Perspective. Current Protein and Peptide Science. (2007) ; 8 .p 329.

[34]-Alban A., Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Other. Universités d'Orléans. France, (2007).

[35]-Halperin I., Ma B., Wolfson H., Nussinov R., Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions., Proteins.(2002); 47.p409.

[36]-Charifson P.S., Corkery J.J., Murcko M.A., Walters W.P, Consensus scoring: A method for obtaining improved hit rates from docking databases of three-dimensional structures into proteins., J. Med .Chem. (1999); 42 .p5100.

[37]-Bissantz C., Folkers G., Rognan D., Protein-based virtual screening of chemical databases. 1. Evaluation of different docking/scoring combinations., J. Med. Chem. (2000); 43 .p4759.

[38]-Terp G.E., Johansen B.N., Christensen I.T., Jørgensen F.S., A new concept for multidimensional selection of ligand conformations (MultiSelect) and multidimensional scoring (MultiScore) of protein-ligand binding affinities., J .Med .Chem. (2001); 44 .p2333.

[39]-Wang R.X., Lai L.H., Wang S.M., Further development and validation of empirical scoring functions for structure-based binding affinity prediction, J. Comput. Aided. Mol. Des. (2002); 16 .p 11.

[40]-Muegge I., PMF scoring revisited., J .Med .Chem.(2006); 49 .p5895.

[41]-Muegge I., Martin Y.C., A general and fast scoring function for protein-ligand interactions: a simplified potential approach., J .Med .Chem.(1999); 42 .p791.

[42]-Muegge I., Effect of ligand volume correction on PMF scoring, J. Comput .Chem. (2001); 22.

p 418.

[43]-Eldridge M.D., Murray C.W., Auton T.R., Paolini G.V., Mee R.P., Empirical scoring functions: I. The development of a fast empirical scoring function to estimate the binding affinity of ligands in receptor complexes., *J. Comput. Aided. Mol. Des* (1997) ; 11 .p425.

[44]-Trott O and Olson A. J., 'AutoDockVina : improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading.; *J. Comput. Chem.* (2010); 31 .p455.

[45]-Verdonk M. L., Cole C., Hartshorn M. J., Murray C. W., Taylor1 R. D. Improved Protein–Ligand Docking Using GOLD. *Proteins: Structure, Function, and Genetics.* (2003); 52 .p609.

[46]-Vieth M., Hirst J.D., Kolinski A., Brooks C.L., Assessing energy functions for flexible docking. *J. Comput. Chem.* (1998); 19 .p1612.

[47]-Gabb J., Jackson R.M., Sternberg M.J.E., Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information.; *J. Mol. Biol.* ( 1997); 272 .p106.

## 1-Généralités

Les enzymes qui sont impliquées dans la biotransformation des xénobiotiques peuvent être divisées en deux principaux groupes : enzymes oxydatives ou enzymes de conjugaison. Les CYP450, estérases, flavine-monoxygénases (FMO) et monoamine oxydases (MAO) sont des enzymes oxydatives catalysant des réactions de phase 1. Alors que les N-acétyltransférases (NAT) et les UDP-glucuronosyltransférases (UGT) sont des enzymes de conjugaison médiant des réactions de phase 2. Le rôle de ces enzymes de métabolisme est de rendre les xénobiotiques plus hydrophiles afin de faciliter leur excrétion [1].

Ces enzymes sont retrouvées à la fois au niveau hépatique et intestinal. Dans l'intestin grêle humain, se trouve des cytochromes P450, des transférases (p. ex. UGT, sulfotransférases, etc.), des peptidases, des protéases, des lipases, des nucléases, des glycosidases et des enzymes de la microflore intestinale [2]. Pour certains composés, tels que la terfénadine, le saquinavir, la cyclosporine, le midazolam et le vérapamil, le métabolisme intestinal pourrait avoir un effet significatif sur la biodisponibilité [3].

## 2-Les cytochromes P450

Les CYP450 forment une superfamille d'enzymes de métabolisme de phase 1. Plus de 200 enzymes CYP P450 existent dans la nature dont au moins 40 ont été répertoriées chez l'homme.

Au total, 57 CYP450 ont été caractérisés et sont répartis en 18 familles et 41 sous-familles [4, 5]. Les CYP450 participent au métabolisme de 75% des médicaments sur le marché, démontrant ainsi leur importance clinique [4].

Environ 50% de l'élimination totale des xénobiotiques, ainsi que 80% du métabolisme oxydatif sont attribués aux diverses isoenzymes de la superfamille CYP450 [6]. Dans l'ensemble, la contribution des CYP450 au métabolisme des xénobiotiques est considérable comparativement à celle des autres enzymes de métabolisme.

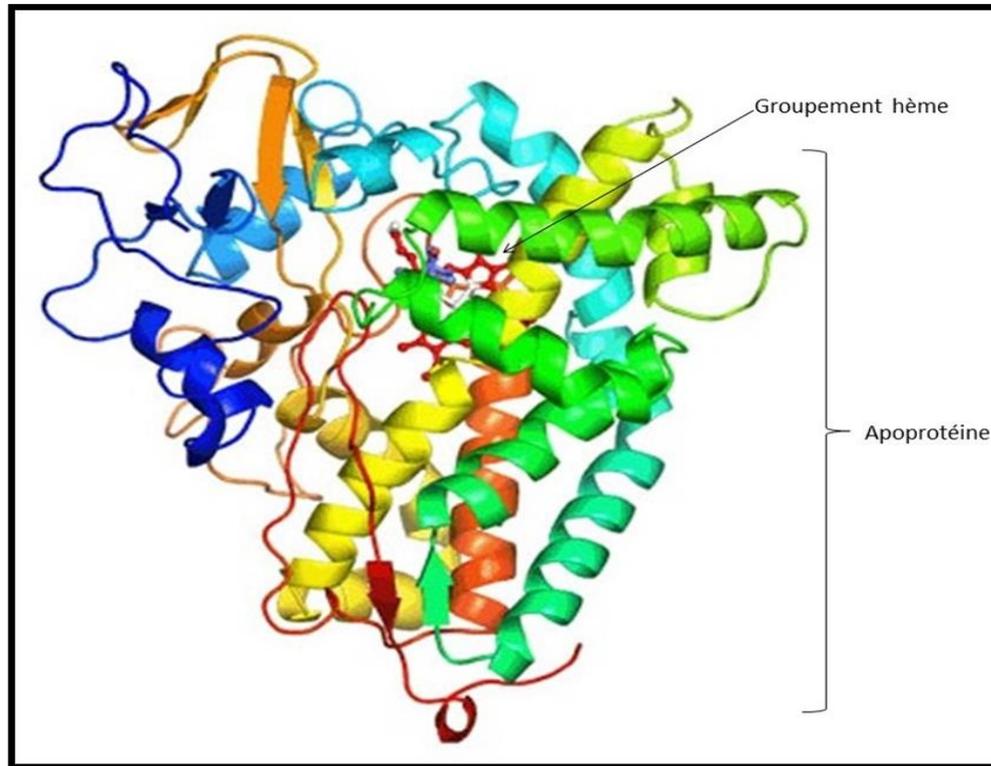
Ces enzymes sont principalement localisées dans le foie, mais on les retrouve dans divers organes extra-hépatiques dont l'intestin grêle [6]. Il est suggéré que les CYP450 sont distribués de façon régionale au long de l'intestin grêle, avec une concentration plus élevée en section proximale et dans la pointe des villosités [1, 7].

### 3-Propriétés générales

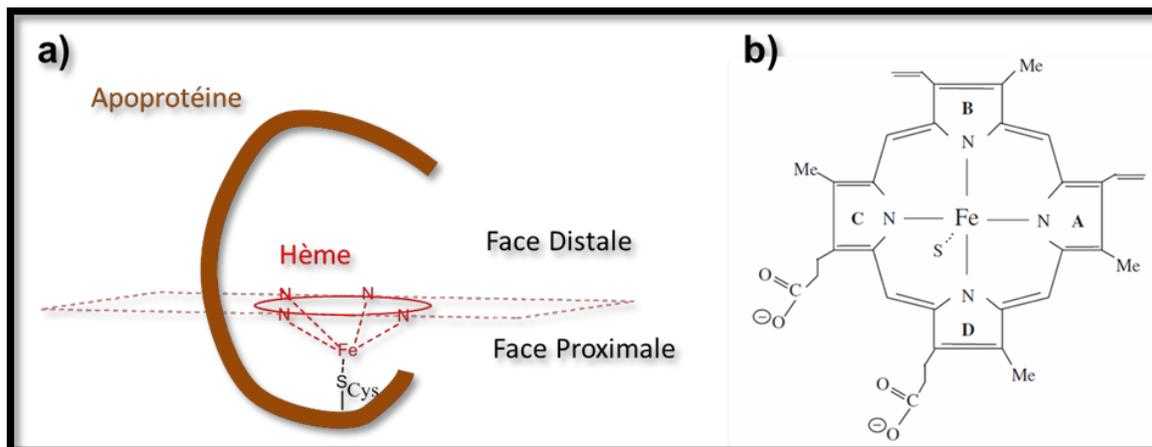
#### 3.1-Structure générale

La superfamille des CYP450 comporte une grande variété génétique entre les différentes isoenzymes qu'elle regroupe. Toutefois, la structure générale des protéines obtenues reste similaire et ce, même si l'homologie de séquence entre certaines isoenzymes est inférieure à 20%. Le cytochrome P450 est constitué d'une chaîne polypeptidique simple comportent en moyenne entre 480 et 560 acides aminés et d'un groupement prosthétique, noyau tétrapyrrolique (protoporphyrine X) associé à un atome de fer, c'est à-dire un noyau héminique permettant l'échange d'oxygène lors des réactions catalysées par les CYP450 [8].

Le Cytochrome P450 est donc une hémoprotéine contenant une molécule d'hème par molécule d'apoprotéine (figure 2). Il est composé d'une partie N-terminale à structure secondaire prédominante à feuillets  $\beta$ , et d'un plus grand domaine C-terminal qui contient le site actif et l'hème, surtout constitué d'hélices  $\alpha$  (figure 2). L'hème est lié à la chaîne protéique par une liaison de coordination de l'atome de Fer avec le soufre d'une cystéine (Cys442) et des liaisons hydrogène entre la porphyrine et les chaînes latérales de arginines et une thréonine du site actif. La majorité des CYP450 sont retrouvés au niveau du réticulum endoplasmique, à l'exception de certains qui sont exprimés au niveau mitochondrial [4].



**Figure 01** : Structure générale des CYP450 [9]



**Figure 02** : a) Représentation schématique d'un CYP. b) Protoporphyrine IX de fer constituant l'hème des CYPs, A, B, C et D désignent la nomenclature des quatre cycles pyrroles vu du dessus de la face distale de l'hème.

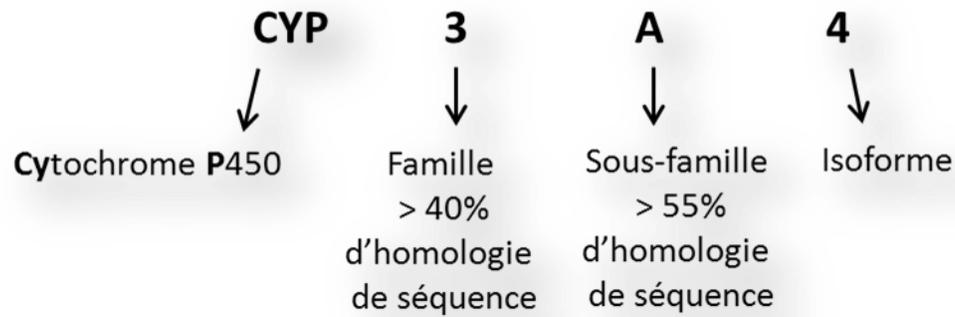
### 3.2- Réactions catalysées

Bien que les CYP450 sont majoritairement connus pour leur activité catalytique des xénobiotiques, il est important de mentionner que ces derniers occupent également plusieurs fonctions endogènes majeures, telles que le métabolisme des acides gras et du cholestérol, ainsi que la synthèse de stéroïdes endogènes [8]. Les familles CYP1, CYP2 et CYP3 sont principalement reconnues pour leur participation dans le métabolisme des xénobiotiques et représentent environ 40% des gènes *CYP450* humains [5].

Les CYP450 catalysent de nombreux types de réactions, dont la plus commune et la plus importante au niveau du métabolisme des produits pharmaceutiques est l'hydroxylation des atomes de carbone. Les réactions de N- et O-désalkylation se classent également dans la catégorie de l'hydroxylation, puisque c'est l'hydroxylation du groupe méthyle attaché à l'azote ou à l'oxygène qui mène au détachement du groupement alkyle. Les autres types de réactions médiées par les CYP450 peuvent être classées dans les catégories suivantes : formation d'époxyde, oxydation des cycles aromatiques, oxydation des hétéroatomes et réduction [8].

### 3.3- Nomenclature

Avant 1987, les CYPs animaux et humains purifiés à partir de tissus ont été décrits par différents systèmes de nomenclature particulière au laboratoire comme les systèmes basés sur leurs activités catalytiques, leurs propriétés chromatographiques ou leurs variations d'expression selon les inducteurs. Suite à l'augmentation du nombre des CYPs découverts et la disponibilité des séquences nucléotidiques, une classification des CYPs en familles et sous-familles, fondée sur la similitude des séquences primaires des acides aminés, a été proposée. Pour que deux CYPs soient membres d'une même famille, leur homologie de séquence doit être supérieure à 40 % ; pour une même sous-famille, elle doit dépasser 55 %. Pour la nomenclature, la famille est indiquée par un chiffre arabe suivi d'une lettre majuscule correspondant à la sous-famille, puis un chiffre arabe identifiant l'isoforme (Figure 3). Enfin, les isoformes ayant moins de 3% de différence de séquence sont classés comme variantes alléliques. Le génome humain contient 57 gènes (18 familles et 42 sous-familles) de CYPs dont sept (trois familles) codant les CYPs mitochondriaux. La forme italique est utilisée quand il fait référence au gène : *CYP3A4*.



**Tableau 01:** Classification des 57 CYPs humains fondée sur leur principal substrat.

Substrats exogènes Xénobiotiques	Substrats endogènes				Inconnu Orphelins
	Stérols	Acides gras	Eicosanoïdes	Vitamines	
1A1	1B1	2J2	4F2	24A1	4A22
1A2	7A1	4A11	4F3	26A1	4F11
2A6	7B1	4B1	4F8	26B1	4F22
2A13	8B1	4F12	5A1	27B1	4X1
2B6	11A1	2U1	8A1	2R1	4Z1
2C8	11B1	2W1	2S1	26C1	20A1
2C9	11B2	4V2			27C1
2C18	17A1				
2C19	19A1				
2D6	21A2				
2E1	27A1				
2F1	39A1				
3A4	46A1				
3A5	51A1				
3A7	3A43				
2A7					

#### 4-Le rôle des cytochromes P450

Les cytochromes P450 sont essentiels pour effectuer des biotransformations de substances endogènes et exogènes : ils détoxifient l'organisme des molécules étrangères à celui-ci (= xénobiotiques) en les oxydant. Ils interviennent par exemple dans la conversion du cholestérol en androgènes, en estrogènes, et gluco et minéralocorticoïdes, dans la synthèse ou la dégradation des prostaglandines et d'autres acides gras, dans la conversion des vitamines en leur forme active ou dans le métabolisme du cholestérol en acides biliaires. Ils interviennent également dans la biotransformation des xénobiotiques comme les médicaments et les polluants. La variété des propriétés catalytiques provient de la variété de la partie protéique du cytochrome P450 [10].

##### 4.1- La sous-famille CYP3A

Cette sous-famille est la plus importante des sous-familles du cytochrome P450 quantitativement. Elle représente environ 50% des cytochromes P450 hépatiques totaux et est exprimée dans de nombreux tissus extra- hépatiques comme l'intestin grêle, le colon et la peau. D'une façon générale, plusieurs éléments caractéristiques au cytochrome P450 reflètent en vérité des caractéristiques propres à la sous- famille du CYP3A.

Chez l'homme, la sous-famille du CYP3A est composée d'au moins quatre gènes menant à la synthèse de quatre protéines différentes soit le CYP3A3, le CYP3A4, le CYP3A5 et le CYP3A7. De ces quatre protéines, le CYP3A4 représente la protéine de plus grande importance pour le clinicien.

Les différents membres de cette sous-famille ont été impliqués dans la transformation de plusieurs médicaments, de substances endogènes et d'agents toxiques. De façon caractéristique, les molécules métabolisées par les isoenzymes de la sous-famille CYP3A sont de grosses molécules avec plusieurs anneaux aromatiques.

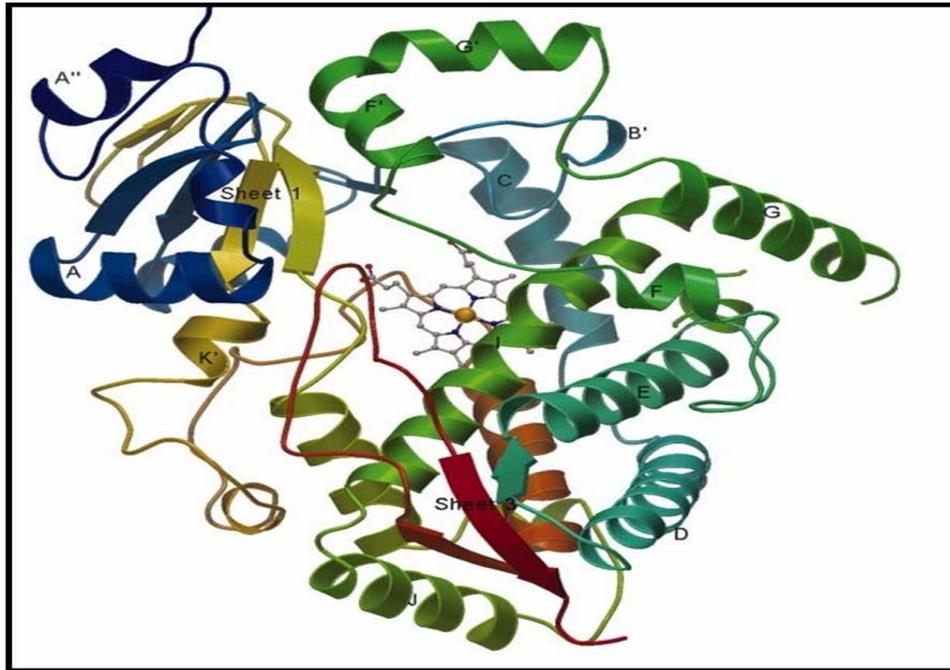
##### 4.2-CYP3A4

Le CYP3A4 est le plus étudié parmi toutes les isoenzymes du CYP450. Puisque cette isoforme joue un rôle majeur dans le métabolisme de 30 à 40% des médicaments utilisés en clinique, plusieurs études visent à identifier les sources de la variabilité observée dans son activité [11]. Cette isoforme est la plus exprimée, non seulement dans le foie, mais également dans l'intestin grêle, où elle contribuerait de façon importante à l'effet de premier passage entéro-hépatique. Il a été rapporté que cette

isoenzyme représente environ 70-80% des CYP450 totaux dans l'intestin grêle humain et environ 25-40% dans le foie [12-14].

Les substrats métabolisés par le CYP3A4 sont nombreux, ce qui contribue à la possibilité de nombreuses interactions médicamenteuses liées à cette isoenzyme [15]. Le CYP3A4 métabolise, entre autres, le midazolam, la nifédipine, la quinidine, le 17  $\alpha$ -éthynylestradiol, l'aflatoxine B1, la simvastatine, la cyclosporine, le sildenafil et le dextrométhorphan [12, 13]. Il a été rapporté que le métabolisme intestinal par le CYP3A4 était plus important que le métabolisme par le CYP3A4 hépatique pour des substrats comme la cyclosporine, le midazolam, le flurazepam, l'érythromycine, le tacrolimus et le saquinavir [16, 13]. Il est proposé que le débit sanguin plus lent dans les entérocytes résulterait en un temps de résidence supérieur des substrats. Cela permettrait aux CYP450, notamment le CYP3A4, d'être davantage en contact avec le substrat, augmentant ainsi l'efficacité de l'enzyme au niveau intestinal comparativement au foie [13].

L'importance du CYP3A4 intestinal peut être démontrée notamment avec le métabolisme de la cyclosporine (un immunosuppresseur avec un index thérapeutique étroit). En effet, ce médicament est métabolisé entre 25 et 51% au niveau de l'intestin grêle, tandis que le foie serait responsable d'environ le tiers de son métabolisme [16].



**Figure 03:** Structure générale du CYP3A4. La partie N-terminale est colorée en bleu dégradant au vert, jaune et rouge vers la partie C-terminale. L'hème et l'atome de fer sont évidents au centre de la structure.

### 5-Inhibition enzymatique [17]:

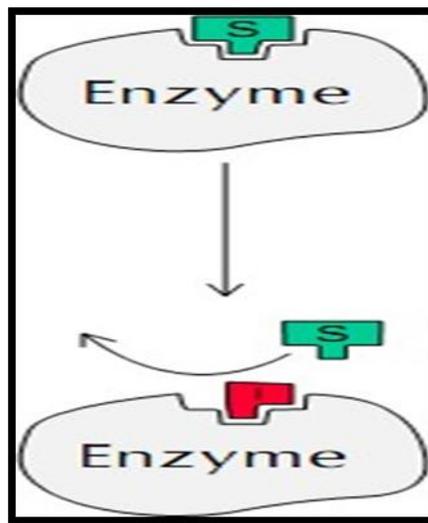
Un inhibiteur enzymatique est une substance se liant à une enzyme et qui en diminue l'activité. Un inhibiteur peut empêcher la fixation du substrat sur le site actif en se fixant à sa place, ou provoquer une déformation de l'enzyme qui rend celle-ci inactive (inhibiteur allostérique).

L'inhibition des enzymes joue un rôle important dans le contrôle des mécanismes biologiques, et notamment dans la régulation des voies métaboliques. Puisque l'inhibition d'une enzyme peut tuer un pathogène ou corriger un déséquilibre métabolique, des applications existent dans de nombreux autres domaines : beaucoup de médicaments, pesticides ou insecticides sont des inhibiteurs enzymatiques.

## 5.1-Inhibition réversible

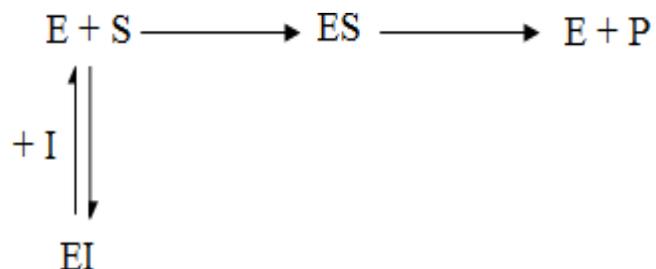
### a) Inhibiteur compétitif:

Un inhibiteur compétitif possède généralement une ressemblance structurale avec le substrat et tous deux entrent en compétition pour se fixer sur le même site enzymatique (effet isostérique). La réaction enzymatique est bloquée, soit parce que l'inhibiteur ne possède pas le groupement chimique transformé par l'enzyme, soit parce que la position de groupement chimique sur l'inhibiteur rend impossible sa reconnaissance par le site actif.



**Figure 04:** Inhibition compétitive.

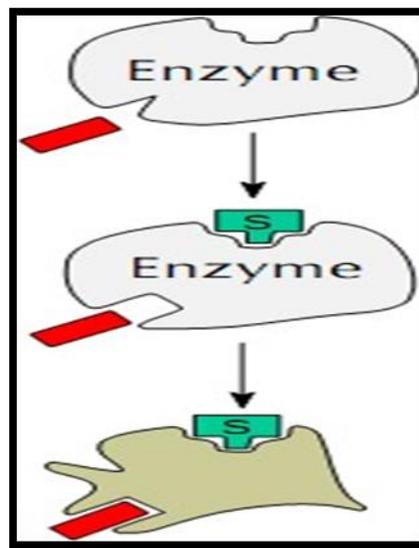
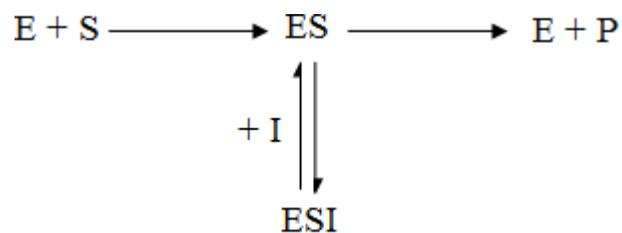
Schéma dans le cas d'une inhibition compétitive :



**b) Inhibiteur incompétitif:**

Un inhibiteur incompétitif ne se fixe jamais à l'enzyme libre mais seulement à l'enzyme complexée avec le substrat ES et empêche la formation des produits. Généralement, la liaison du substrat sur l'enzyme entraîne une modification de la conformation de l'enzyme, révélant ainsi un site de fixation pour l'inhibiteur. L'inhibiteur, en retour, modifie la conformation du site actif de l'enzyme, et empêche la réaction. Comme son nom l'indique, un inhibiteur incompétitif n'entre pas en compétition avec un substrat sur son site de fixation.

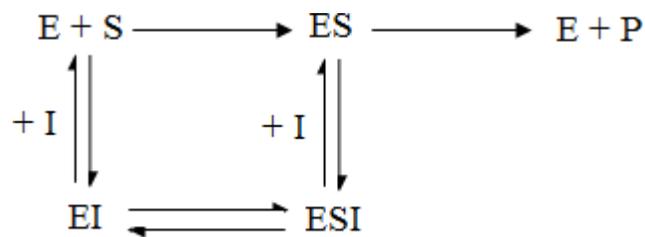
Schéma dans le cas d'une inhibition compétitive :



**Figure 05 :** Inhibition incompétitive.

**c) Inhibiteur non compétitif:**

Un inhibiteur non compétitif peut se lier à la fois, et avec une même affinité, sur l'enzyme libre et sur l'enzyme liée au substrat. Cependant, l'inhibiteur et le substrat n'entrent pas en compétition pour se fixer sur un même site : le substrat se lie au site actif, et l'inhibiteur à un autre site de fixation. L'inhibiteur entraîne une modification de la conformation du site actif, ce qui empêche la transformation du substrat en produit mais n'influe pas sur la reconnaissance entre l'enzyme et le substrat.



La fixation d'un inhibiteur non compétitif diminue la vitesse maximale de la réaction, mais ne modifie pas l'affinité de l'enzyme pour le substrat, car ce dernier se lie aussi bien à l'enzyme libre qu'au complexe EI. L'efficacité enzymatique diminue, une partie des enzymes (celles liés à l'inhibiteur) ne plus transformer le substrat en produit. On a donc une apparente diminution de la quantité d'enzymes actives.

Une inhibition non compétitive ne peut pas être levée par une augmentation de la concentration en substrat.

**5.2- Inhibition irréversible, inhibition « suicide »:**

L'inhibition suicide est un mécanisme où l'inhibiteur forme un complexe stable avec l'enzyme qui l'inactive de façon permanente. L'enzyme reconnaît l'inhibiteur comme son substrat et entame le processus de modification de ce dernier. Intervient alors une étape au cours de laquelle l'inhibiteur modifié devient très réactif et se lie de façon très stable à l'enzyme. L'enzyme contribue ainsi à sa propre inactivation irréversible d'où le nom d'inhibition « suicide ». L'inhibiteur peut se placer sur le site catalytique de l'enzyme ou ailleurs.

Exemples :

L'aspirine inhibe la cyclooxygénase active qui transforme l'acide arachidonique en une prostaglandine.

La pénicilline est un inhibiteur suicide de la transpeptidase intervenant dans la synthèse du peptidoglycane, composant de la paroi des bactéries. Son cycle bêta-lactame étant très labile réagit avec le site actif de l'enzyme. Elle se fixe alors de façon thermodynamiquement très stable à l'enzyme au niveau de ce dernier.

### **6-Inhibition des Cytochromes P450**

L'inhibition des enzymes du métabolisme, et spécialement des cytochromes P450, intéresse beaucoup l'industrie pharmaceutique pour deux raisons. D'une part, l'inhibition enzymatique est à l'origine des interactions médicamenteuses, lorsque deux médicaments ou plus sont administrés au même temps; d'autre part, certaines isoformes particulières de cytochromes P450 peuvent être considérées comme des cibles thérapeutiques. Un exemple est le CYP19 (aromatase) qui catalyse l'aromatation des androgènes en estrogènes et dont l'inhibition est utile dans le traitement du cancer du sein. L'inhibition de l'aromatase est un traitement largement utilisé en clinique, et il y a nombreuses études cliniques sur l'utilisation des composés avec un tel mécanisme d'action, mais l'inhibition d'autres isoformes de cytochromes P450 comme cibles thérapeutiques n'est pas encore en pratique clinique.

### **7-Le jus de pamplemousse**

Le jus de pamplemousse, boisson riche en vitamines et composés antioxydants, (35 à 55%) est le contenu cellulaire des poils vésiculeux, extrait par expression manuelle ou mécanique et habituellement filtré. En plus des constituants en solution, le jus de pamplemousse contient des chromoplastes en suspension et des fragments tissulaires en quantité dépendante de la finesse de filtration.

## 7.1- Les constituants responsables de l'interaction

Lorsque les chercheurs ont découvert l'existence d'une interaction avec le jus de pamplemousse, ils ont voulu savoir quels étaient les constituants du pamplemousse responsables de l'interaction.

### a) Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments végétaux de la famille des polyphénols qui sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits, mais vu les techniques de fabrications industrielles, on en retrouve encore beaucoup dans le jus et représentent une source importante d'antioxydants dans l'alimentation humaine.

Du point de vue chimique, ils possèdent deux cycles benzéniques. Les flavonoïdes ont été découverts par Albert Szent-Györgyi (prix Nobel de physiologie et de médecine 1937).

#### - la Naringine

La naringine est le principal hétéroside de flavonoïde du pamplemousse et du pomélo [18,19].

La naringine, le glycoside de la naringenine est le flavonoïde le plus abondant du jus de pamplemousse, on en trouve jusqu'à 500 mg par litre. C'est elle qui donne son goût amer au jus de pamplemousse. Contrairement au jus d'orange qui contient peu de naringine

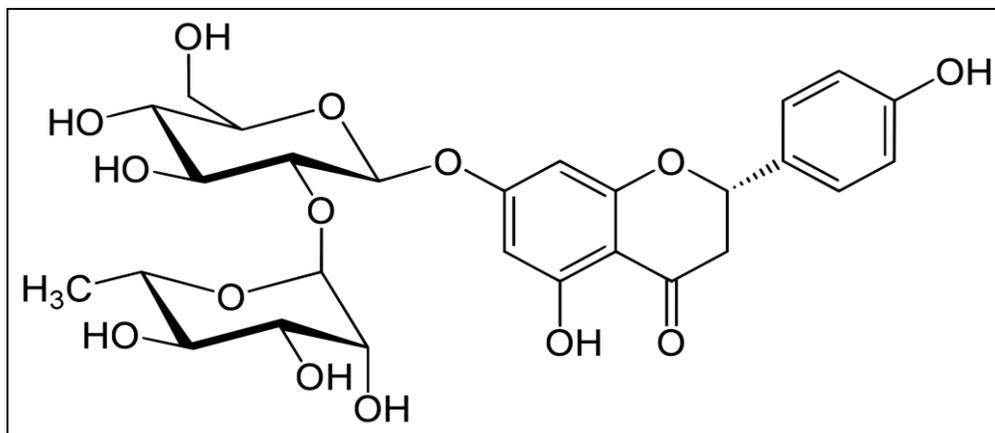
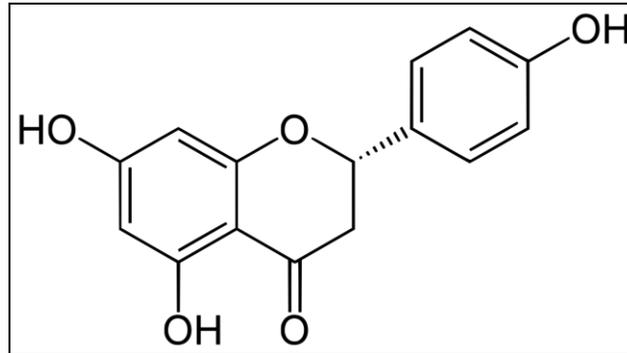


Figure 06 : formule chimique de la naringine

### - La Naringenine

La naringenine, naragine ou naringétole ( $C_{15}H_{12}O_5$ ) est un composé organique de la famille des flavanones, un sous-groupe de flavonoïdes. Elle est présente dans certains agrumes, en particulier dans le jus de pamplemousse.



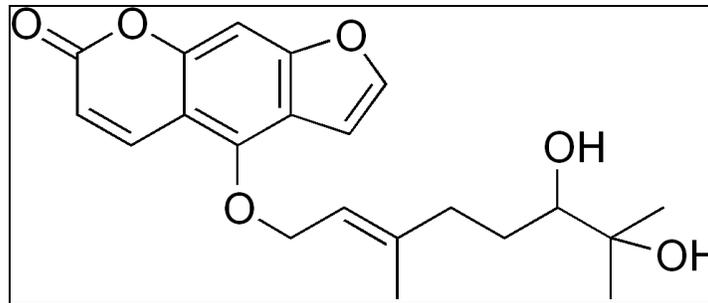
**Figure 07** : formule chimique de la naringenine

### b) Les Furanocoumarines

Les furanocoumarines, appelées également psoralènes, appartiennent à une classe chimique de molécules présentes dans le jus de pamplemousse qui semblent être impliquées dans l'interaction avec les médicaments.

### - La 6',7'-Dihydroxybergamotone (DHB)

6',7'-Dihydroxybergamottine est un produit naturel furanocoumarine trouvée dans les pamplemousses et les oranges acides [20], dans les deux la peau et la pulpe. La DHB est extraite du jus de pamplemousse par le chlorure de méthylène semble être responsable de l'interaction du jus de pamplemousse avec les médicaments. Lorsqu'on réalise une extraction du jus avec l'acétate d'éthyle, on retrouve principalement la bergamotone, un composé parent de la DHB. [21- 23]



**Figure 08** : formule chimique de la 6',7'-dihydroxybergamottine

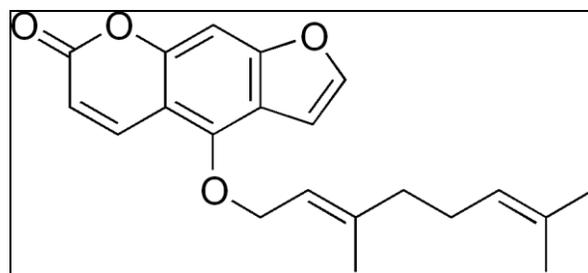
### - La Bergamottine

La bergamottine est un composé organique naturel de la classe des furocoumarines présent principalement dans le jus de pamplemousse. On le trouve aussi dans l'huile essentielle de bergamote, dont il a d'abord été isolé et à partir de laquelle son nom est dérivé. Dans une moindre mesure, la bergamottine est également présente dans les huiles essentielles d'autres agrumes. Ce composé est connu pour interagir avec certains médicaments.

La bergamottine a été suspectée pour être également un inhibiteur des CYP 3A4, par diminution de son expression intestinale.

La bergamottine est retrouvée à des concentrations variables selon les productions de jus de pamplemousse, mais elle n'est pas présente dans le jus d'orange.

L'effet de la bergamottine sur les médicaments métabolisés par les CYP P3A4 serait plus important que celui sur les médicaments métabolisés par les autres enzymes. L'inactivation des cytochromes par la bergamottine est dépendante du temps et de la concentration [24].



**Figure 09** : formule de chimique de la bergamottine

**8-Interactions jus de pamplemousse et médicaments:**

Le jus de pamplemousse fait partie des trois jus stars que l'on prend au moment privilégié pour la prise de médicaments. Riche en potassium et vitamine C, il est revendiqué comme ayant des vertus anticancéreuses et protectrices du système cardiovasculaire par ses propriétés anti-oxydantes [25].

Cependant, le jus de pamplemousse a une réelle action sur le métabolisme des médicaments avec lesquels il interagit. Cette interaction a été découverte par hasard il y a trente ans, alors quelques chercheurs étudiaient l'interaction entre la féلودipine, un antagoniste calcique, avec l'alcool. Le jus de pamplemousse a surpris des chercheurs, la concentration sanguine de la féلودipine fut très fortement augmentée. Depuis la découverte en 1989 de la première interaction du jus de pamplemousse avec un médicament, de nombreuses études ont été menées. Malgré l'importance clinique de cette interaction, elle demeure encore méconnue [26].

Le jus de pamplemousse est responsable d'un effet inhibiteur du métabolisme pré-systémique des médicaments qui se caractérise par une augmentation de la concentration maximale du médicament sans changement de sa demi-vie plasmatique et par augmentation de l'aire sous la courbe de ce même médicament [27].

Il a été montré que «l'absorption intestinale de certains médicaments est régulée dans les entérocytes par la présence d'une enzyme, le CYP3A4, couplée à un transporteur d'efflux, la P-glycoprotéine. Le CYP3A4 métabolise directement ces médicaments dans l'entérocyte alors que la P-gp favorise leur rejet dans la lumière intestinale. » [28]. Le jus de pamplemousse augmente donc l'absorption intestinale de certains médicaments.

**9-Action du Jus de Pamplemousse sur le cytochrome P450**

La consommation de jus de pamplemousse au moment de la prise de certains médicaments entraîne une modification d'un ou plusieurs paramètres pharmacocinétiques de ces médicaments par rapport à une administration avec de l'eau. Les médicaments pour lesquels on a remarqué ces modifications sont des molécules métabolisées par les cytochromes P450 et plus spécifiquement les cytochromes P450 3A4 (CYP3A4).

L'ingestion du jus de pamplemousse conduit à une diminution sélective de l'expression des CYP3A4 et CYP 3A5 au niveau des entérocytes avec comme conséquence une augmentation de la biodisponibilité des substances administrées.

Il semblerait qu'une ou plusieurs substances du jus de pamplemousse entraînent une dégradation intracellulaire rapide de l'enzyme CYP3A4 intestinale par inhibition suicide irréversible. Le jus de

pamplemousse inhibe également l'enzyme CYP1A2 in vitro, mais pas in vivo. L'action du jus de pamplemousse se situe au niveau de la barrière intestinale, où l'expression de ce cytochrome est faible. Un phénomène d'inhibition compétitive interviendrait également mais il serait mineur [29]. Ce mécanisme d'interaction qui fait intervenir le CYP 3A4 est le plus important dans l'interaction jus de pamplemousse- médicaments. L'action du jus de pamplemousse sur l'OATP et la P-gP est mineure [30].

---

**Références**

- [1]-Pereira de Sousa I, Bernkop-Schnurch A. Pre-systemic metabolism of orally administered drugs and strategies to overcome it. *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society.*(2014); 192 .p 9.
- [2]-Gavhane YN, Yadav AV. Loss of orally administered drugs in GI tract. *Saudi pharmaceutical journal: SPJ: the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society.* (2012); 20 .p 44.
- [3]-Obach RSZ, Q.-Y.; Dunbar, D.; Kaminsky, L.S. Metabolic characterization of the major human small intestinal cytochrome P450s. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals.*(2001); 29 .p 52.
- [4]-Ortiz de Montellano PR. *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry.* Fourth edition ed. Switzerland: Springer International Publishing. (2015); p 912 .
- [5]-Lewis DF. 57 varieties: the human cytochromes P450. *Pharmacogenomics.* (2004); 5 .p 18.
- [6]-Paine MF, Hart HL, Ludington SS, Haining RL, Rettie AE, Zeldin DC. The human intestinal cytochrome P450 "pie". *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals.*(2006); 34 .p 6.
- [7]-Galetin A, Houston JB. Intestinal and hepatic metabolic activity of five cytochrome P450 enzymes: impact on prediction of first-pass metabolism. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics.* (2006); 318 .p 9.
- [8]-Danielson PB. The Cytochrome P450 Superfamily: Biochemistry, Evolution and Drug Metabolism in Humans. *Current drug metabolism .*(2002); p 97.
- [9]-California-Irvine Uo. Cytochrome P450 Irvine2017 [Available from: <http://faculty.sites.uci.edu/poulos/cytochrome-p450/>].
- [10]-LAMOTTE, Géraldine. Thèse d'exercice: "Interactions médicamenteuses: le rôle des CYP450". LYON: s.n., (2002).
- [11]-Klein K, Zanger UM. Pharmacogenomics of Cytochrome P450 3A4: Recent Progress Toward the "Missing Heritability" Problem. *Frontiers in genetics.*(2013); 4 .p12.
- [12]-Ortiz de Montellano PR. *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry.* Fourth edition ed. Switzerland: Springer International Publishing; (2015).p 912.
- [13]-Pereira de Sousa I, Bernkop-Schnurch A. Pre-systemic metabolism of orally administered drugs and strategies to overcome it. *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society.*(2014); 192 .p 9.

- [14]-Paine MF, Hart HL, Ludington SS, Haining RL, Rettie AE, Zeldin DC. The human intestinal cytochrome P450 "pie". *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals.* (2006); 34 .p 6.
- [15]-Danielson PB. The Cytochrome P450 Superfamily: Biochemistry, Evolution and Drug Metabolism in Humans. *Current drug metabolism.* (2002); 3 p 97.
- [16]-Gavhane YN, Yadav AV. Loss of orally administered drugs in GI tract. *Saudi pharmaceutical journal: SPJ: the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society.* (2012); 20 .p 44.
- [17]- Benchoucha R., *Cour biochimie, 1er année médecine.*
- [18]-Gorinstein S, Yamamoto K, Katrich E et al. Antioxidative properties of Jaffa sweeties and grapefruit and their influence on lipid metabolism and plasma antioxidative potential in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* (2003); 67 .p 10.
- [19]-a et b(en) [PDF] G Gattuso, D Barreca, C Gargiulli, U Leuzzi, C Caristi. Review Flavonoid Composition of Citrus Juices. [archive] *Molecules*, (2007); 12 .p1641.
- [20]-Dugrand-Judek, A; Olry, A; Hehn, A Costantino, G; Ollitrault, P; Froelicher, Y; Bourgaud, F "*The Distribution of Coumarins and Furanocoumarins in Citrus Species Closely Matches Citrus Phylogeny and Reflects the Organization of Biosynthetic Pathways*". *PLoS One* (2015).; 10 .
- [21]-Edwards, D. J.; Bellevue, F. H.; Woster, P. M. "*Identification of 6',7'-dihydroxybergamottin, a cytochrome P450 inhibitor, in grapefruit juice*". *Drug Metabolism and Disposition.* (1996); 24 . p 1287.
- [22]-Bailey, David G.; Malcolm, J.; Arnold, O.; Spence, J. David "*Grapefruit juice-drug interactions*". *Br J Clin Pharmacol*; (1998). 46 .p 101.
- [23]-Girenavar, Basavaraj; Poulouse, Shibu M.; Jayaprakasha, Guddadarangavvanahally K.; Bhat, Narayan G.; Patil, Bhimanagouda S. "*Furocoumarins from grapefruit juice and their effect on human CYP 3A4 and CYP 1B1 isoenzymes*". *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* (2006).;14 .p 2606 .
- [24]- Chiandotto D. Thèse de doctorat. "*Interaction médicaments et aliments : cas du jus de pamplemousse*". Grenoble. (2001)
- [25]-Institut des nutraceutiques et des aliments fonctionnels. Pamplemousse et Pomélo. *Passeport Santé.net.* (2011).
- [26]-Sitzia, Gael. *Aliments et médicaments: comment éviter les interactions? s.l :J. Lyon,* (2009).p 98.
- [27]-Lohezic-Ledevehat, F, et al. "*Jus: une association à surveiller?* ". *Thérapie.* (2002); 57 .p 432.
- [28]-AFSSAPS. "*Interaction médicaments et jus de pamplemousse-Mise au point*". *Afsapps.fr.* 2008.
- [29]-Bailey, D.G, Bend, J. R et Dresser, G.K. "*Bergamottine, lime juice, and red wine as inhibitor of cytochrome P450 3A4 activity: comparaison with grape fruit juice*". *Clinical Pharmacology &*

Therapeutics.(2003); 73.p 529.

[30]-Mertens-Talcott,SU, et al."Grapefruit-drug interactions: can interactions with drugs be avoided?."

Journal of Clinical Pharmacology .(2006); 46 .p 1390.

## 1- Introduction

L'objectif de notre travail est d'identifier les constituants de jus de pamplemousse responsable de l'inhibition des CYPs afin de prédire l'action de jus de pamplemousse sur les CYPs et sur le métabolisme des médicaments avec lesquels il interagit. Pour cela, nous avons réalisés le Docking moléculaire pour chaque récepteur avec les constituants de jus de pamplemousse inhibiteurs d'une part et entre le CYP et les médicaments d'autre part.

## 2- Présentation des molécules étudiées

### 2.1-Récepteur

Parmi les complexes proposés par la PDB, nous avons choisi le code 4I3Q et 1TQN et 1W0E. Chacune de ces structures correctement définies contient un seul ligand :

- **4I3Q** : Ce code représente la structure 3D de cytochrome p450 3A4 constituée d'une seule chaîne (A) dans laquelle se trouve le HEM (Protoporphyrine IX) avec une résolution de 2.602 Å.
- **1TQN** : Ce code représente la structure 3D de cytochrome p450 3A4 constituée d'une seule chaîne (A) dans laquelle se trouve le HEM (Protoporphyrine IX) avec une résolution de 2.05 Å.
- **1W0E** : Ce code représente la structure 3D de cytochrome p450 3A4 constituée d'une seule chaîne (A) dans laquelle se trouve le HEM (Protoporphyrine IX) avec une résolution de 2.8 Å.

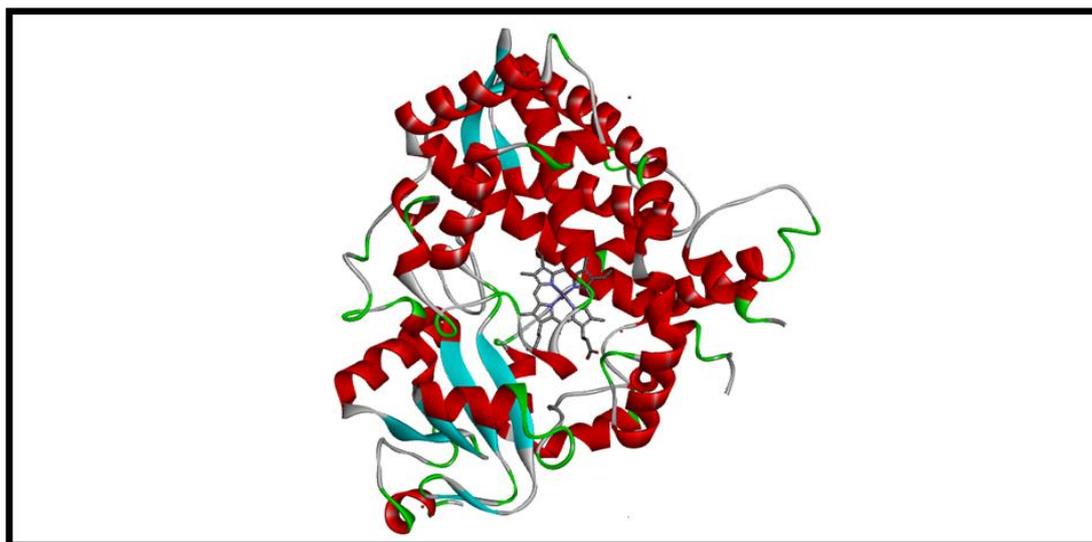
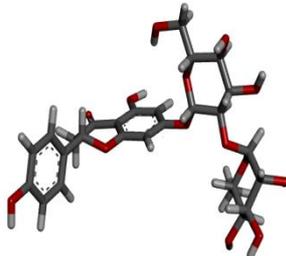
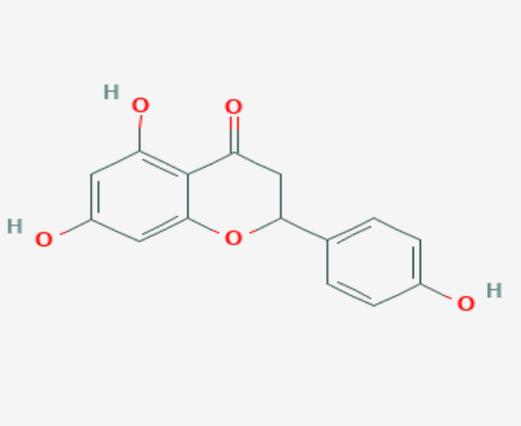
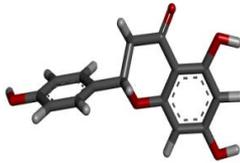


Figure 01 : structure de CYP 3A4

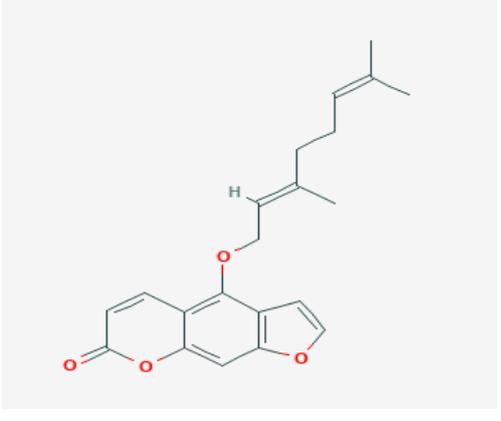
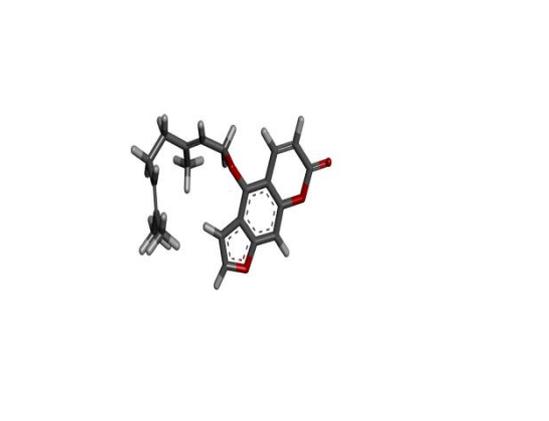
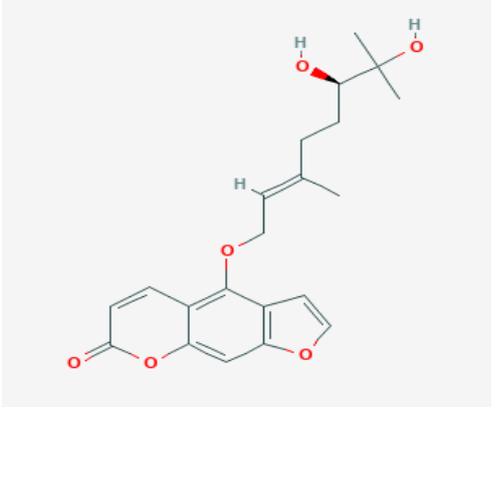
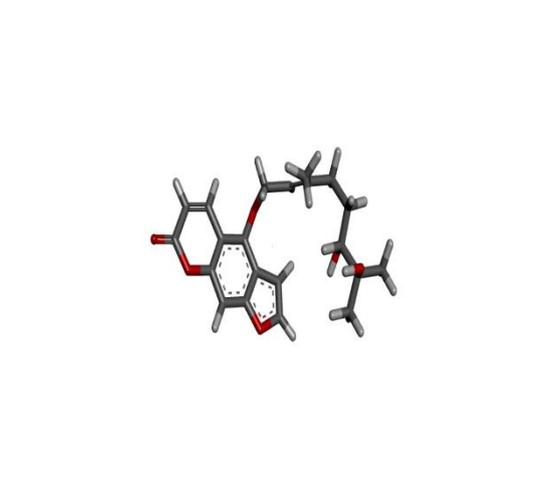
## 2.2-Les inhibiteurs

Dans ce travail nous avons étudié quatre composés du jus de pamplemousse : deux furanocoumarines et deux flavanones

Tableau 01 : la structure des inhibiteurs

Ligand	Structure 2D	Structure 3D
<b>Les flavanones</b>		
Naringine		
Naringénine		

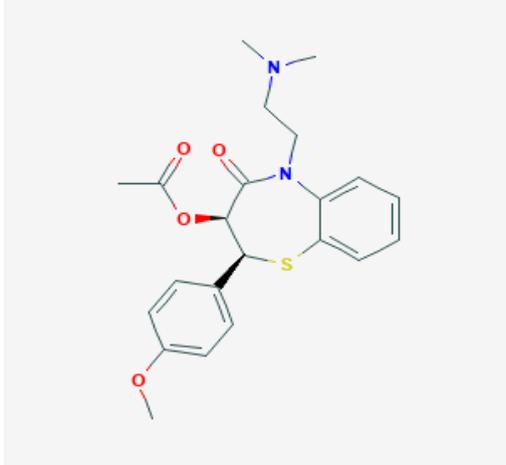
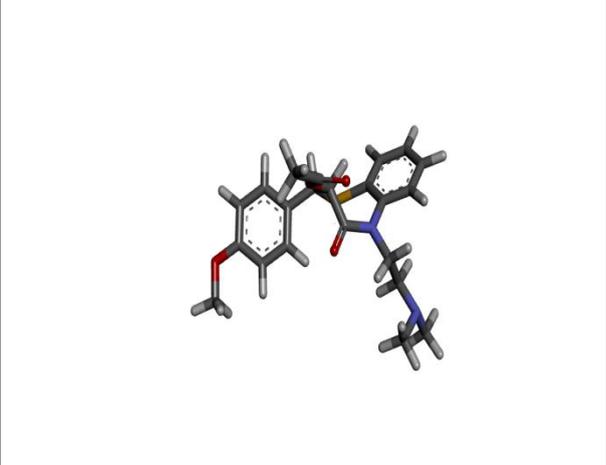
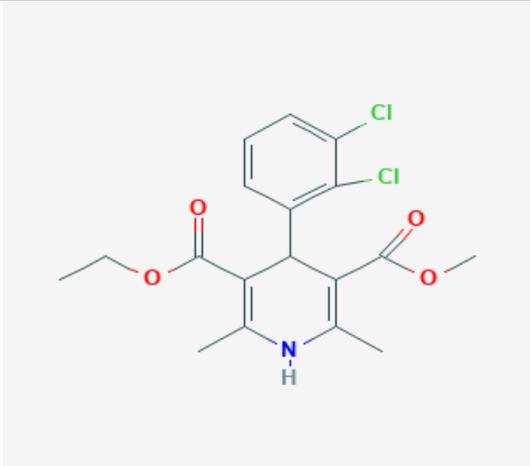
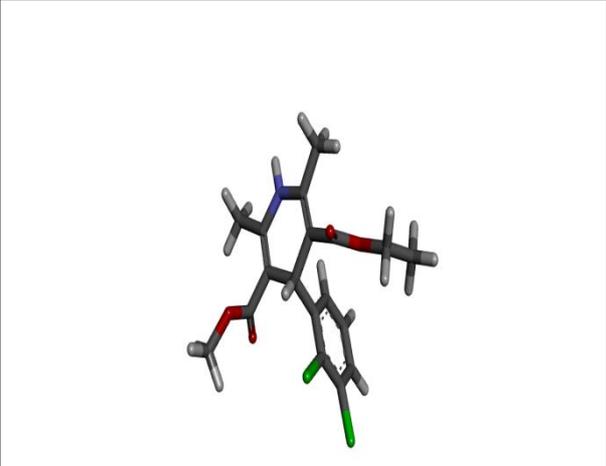
Les furanocoumarines

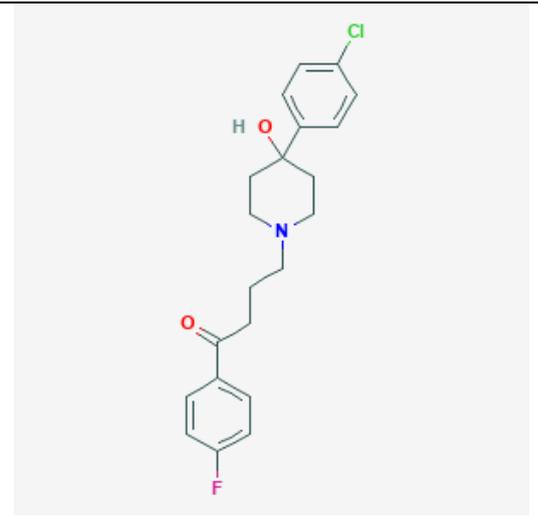
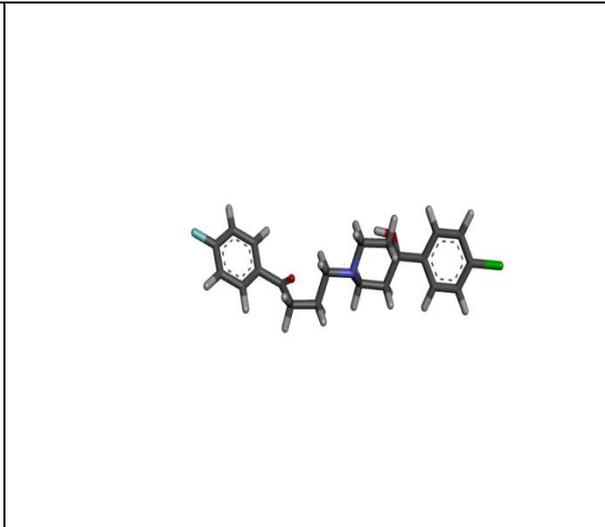
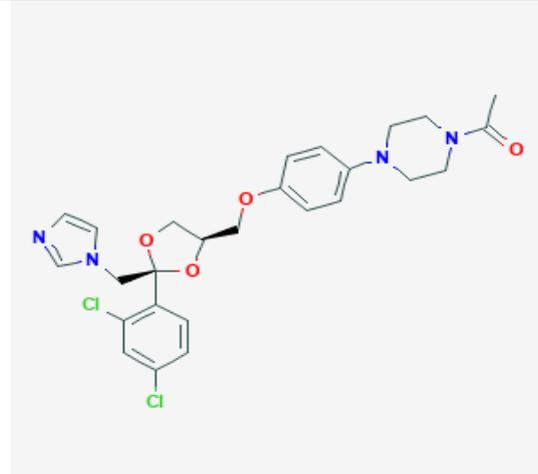
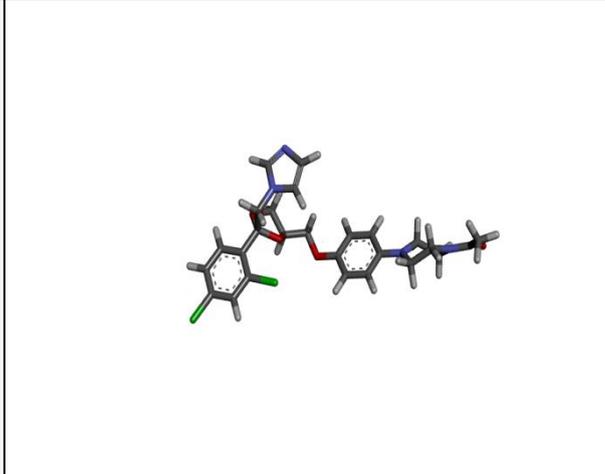
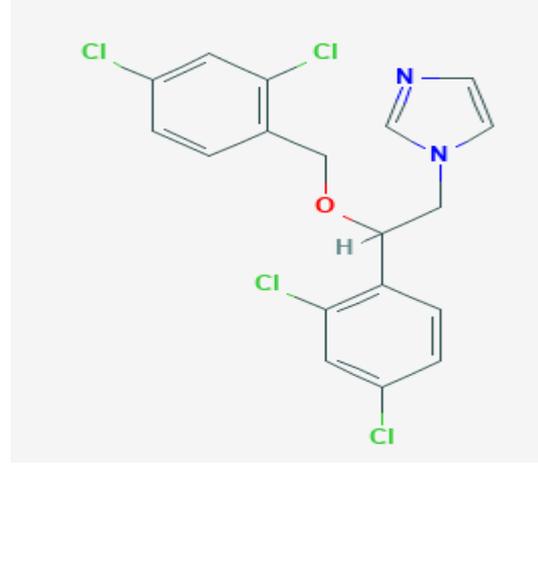
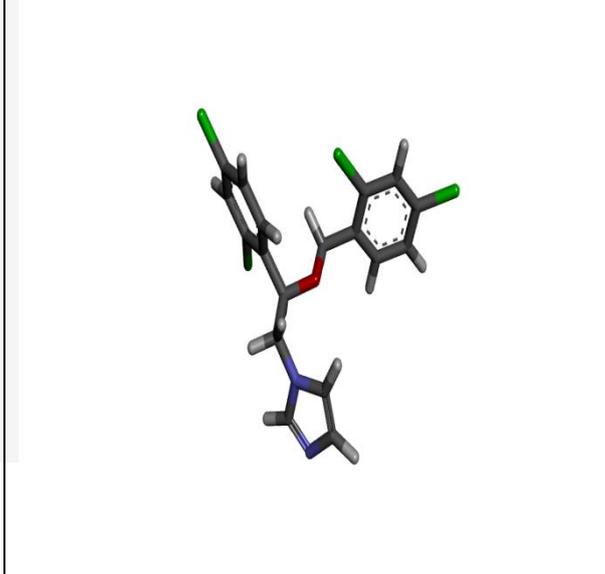
<p>Bergamottine</p>	 <p>The image shows the chemical structure of Bergamottine, a furanocoumarin. It consists of a coumarin core with a furan ring fused to the 2-position. A side chain is attached at the 7-position, featuring a trans-alkene and a terminal isopropenyl group.</p>	 <p>The image shows a 3D ball-and-stick model of Bergamottine. Carbon atoms are represented by grey spheres, oxygen atoms by red spheres, and hydrogen atoms by white spheres. The model illustrates the spatial arrangement of the atoms in the molecule.</p>
<p>DHB</p>	 <p>The image shows the chemical structure of DHB (Dehydrobergamottine). It has the same furanocoumarin core as Bergamottine, but the side chain is saturated and ends in a tert-butyl group. The stereochemistry at the chiral center is indicated with a wedge bond for the hydrogen atom.</p>	 <p>The image shows a 3D ball-and-stick model of DHB. Carbon atoms are represented by grey spheres, oxygen atoms by red spheres, and hydrogen atoms by white spheres. The model shows the spatial arrangement of the atoms, highlighting the saturated side chain and the tert-butyl group.</p>

### 2.3-Les médicaments

Nous avons étudié cinq médicaments, les structures 2D et 3D sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 02** : la structure des médicaments

Ligand	Structure 2D	Structure 3D
Diltiazem	 <p>The 2D chemical structure of Diltiazem shows a central 1,5-benzothiazepine ring system. It features a dimethylaminoethyl group attached to the nitrogen atom, a methyl ester group, a 4-methoxyphenyl group, and a phenyl ring fused to the benzothiazepine system.</p>	 <p>The 3D ball-and-stick model of Diltiazem illustrates the spatial arrangement of atoms, showing the three-dimensional conformation of the benzothiazepine core and its various substituents.</p>
Féلودipine	 <p>The 2D chemical structure of Féلودipine is a 1,4-dihydropyridine derivative. It has a 2,6-dichlorophenyl group at the 4-position, a methyl group at the 2-position, and ethyl and methyl ester groups at the 3 and 5 positions, respectively.</p>	 <p>The 3D ball-and-stick model of Féلودipine shows the spatial orientation of the dihydropyridine ring and its substituents, including the two chlorine atoms on the phenyl ring.</p>

<p>Halopéridole</p>	 <p>The chemical structure of Haloperidol is shown. It features a central piperidine ring with a hydroxyl group (-OH) at the 4-position and a 4-chlorophenyl group at the 1-position. A propyl chain is attached to the nitrogen of the piperidine ring, which is terminated by a 4-fluorophenyl group.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of Haloperidol is shown, illustrating the spatial arrangement of the atoms. Carbon atoms are grey, hydrogen atoms are white, oxygen atoms are red, nitrogen atoms are blue, and chlorine and fluorine atoms are green.</p>
<p>Ketoconazole</p>	 <p>The chemical structure of Ketoconazole is shown. It consists of a central 1,2,4-triazole ring connected to a 2,4-dichlorophenyl group. This is further linked to a 1,2,4-triazole ring, which is connected to a piperazine ring. The piperazine ring has an acetyl group (-COCH<sub>3</sub>) attached to one of its nitrogens.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of Ketoconazole is shown, illustrating the spatial arrangement of the atoms. Carbon atoms are grey, hydrogen atoms are white, oxygen atoms are red, nitrogen atoms are blue, and chlorine atoms are green.</p>
<p>Miconazole</p>	 <p>The chemical structure of Miconazole is shown. It features a central 1,2,4-triazole ring connected to a 2,4-dichlorophenyl group. This is further linked to a 1,2,4-triazole ring, which is connected to a piperazine ring. The piperazine ring has an acetyl group (-COCH<sub>3</sub>) attached to one of its nitrogens.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of Miconazole is shown, illustrating the spatial arrangement of the atoms. Carbon atoms are grey, hydrogen atoms are white, oxygen atoms are red, nitrogen atoms are blue, and chlorine atoms are green.</p>

### 3- Méthodologie

#### 3.1-Logiciel

Nous avons utilisé Autodock-vina[1], un logiciel d'amarrage moléculaire très répandu et connu par sa fiabilité et son pouvoir de reproduire les ligands déjà complexés et utilisé dans le docking moléculaire.

Autodock Vina utilise un algorithme de recherche d'optimisation globale stochastique de type Iterated Local [2]. La fonction de scoring utilisée par Autodock Vina permet de faire la somme des contributions intramoléculaires et intermoléculaires du système d'une manière inspirée par le programme Xscore [3] qui utilise une fonction de score empirique. Elle combine ainsi les avantages des fonctions de score empiriques et knowledge-based [1].

#### 3.2- Préparation des protéines

*Protein Data Bank* ou PDB est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (structure 3D) de macromolécules biologiques : protéines essentiellement, et acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN.

Le fichier du récepteur utilisé par AutoDock doit être sous format *pdb*. En consultant la banque PDB, il est possible de télécharger le fichier du récepteur, les enzymes dans notre cas (cyp p450), dans le format *pdb*. Parmi les nombreux complexes proposés par la PDB, nous avons choisi les codes 4I3Q 1TQN et 1W0E. Avant son utilisation par AutoDock, chaque complexe est séparé de son ligand afin d'obtenir un récepteur avec un site actif libre. Le récepteur est ensuite préparé en définissant les charges partielles de ses atomes par l'intermédiaire du sous-programme AutoTools qui attribue des charges de type "Kollman" calculées avec le champ de forces empirique MMFF.

Il est aussi nécessaire de rajouter à ce récepteur les hydrogènes dits polaires c'est-à-dire « essentiels ». Le fichier de la protéine ainsi préparée est converti par Vina au format *pdbqt* qui correspond aux données des charges. Enfin, on intègre dans ce fichier les paramètres de solvation des atomes avant de l'enregistrer dans le format *pdbqt* (format propre à AutoDock).

### 3.3-Préparation des ligands

Les ligands étudiés ont été téléchargés via la chimiothèque PUBCHEM puis optimisés avec la méthode semi empirique (PM3) implanté dans le logiciel Gaussian09 pour trouver les conformations les plus stables

Les molécules ainsi obtenues sont enregistrées en format pdb. La phase finale de préparation du ligand est réalisée par le sous-programme vina. Ce dernier a pour rôle de contrôler les mouvements du ligand, en définissant les atomes aromatiques, les liaisons flexibles et les angles de torsion. La molécule finale est enregistrée en format pdbqt avant son utilisation par AutoDock.

### 3.4- Calcul des grilles de potentiel

Pour augmenter la vitesse d'évaluation de l'énergie du système, le récepteur est plongé dans une grille tridimensionnelle englobant largement le site actif de la protéine étudiée et permettant la libre rotation du ligand dans ce site. Le centre de cette boîte est déterminé par les coordonnées X et Y et Z avec les dimensions Å<sup>3</sup>. L'espacement ou la maille de la grille est fixé 1 Å. La boîte est alors centrée sur le ligand et ses dimensions sont proportionnelles à la taille de tous les ligands étudiés.

**Tableau 03:** La boîte GRID BOX des enzymes

Récepteur	Centre X (Å)	Centres Y (Å)	Centre Z (Å)	Dimensions (Å <sup>3</sup> )
4I3Q	12.865	21.995	-7.759	26x26x26
1TQN	-13.635	-21.243	-10.437	31x31x31
1W0E	53.878	79.801	10.211	28x28x28

## 4- Résultats et discussion

### 4.1- Le RMSD

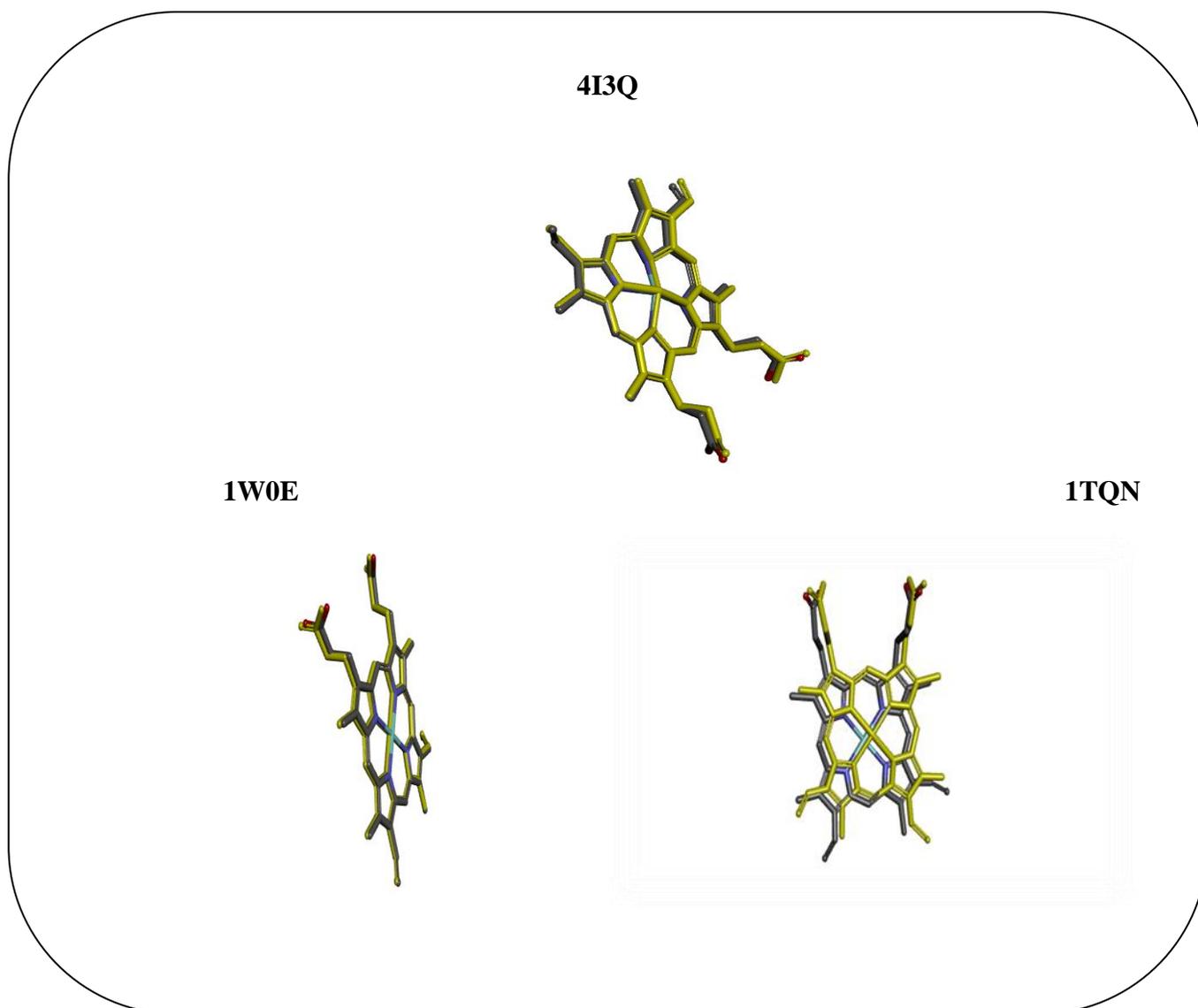
Souvent, les performances d'un programme de Docking moléculaire sont évaluées en termes de capacité à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux. Autrement dit, il faut que l'évaluation quantitative de la déformation spatiale entre la pose du ligand calculée par AutoDock et la conformation dans le complexe expérimental soit la plus petite possible. Pour cela, on utilise une grandeur scalaire : RMSD

Le RMSD correspond à la moyenne de la déviation de chacun des atomes du ligand (ligand docké) par rapport à ceux de la molécule d'origine (le ligand de référence).

Le positionnement, c'est-à-dire l'identification correcte du site de liaison sur la protéine, l'orientation et la conformation du ligand influent sur la valeur du RMSD. La prédiction est acceptable si sa valeur ne dépasse pas 2 angströms.

**Tableau 04:** RMSD du quelques complexe protéine-ligand

Code PDB	Code des ligands	RMSD ( Å)
4I3Q	HEM 601	0.29
1TQN	HEM 508	0.68
1W0E	HEM	0.25



**Figure 02:** Visualisation des différents complexes de RMSD

#### 4.2-La concentration inhibitrice médiane (IC<sub>50</sub>)

La concentration inhibitrice médiane (IC<sub>50</sub>) est une mesure de l'efficacité d'un composé donné pour inhiber une fonction biologique ou biochimique spécifique. Souvent, le composé en question est un éventuel médicament. Cette mesure quantitative indique quelle quantité d'un médicament ou d'une autre substance (inhibiteur) est nécessaire pour inhiber à moitié un processus biologique donné (ou un élément d'un processus, par exemple une enzyme, un paramètre cellulaire, un récepteur cellulaire ou un microorganisme. En d'autres termes, c'est la demi (50 %) concentration inhibitrice (IC) d'une substance (IC à 50 %, ou IC<sub>50</sub>).

### 4.3-Docking du cytochrome P450 3A4

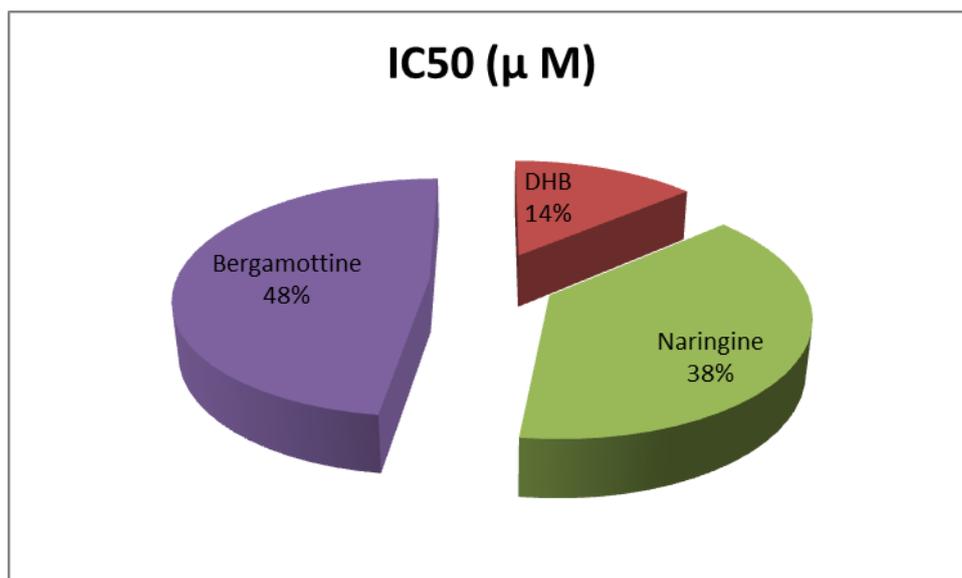
Dans le but de connaître les constituants du jus de pamplemousse responsables de l'inhibition des CYP 3A4 et de l'interaction médicamenteuse, nous avons Docker chaque composé de jus avec les récepteurs CYP 3A4. En parallèle, le Docking a été réalisé entre les récepteurs CYP 3A4 et quelques médicaments.

**Tableau 05:** Résultats de Docking moléculaire des constituants de jus de pamplemousse

inhibiteurs	4I3Q	1TQN	1W0E
Naringine	-9.5	-10.3	-10.1
Bergamottine	-9.1	-9.3	-10.1
DHB	-9.7	-9.4	-8.3
Naringénine	-9.4	-9.9	-9.3

**Tableau 06:** Valeurs d'IC50 expérimentaux de des inhibiteurs

Inhibiteurs	IC50 (μ M)
Naringénine	37.9 [4]
DHB	1.3 [5]
Naringine	3.6 [6]
Bergamottine	4.5 [5]



**Figure 03:** Valeurs expérimentales en pourcentage d'IC50 des Inhibiteurs.

D'après les tableaux 4 et 5, parmi les inhibiteurs (constituants de jus de pamplemousse), la DHB dont la valeur d'IC50 est égale à 1.3 µm présente la meilleure affinité vis-à-vis le CYP3A4 (4I3Q) avec une énergie d'interaction égale -9.7 Kcal / mol. Donc, on peut constater que le DHB présente la meilleure activité inhibitrice du CYP 3A4 (4I3Q) par rapport aux autres constituants de jus de pamplemousse

Pour le CYP (1TQN), la Naringine (IC50 est égale à 3.6 µm) présente la meilleure affinité avec une énergie d'interaction égale -10.3 Kcal / mol. Par conséquent, on constate que le naringine présente la meilleure activité inhibitrice du CYP (1TQN).

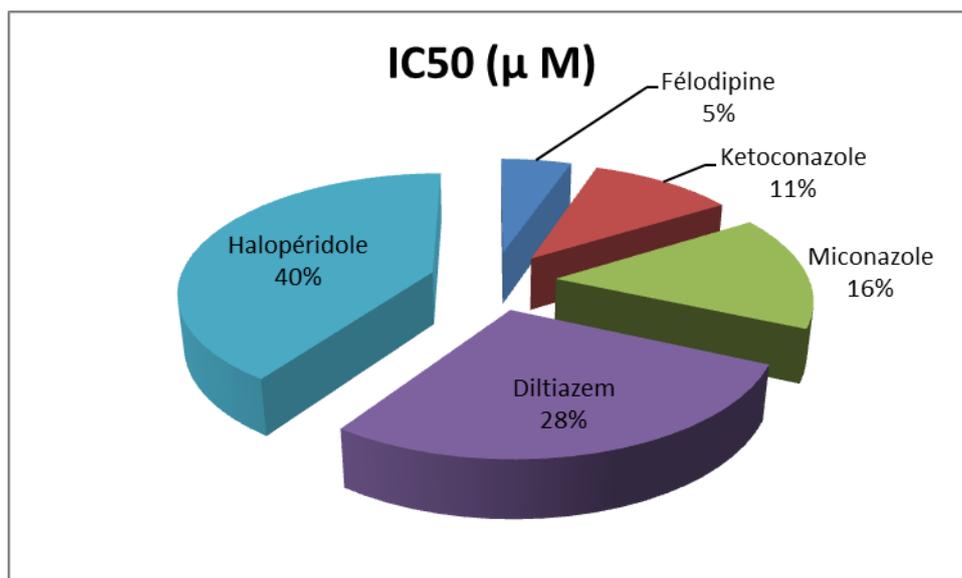
Cependant, la meilleure affinité vis-à-vis au CYP3A4 (1W0E) a été observé avec la Bergamottine (IC50 est égale à 4.5 µm) et la naringine (IC50 est égale à 3.6 µm), l'énergie d'interaction des deux complexes est égale -10.1 Kcal / mol). De point de vue énergétique, les deux constituants ont la même activité inhibitrice de ce CYP, d'où la nécessité d'une analyse structurale des deux complexes.

Tableau 07: Résultats de Docking moléculaire des médicaments

médicaments	4I3Q	1TQN	1W0E
Féلودipine	-7.3	-8.9	-8.9
Miconazole	-9.7	-8.5	-10.1
Diltiazem	-8.7	-10.6	-7.7
Halopéridole	-8.8	-10.4	-9.3
Ketoconazole	-9.5	-9.9	-12

Tableau 08: Valeurs d'IC50 expérimentaux des médicaments

médicaments	IC50 ( $\mu$ M)
Féلودipine	6.8 [7]
Ketoconazole	14 <sub>[8]</sub>
Miconazole	20 <sub>[8]</sub>
Diltiazem	36 <sub>[9]</sub>
Halopéridole	52 <sub>[10]</sub>



**Figure 04:** Valeurs expérimentales en pourcentage d'IC50 des médicaments.

Sur la base de l'affinité vis-à-vis aux récepteurs, nous avons pu classer les médicaments par ordre décroissant pour chaque cytochrome :

**4I3Q :** Miconazole > Ketoconazole > Halopéridole > Diltiazem > Félodipine

**1TQN :** Diltiazem > Halopéridole > Ketoconazole > Félodipine > Miconazole

**1W0E :** Ketoconazole > Miconazole > Halopéridole > Félodipine > Diltiazem

Par comparaison des valeurs d'IC50, ces ordres ont été vérifiés et nous avons choisi pour chaque récepteur CYP le médicament de faible affinité qui peut être inhiber par l'un des constituants de jus de pamplemousse.

Pour le 4I3Q, le felodopine présente la plus faible affinité égale  $-7.3$  Kcal / mol avec une valeur d'IC50 égale à  $6.3 \mu\text{m}$ .

Le Miconazole et le ketoconazole présentent des valeurs d'IC50 de  $14 \mu\text{m}$  et  $20 \mu\text{m}$ , respectivement. Leurs complexes formés avec le CYP (1TQN) ont des énergies d'interaction égale  $-8.5$  et  $-9.9$  Kcal / mol.

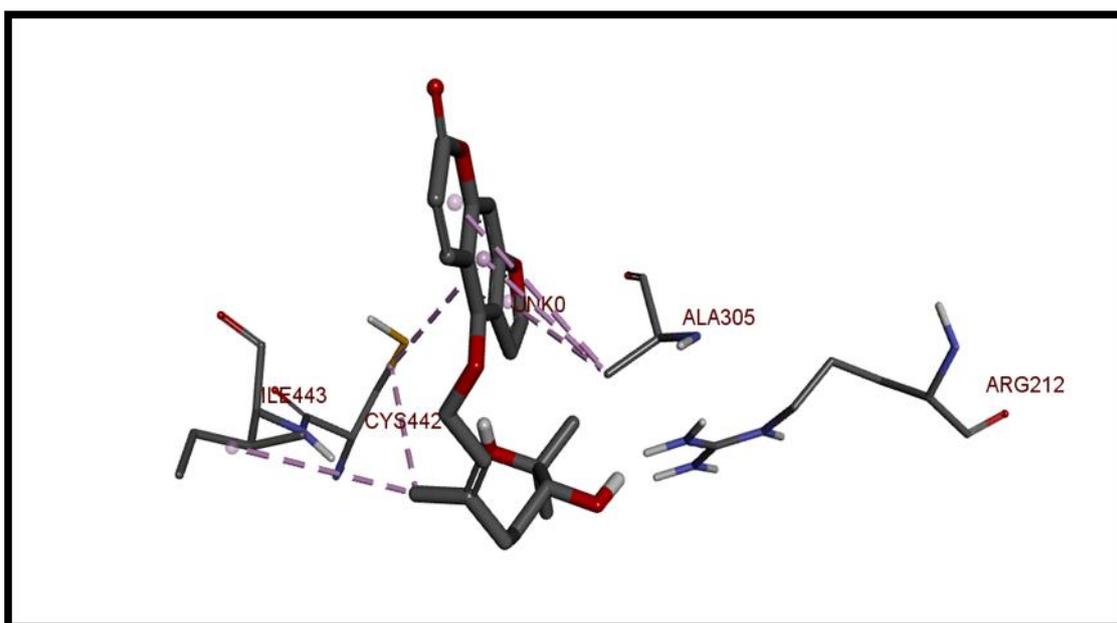
Tandis que le 1W0E forme un complexe avec le Diltiazem (IC50 égale à  $36 \mu\text{m}$ ) avec une énergie d'interaction égale  $-8.7$  Kcal / mol.

Les résultats de Docking réalisés entre le CYP et le constituant de jus de pamplemousse d'une part et entre ce récepteur et le médicament d'autre part montrent que le complexe CYP-inhibiteur est plus stable que CYP- médicament.

#### 4.4-Interactions des CYP 4I3Q :

##### a) Interaction avec la DHB

L'arrimage du complexe 4I3Q-DHB a fourni les modes d'interaction illustrés dans la figure 05. Le complexe 4I3Q-DHB est stabilisé par trois liaisons hydrophobes formées avec les résidus ALA 305, ILE 443, CYS 442 (Voir Annexe 01). Ces points de fixation du DHB sont identiques à ceux identifiés dans le site actif naturel (4I3Q).

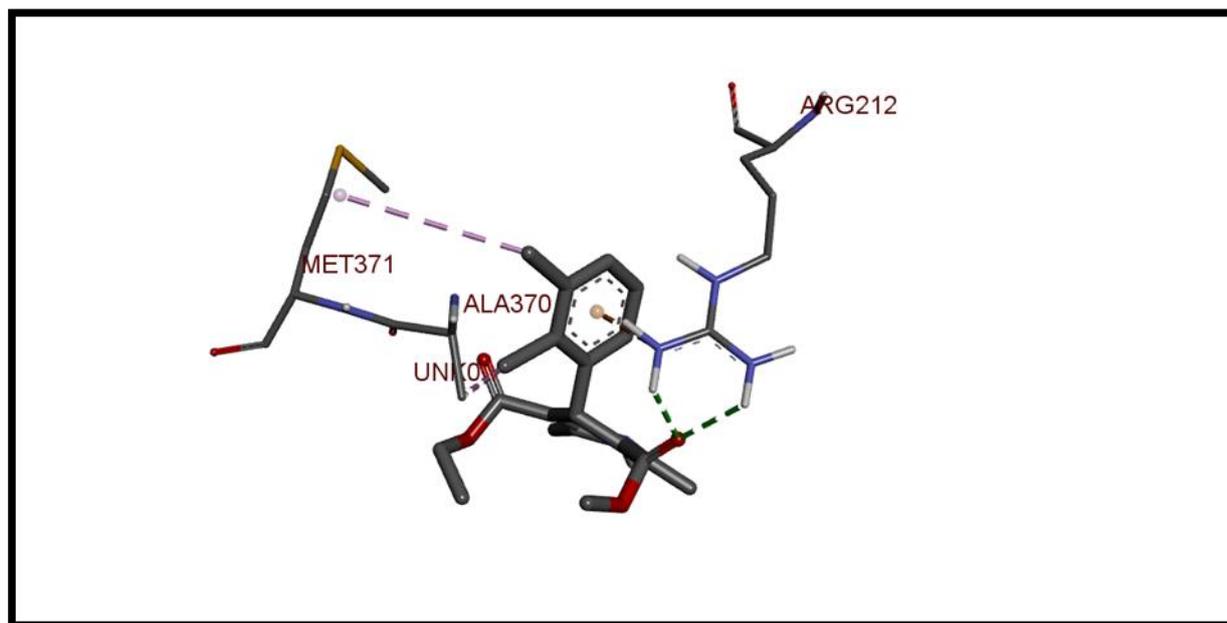


**Figure 05 :** Mode d'interaction 4I3Q - DHB

D'après ces résultats, nous pouvons remarquer que l'inhibition de 4I3Q par la DHB est établie par des interactions du type hydrophobe.

## b) Interaction avec le Félodipine

Les modes d'interaction qui régissent la formation du complexe 4I3Q-Félodipine (La figure 06) présentent deux liaisons hydrophobe formées avec les résidus ALA 370, MET 371 et une liaison hydrogène ARG 212 et une liaison électrostatique ARG 212 (Voir Annexe 01). Cependant, il y a un seul point de fixation du féلودipine (ALA 370) identique à celui identifié entre site actif naturel (4I3Q) et le HEM.



**Figure 06** : Mode d'interaction 4I3Q – Felodipine

D'après les résultats précédents, le complexe CYP-DHB s'avère plus stable que CYP-Félodipine de point de vue structurale et énergétique. On peut confirmer que la DHB est un des composants du jus de pamplemousse responsable de l'interaction.

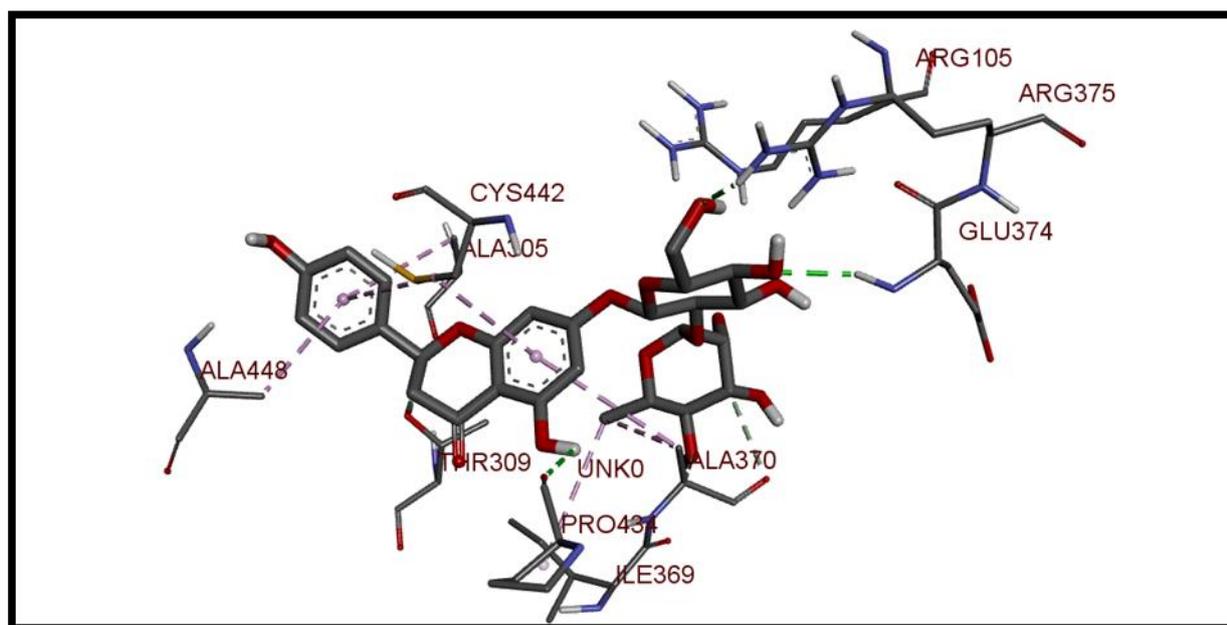
## 4.5-Interactions des CYP 1TQN

### a) Interaction avec Naringine

L'analyse visuelle du complexe 1TQN-Naringine (figure 07), nous montre trois liaisons hydrogène GLU 374, ARG 375, PRO 434 et cinq liaisons hydrophobe formées avec les résidus ALA 305, ALA 448, CYS 442, ALA 370, ILE 369 (Voir Annexe 02).ces dernières (hydrophobes) sont identiques à celles identifiées entre site actif naturel (1TQN) et le HEM

Dans ce qui suit, nous avons représenté les liaisons hydrogènes en ligne discontinues de couleur verte, les interactions hydrophobiques en violet.

Les figures suivantes schématisent et résument les différentes interactions trouvées :



**Figure 07 :** Mode d'interaction 1TQN –Naringine

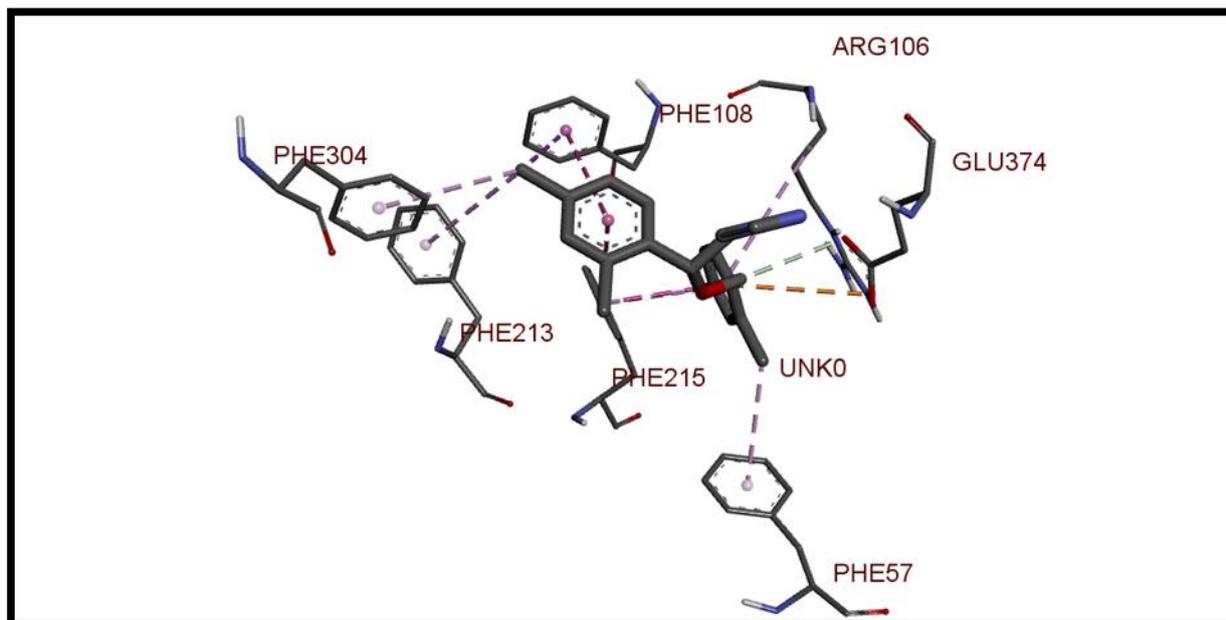
### b) Interactions avec Miconazole et kétoconazole

Le Docking moléculaire du Miconazole et le kétoconazole avec 1TQN a fourni les modes d'interaction illustrés dans les figures 08 et 09.

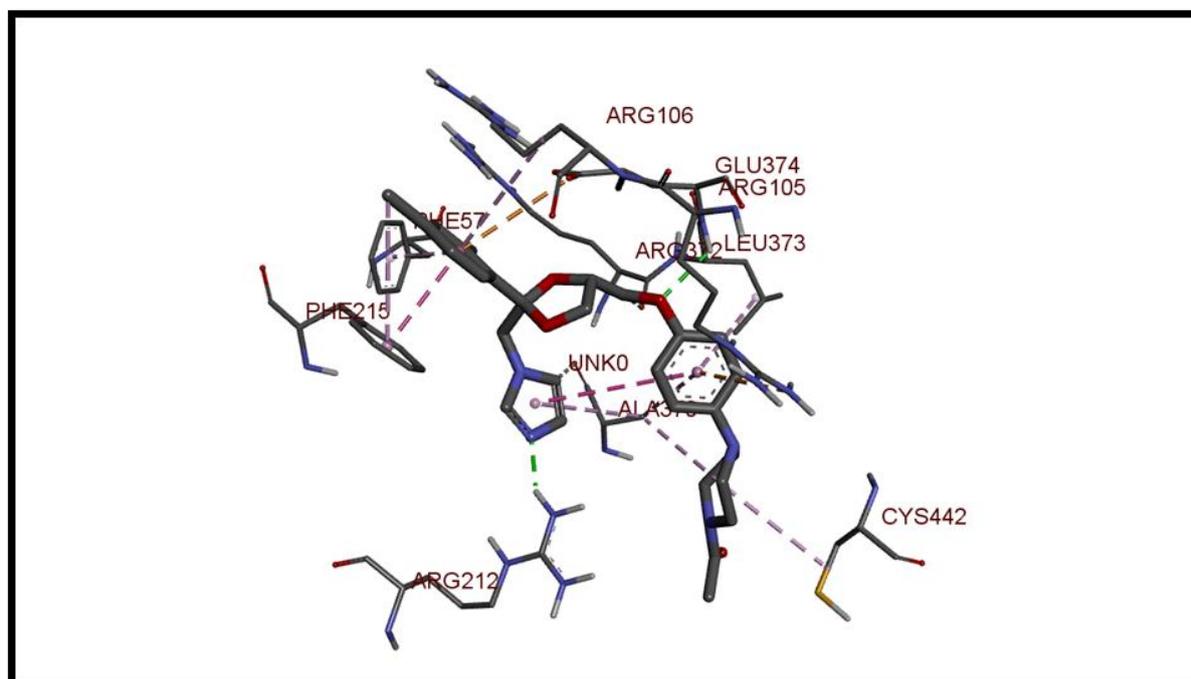
Le complexe 1TQN-Miconazole est stabilisé par une liaison hydrophobe formée avec le résidu GLU 374, liaison électrostatique ARG 106 et des liaisons hydrogène ARG 106, PHE 108, PHE 304, PHE 213, PHE 215, PHE 57 (Voir Annexe 02). Mais aucun point de fixation du Miconazole identique à celui identifié entre site actif naturel (1TQN) et le HEM.

Tandis que, Le complexe 1TQN avec le kétoconazole possède deux points de fixation identiques avec le ligand naturel.

Le complexe 1TQN-kétoconazole ainsi formé montre la présence des liaisons hydrophobe formée avec les résidu CYS 442, ALA 370, LEU 373, PHE 215, ARG 106, PHE 57, deux liaisons électrostatique ARG 105, GLU 374, et des liaisons hydrogène ARG 212, GLU 374, ARG 372, ALA 370 (Voir Annexe 02).



**Figure 08:** Mode d'interaction 1TQN – Miconazole



**Figure 09:** Mode d'interaction 1TQN – kétoconazole

D'après ces résultats, le complexe Naringine-CYP est plus stable que les complexes formés entre Miconazole et Kétoconazole avec le CYP. Donc, la naringine peut inhiber le CYP et interagir avec le Miconazole et le kétoconazole.

## 4.6-Interactions des CYP 1W0E

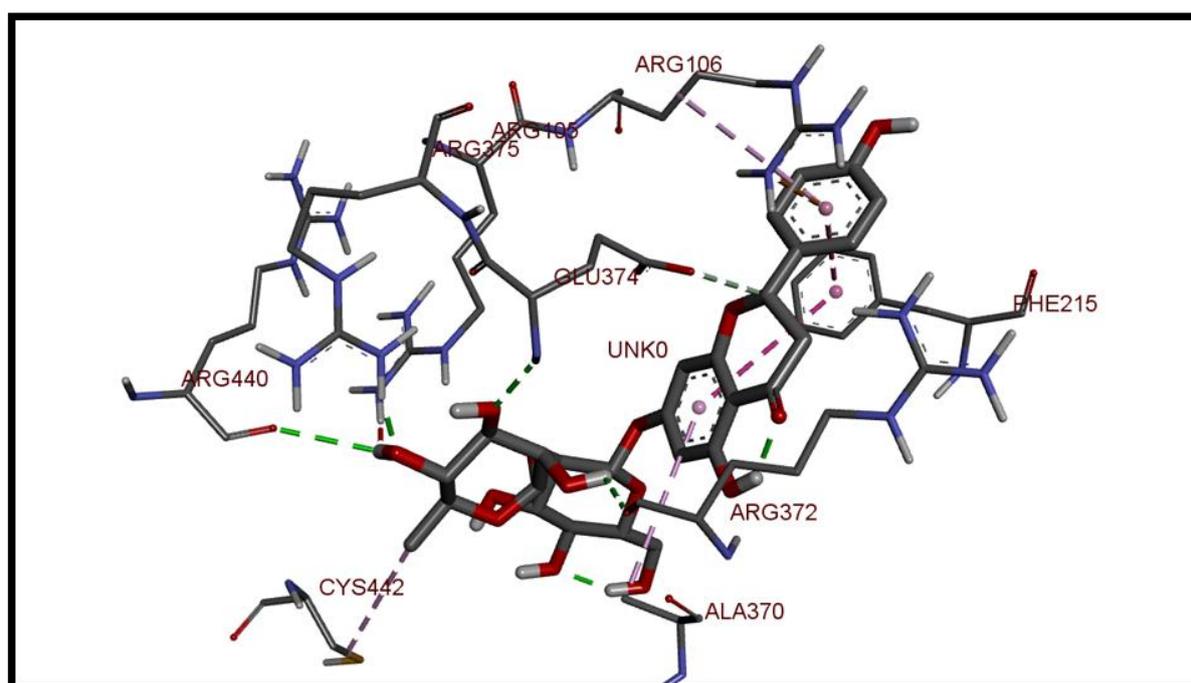
### a) Interaction avec Naringine et Bergamottine

Le Docking moléculaire du Naringine et du Bergamottine avec 1TQN a fourni les modes d'interaction illustrés dans les figures 10 et 11.

Le complexe 1W0E-Naringine est stabilisé par quatre liaisons hydrophobe formées avec les résidus ALA 370, ARG 106, PHE 215, CYS 442, liaison électrostatique ARG 106, et quatre liaisons hydrogène ARG 440, ARG 375, GLU 374, ARG 372 (Voir Annexe 03). Trois points de fixation du naringine (hydrogène ARG 440, et hydrophobe ALA 370, CYS 442) identiques à ceux identifiés entre site actif naturel (4I3Q) et le HEM ont été observé.

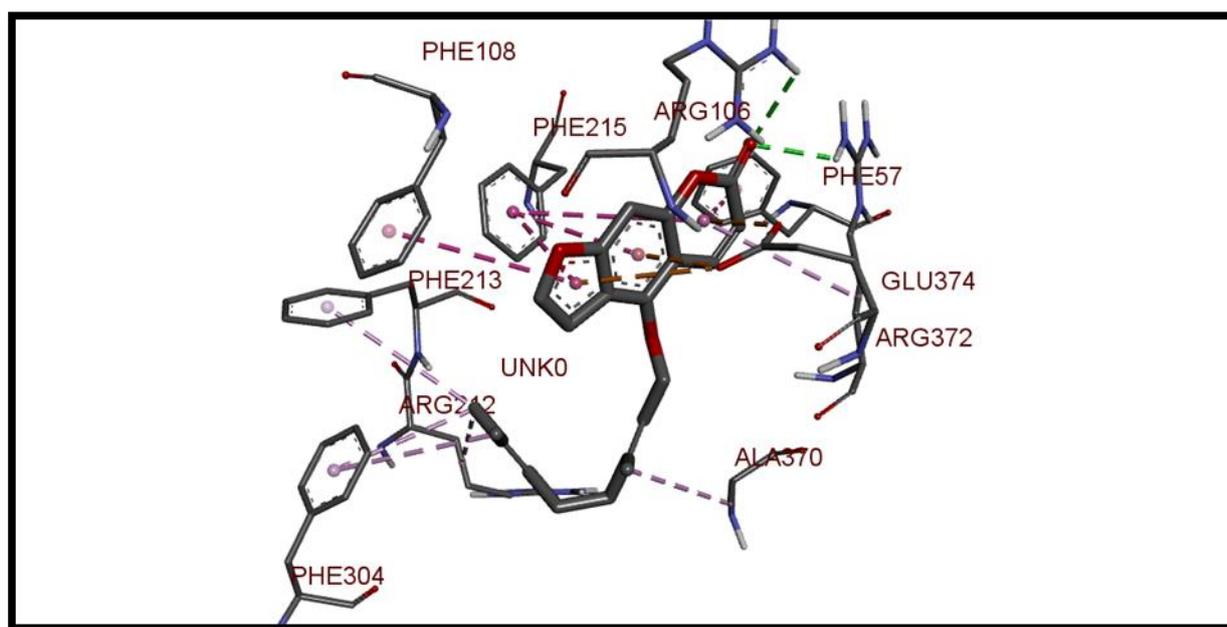
Dans ce qui suit, nous avons représenté les liaisons hydrogènes en ligne discontinues de couleur verte, les interactions hydrophobiques en violet et les interactions électrostatiques en marron.

Les figures suivantes schématise et résume les différentes interactions trouvées :



**Figure 10 :** Mode d'interaction 1W0E – Naringine

Le complexe 1W0E-Bergamottine est stabilisé par des liaisons hydrophobe formées avec les résidus ALA 370, ARG 212, PHE 215, PHE 108, PHE 57, ARG 372, PHE 213, PHE 304, liaison électrostatique GLU 374, et deux liaisons hydrogène ARG 106, ARG 372 (Voir Annexe 02). Cependant, il y a un seul point de fixation du bergamottine (hydrophobe ALA 370) identique à celui identifié entre site actif naturel (4I3Q) et le HEM.

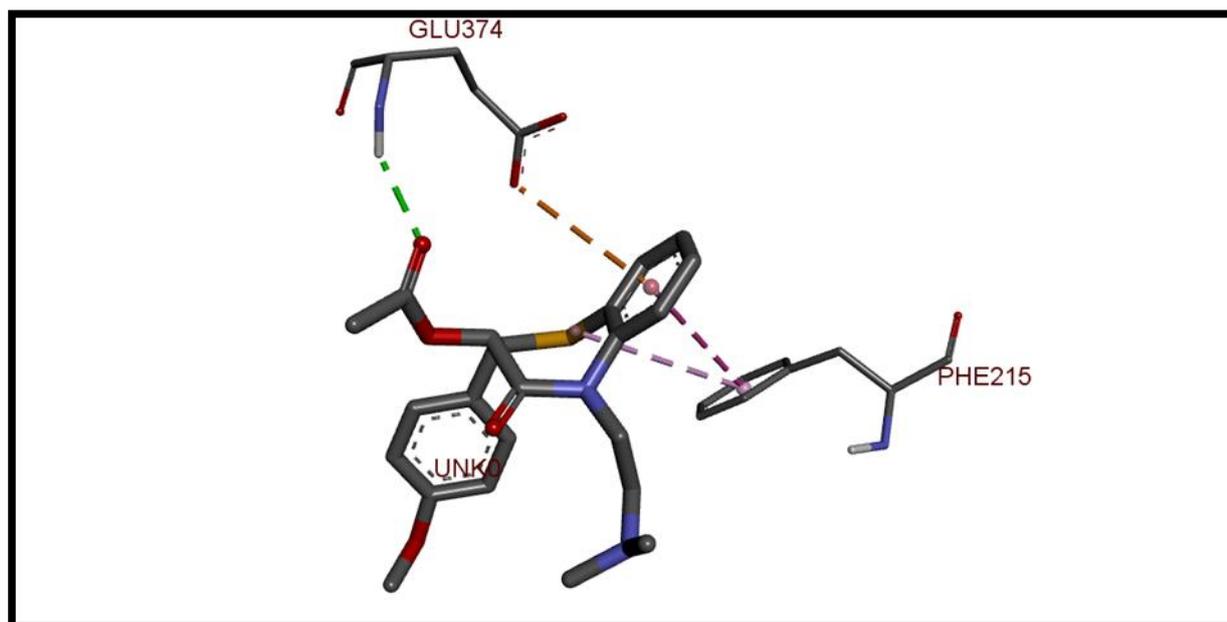


**Figure 11 :** Mode d'interaction 1W0E – Bergamottine

Les résultats d'analyse visuelle montrent que le complexe formé avec la naringine est plus stable que celui de la bergamottine.

### **b) Interaction avec Diltiazem**

Les modes d'interaction qui régissent la formation du complexe 1W0E – Diltiazem (figure 12), nous montre une liaison hydrophobe formée avec le résidu GLU 374, liaison électrostatique GLU 374, et liaison hydrogène ARG 106, PHE 215 (Voir Annexe 02). Mais aucun point de fixation du Diltiazem identique à celui identifié entre site actif naturel (1TQN) et HEM.



**Figure 12 :** Mode d'interaction 1W0E – Diltiazem

De point de vue structurale, le CYP forme un complexe avec la naringine plus stable que celui avec le Diltiazem. Ceci montre que la naringine intervient dans l'inhibition des CYP3A Et dans l'interaction médicamenteuse.

L'analyse visuelle des complexes montrent que le complexe CYP-inhibiteur est stabilisé par des interactions de type hydrophobe par rapport au CYP- médicament.

D'après ces résultats, les furanocoumarines (la DHB et la bergamottine) sont les composants du jus de pamplemousse à être responsables de l'interaction mais ne sont pas les seuls. Ces résultats révèlent aussi une inhibition du métabolisme des molécules des cytochromes P450 3A (CYP3A) par la naringine ce qui est en accord avec les résultats expérimentaux [11-13].

En comparant le jus d'orange et le jus de citron par rapport au jus de pamplemousse, ils contiennent un ou plusieurs composants du jus de pamplemousse responsable de l'interaction en différentes quantité. On peut donc pensé que ces jus peuvent avoir une activité inhibitrice sur les CYPs et sur le métabolisme des médicaments.

## Références

- [1]-Stahl M., Rarey M. 'Detailed analysis of scoring functions for virtual screening'. J. Med. Chem. (2001), 44.p 1035.
- [2]-Chang M.W., Ayeni C., Breuer S., Torbett B.E. 'Virtual screening for HIV protease inhibitors: a comparison of AutoDock 4 and Vina'. PLoS ONE, (2010),5. p11955.
- [3]-Nocedal J., Wright S.J.. Quasi-Newton Methods. 'In Numerical Optimization. T. V. Mikosch, S. I. Resnick, S. M. Robinson (Ed.) '. (2006).
- [4]- Mahrooz.A, Rashidi.M-R, and Nouri.M. Naringenin is An Inhibitor of Human Serum Paraoxonase. Journal of Clinical Laboratory Analysis (2011);25.p395.
- [5]-Anastasia M. Nicole R ..Christiane,L. Dieter S 'Major furocoumarins in grapefruit juice II: Phototoxicity,photogenotoxicity,and inhibitory poency vs. cytochrome P450 3A4 activity'. (2012).
- [6]-Whocely. V, Susanne Mertens.T, Hartmut.D, and Veronika. B " Effect of Grape fruit Juice, Naringin, Naringenin, and Bergamottin on the Intestinal Carrier-Mediated Transport of Talinolol in RatS " (2008).
- [7]- Perez-Reyes.E, Amy L. V D, and Vitko.I. Molecular Pharmacology of Human Cav3.2 T-Type Ca<sup>2</sup> Channels: Block by Antihypertensives, Antiarrhythmics, and Their Analogs. The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics (2009), 328, p 621
- [8]-Viatcheslav A. Mordvino .v , Alexander .G. Shilo .v, Maria Y. Pakharukova "Anthelmintic activity of cytochrome P450 inhibitors miconazole and clotrimazole: in-vitro effect on the liver fluke *Opisthorchis felineus* " (2017).
- [9]-Elena .F "Les inhibiteurs "suicides" des Cytochromes P450: Etablissement d'une banque de données, mise au point d'un test de screening et étudesstructures-activité concernant des substrats furaniques du CYP 3A4. " (2006).
- [10]- Arimoto .R, Prasad.M.A., Gifford.E.M., Biomol .J. Screening (2005) ;10.197
- [11]-Edwards, D. J.; Bellevue, F. H.; Woster, P. M.. "Identification of 6',7'-dihydroxybergamottin, a cytochrome P450 inhibitor, in grapefruit juice". Drug Metabolism and Disposition.(1996);24 . p 1287.
- [12]-Bailey, David G.; Malcolm, J.; Arnold, O.; Spence, J. David."Grapefruit juice-drug interactions". Br J Clin Pharmacol; (1998). 46 .p 101.
- [13]- Basavaraj.G; Poulouse, Shibu M.; Jayaprakasha, Guddadarangavvanahally K.; Bhat, Narayan G.; Patil, Bhimanagouda S. (2006). "Furocoumarins from grapefruit juice and their effect on human CYP 3A4 and CYP 1B1 isoenzymes". Bioorganic & MedicinalChemistry;14 .p 2606 .

## Conclusion générale

---

Dans ce travail, nous avons étudié par Docking moléculaire l'inhibition des cytochromes CYP3A4 par le jus de pamplemousse afin de mieux connaître les constituants du pamplemousse responsables de l'inhibition de ces CYPs et de prédire l'action de jus de pamplemousse sur les CYPs et sur le métabolisme des médicaments avec lesquels il interagit.

Pour cela, nous avons docké chaque récepteur CYP450 (4I3Q, 1TQN, 1W0E) avec les constituants de jus de pamplemousse inhibiteurs (les furanocoumarines et les flavonones ) et avec les médicaments.

Le Docking moléculaire a été réalisé par Auto Dock Vina afin d'étudier les interactions mise en jeu récepteur-ligand. Le logiciel Discovery Studio nous a permis la visualisation de ces interactions.

Les ligands ont été classés sur la base de leurs affinités vis-à-vis aux récepteurs et par comparaison de leurs IC50.

En se basant sur l'étude théorique par le biais de l'outil informatique, nous avons essayé d'expliquer et déterminer le mode d'interaction du complexe par la fixation de l'inhibiteur dans l'enzyme, avec une meilleure et forte complémentarité.

Les résultats de Docking montrent que le CYP présente une affinité pour l'inhibiteur meilleure que pour le médicament donc le complexe CYP-inhibiteur est plus stable que CYP- médicament. Cette stabilité est assurée par des interactions du type hydrophobe.

Ces résultats révèlent aussi que les furanocoumarines (la DHB et la bergamottine) et la naringine sont les composants du jus de pamplemousse responsables de l'interaction présentant ainsi une inhibition du métabolisme des cytochromes P450 3A (CYP3A) ce qui est en accord avec les résultats expérimentaux.

On peut conclure que le jus de pamplemousse présente une activité inhibitrice importante pour les CYPs par au moins un de ses constituants. Par conséquent, les autres jus en l'occurrence le jus d'orange et le jus de citron peuvent avoir une action sur les CYPs.

Il est conseillé d'éviter de boire les médicaments avec ces jus.

## Annexe

### Annexe 01

	<b>4I3Q</b>		
<b>ligand</b>	<b>Hydrogène</b>	<b>Electrostatique</b>	<b>Hydrophobe</b>
<b>HEM</b>	ARG 375 ARG 105 ARG 440 ARG 130 TRP 126 ARG 130 GLY 436 CYS 442 ILE 443	ARG 130 ARG 440 ARG 105 ARG 375	ILE 118 ILE 443 CYS 442 LEU 373 ALA370 ILE 369 LEU 364 VAL 313 MET 452 ALA 448 PHE 447 PHE 302 PHE 137 ALA 305
<b>Naringine</b>	ARG 212 ARG 375 ARG 105 ARG 212 ILE 443	ARG 212	ILE 118 ILE443 ALA370 LEU 373
<b>Bergamottine</b>	CYS 442 ARG 212 ARG 212	ARG 105 ARG 212	ARG 105 PHE 215 PHE 108
<b>DHB</b>	/	/	ALA 305 ILE 443 CYS 442
<b>Naringénine</b>	CYS 442	/	ALA 448 CYS 442
<b>Miconazole</b>	/	ARG 212	ILE 305 TRP 126 CYS 442 ARG 440 ALA 370 ILE 369 ILE 443
<b>Diltiazem</b>	ARG 212 PRO 434 SER 119	ARG 105	LEU 373 ALA 370
<b>Felodipine</b>	ARG 212	ARG 212	ALA 370 MET 371
<b>Haloperidole</b>	ARG 212 GLU 374	/	ARG 105 PHE 108 PHE 215 ILE 120 PHE 304

## Annexe

---

<b>Ketoconazole</b>	PRO 434	/	ARG 372 LEU 373 ALA370 CYS 442 ALA 448 PHE 435
---------------------	---------	---	---------------------------------------------------------------

## Annexe

### Annexe 02

Ligand	1TQN		
	Hydrogène	Electrostatique	Hydrophobe
<b>HEM</b>	TRP 126 ARG 440 ARG 370 SER 437  ARG 130 GLY 336 ASN 441 ILE 443	ARG 130 ARG 440 ARG 375 ARG 105	ILE 115 ILE 443 PHE 137 LEU 373 ALA 370 ILE 369 LEU 364 VAL 313 MET 452 ALA 448 PHE 447 PHE 435 ALA 305 CYS 442
<b>Naringine</b>	GLU 374 ARG 375 PRO 434  THR 309 ALA 370	/	ALA 448 ALA 305 CYS 442 ALA 370 ILE 369
<b>Bergamottine</b>	ILE 443	ARG 105 ARG 212	ALA 305 ARG 105 PHE 215 CYS 442 PHE 108
<b>DHB</b>	THR 224	ARG 106 GLU 374	PHE 215 ARG 105 ARG 106 PHE 108
<b>Nringénine</b>	ARG 106 SER 119	ARG 106	PHE 215 ARG 105
<b>Miconazole</b>	Glu 374	ARG 106	ARG 106 PHE 108 PHE 304 PHE 213 PHE 215 PHE 57
<b>Diltiazem</b>	ARG 212	ARG 105	PHE 435 CYS 442 THR 309 ALA 370
<b>Félodipine</b>	ARG 105 ARG 106	/	ARG 106 PHE 215 ARG 372 MET 371

## Annexe

---

<b>Haloperidole</b>	ARG 106	/	ALA 448 ILE 369 ARG 105
<b>Ketoconazole</b>	ARG 212 GLU 374 ARG 372 ALA 370	ARG 105 GLU 374	CYS 442 ALA 370 LEU 373 PHE 215 ARG 106 PHE 57

## Annexe

### Annexe 03

Ligand	1W0E		
	Hydrogène	Electrostatique	Hydrophobe
<b>HEM</b>	ARG 375 ARG 440 TRP 126 ARG 130 GLY 436 ASN 441 ARG 130 ILE 443	ARG 375 ARG 105 ARG 130 ARG 440	VAL 313 MET 452 ALA 448 PHE 447 PHE 302 ILE 301 ILE 118 ALA 370 ILE 369 ALA 305 LEU 373 PHE 435 PHE 137 ILE 443 CYS 442 ASN 441
<b>Naringine</b>	ARG 440 ARG 375 GLU 374 ARG 372 GLU 374	ARG 106	ARG 106 PHE 215 ALA 370 CYS 442
<b>Bergamottine</b>	ARG 106 ARG 372	GLU 374	PHE 108 PHE 215 PHE 57 ARG 372 ALA 370 PHE 213 ARG 212 PHE 304
<b>DHB</b>	ARG 372	GLU 374 ARG 106	PHE 215 PHE 108 PHE 213 PHE 304 ARG 106 ARG 372
<b>Naringénine</b>	GLU 374 THR 224	ARG 106	PHE 215 ALA 370
<b>Miconazole</b>	ARG 106	ARG 106 GLU 374	ALA 370 ILE 369 ARG 105 ARG 106 PHE 57 PHE 215
<b>Diltiazem</b>	GLU 374	GLU 374	PHE 215

## Annexe

---

<b>Félodipine</b>	/	/	PHE 57 PHE 215 ARG 212 ALA 305 ALA 370 ILE 369
<b>Halopéridole</b>	GLU 374 PHE 213	ARG 106 GLU 374	PHE 108 PHE 304 PHE 215 ARG 106
<b>Ketoconazole</b>	ARG 105 GLU 374	/	PHE 215 VAL 313 MET 452 ALA 448 PHE 435 CYS 442 ALA 370