

République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة ابو بكر بلقايد - تلمسان  
Université ABOUBEKR BELKAID –TLEMEN  
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et  
de l'Univers  
Département de BIOLOGIE



## MÉMOIRE

Présenté par

**ASLI Farah & ABDESSELAM Chaimaa**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de Master en Sciences Biologiques**

En Biologie Moléculaire et Cellulaire

**Thème :**

**Inhibition du transporteur de cholestérol intracellulaire  
OSBP dans la thérapie anticancéreuse**

Soutenu le 12 juin devant le jury composé de :

Présidente	DALI-SAHI Majda	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	Bouanane Samira	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur	Cherrak Med Sabri	Maitre de conférences A	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

## المخلص :

**المقدمة:** إن ناقل الكوليسترول داخل الخلايا OSBP هو بروتين ينظم التوزيع الخلوي للكوليسترول بين الشبكة الإندوبلازمية وجهاز جولجي. أظهرت الدراسات الحديثة أن مستويات التعبير OSBP مرتفعة في الخلايا السرطانية مقارنة بالخلايا الطبيعية. من خلال الارتباط ب OSBP، تمنع الجزيئات الطبيعية لعائلة ORPphiline نمو الخلايا السرطانية، مما يوفر هدفًا جذابًا لعلاج السرطان. تم تصميم هذه الدراسة لتثبيط OSBP مع المانع ORPphiline في

جميع أنواع السرطان باستخدام طريقة الالتحام الجزيئي.

**الطريقة:** تم الحصول على الهيكل ثلاثي الأبعاد لبروتين OSBP من بنك بيانات البروتين. تم إجراء الالتحام الجزيئي باستخدام برنامج AUTODOCK VINA. في برنامج Chimera لدراسة تفاعل 23 نظير Stelletin E في سيليكو البروتين المستهدف. ونتائج الطاقة الملزمة كانت معيرا عنه ب كيلو كال /مول. ثم تم تحليل تفاعلات البروتين -رابطة باستخدام برنامج Discovery Studio ثم خصائص حركية الدواء لهذه النظائر باستخدام برنامج Swissdame.ch.Sa

**النتيجة:** أوضحت دراستنا إن المركبات التي تحمل الاكواد 154417841 و76391099 هي أفضل المرشحين كمثبطات يحتمل إن تكون نشطة ضد بروتين OSBP لعلاج السرطان.

**الكلمات المفتاحية:** OSBP; السرطان; الالتحام الجزيئي; ORPphelines; Stelletin E.

## **Résumé :**

**Introduction :** Le transporteur du cholestérol intracellulaire OSBP est une protéine qui régule la distribution cellulaire du cholestérol entre le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi. Des études récentes ont montré que les niveaux d'expression de l'OSBP sont élevés dans les cellules cancéreuses par rapport aux cellules normales. En se liant à l'OSBP, les molécules naturelles de la famille ORPphilines inhibent la croissance des cellules cancéreuses, ce qui constitue une cible attrayante pour le traitement du cancer. L'objectif de cette étude est d'identifier les inhibiteurs de l'OSBP en utilisant la méthode d'amarrage moléculaire.

**Méthode :** La structure tridimensionnelle de la protéine OSBP a été obtenue à partir de la protéine Data Bank. L'amarrage moléculaire a été réalisé à l'aide du programme AUTODOCK VINA, intégré dans le logiciel UCSF Chimera pour étudier *in silico* l'interaction de 23 analogues de Stelletin E avec la protéine cible ; les résultats de l'énergie de liaison ont été exprimés en (kcal/mol), les interactions protéine-ligand ont été analysées à l'aide de programme Discovery Studio, et les propriétés pharmacocinétiques de ces analogues à l'aide de programme swissadme.ch.

**Résultats :** Notre étude a montré que les composés portant les codes 154417841 et 76391099 sont les meilleurs candidats comme des inhibiteurs potentiellement actifs envers la protéine OSBP pour la thérapie anticancéreuse.

**Mots clés :** OSBP, ORPphilines, 7V62, l'amarrage moléculaire ; Stelletin E, cancer.

## **Abstract:**

**Introduction:** The intracellular cholesterol transporter OSBP is a protein that regulates the cellular distribution of cholesterol between the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus. Recent studies have shown that OSBP expression levels are elevated in cancer cells compared to normal cells. By binding to OSBP, the naturally occurring molecules of the ORPphilins family inhibit the growth of cancer cells, providing an attractive target for cancer treatment. This Study was designed to inhibit OSBP with the inhibitor ORPphilins in all types of cancer using the molecular Docking Method.

**Methods:** The three-dimensional structure of the OSBP protein was obtained from the protein Data Bank. Molecular docking was performed using the AUTODOCK program VINA, integrated into the UCSF Chimera software to study in silico the interaction of 23 Stelletin E analogs with target protein, and Binding Energy Results were Expressed in (kcal/mol), then the protein-ligand interactions were analyzed using Discovery Studio program, then the pharmacokinetic properties of these analogs to the program help swissadme.ch.

**Results:** Our study showed that compounds carrying the codes 154417841 and 76391099 are the best candidates as potentially active inhibitors against OSBP protein for cancer therapy.

**Keywords:** OSBP, ORPphilins, 7V62, molecular docking; Stelletin E, Anti-cancer.

# **INTRODUCTION**

## Introduction

---

Bien qu'il soit important pour nos cellules, les excès de cholestérol peuvent conduire à des accumulations sur la paroi des artères, constituant un facteur de risque cardiovasculaire. Au niveau membranaire, la fraction moléculaire de cholestérol rapportée aux autres lipides varie de 5-50% et dont le rôle est essentiel pour assurer son imperméabilité. Ces variations sont aussi importantes dans la composition lipidique des organites [1](#). Pour cela, de nombreux mécanismes de transport de cholestérol existent dans nos cellules. En effet, une grande part du cholestérol de nos cellules vient de l'extérieur et pénètre par endocytose au niveau de la membrane plasmique, en particulier via les récepteurs des LDL. Le cholestérol peut également être synthétisé dans le réticulum endoplasmique (ER). Cependant, cet organite en a un taux particulièrement bas. Dès lors, le cholestérol, après qu'il ait été synthétisé, doit être transporté vers les membranes qui en sont riches, en particulier la membrane plasmique [2](#).

Parmi les voies de transport, la protéine OSBP (oxysterol binding protein) qui transporte les lipides et qui régule la distribution cellulaire du cholestérol entre différents organites [3](#), [4](#).

La protéine OSBP est cytosolique [5](#), et constitue un récepteur soluble de l'oxystérol [6](#). Ce récepteur est situé dans l'appareil de Golgi et permet de réguler la distribution cellulaire de cholestérol [5](#). La famille des protéines OSBP est codée par 12 gènes dans les cellules de mammifères qui donnent naissance à cinq protéines en raison d'épissage et de transcription alternée [7](#).

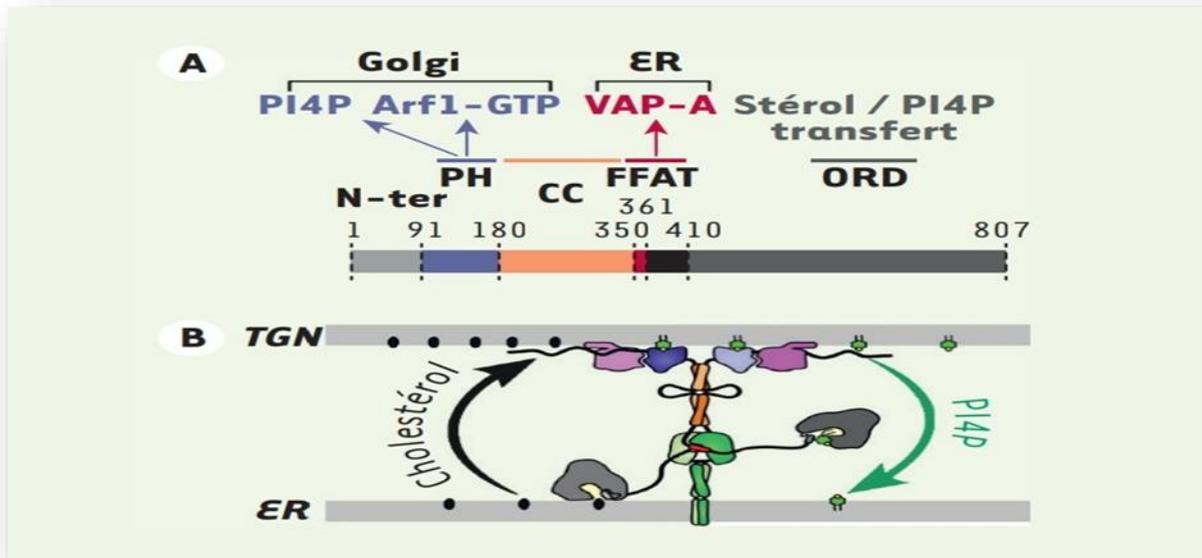
L'OSBP peut fonctionner comme une protéine de transport de cholestérol au niveau des sites de contact membranaire (MCS) entre le réticulum endoplasmique (ER) et l'appareil de Golgi [8](#), où les deux membranes sont distantes d'environ 20nm [2](#).

La protéine OSBP de 807 acides aminés, contient 05 régions : une région sans structure intrinsèque, un domaine PH (homologie à la pleckstrine), une région de dimérisation par enroulement hélicoïdal (CC), un domaine FATT (deux phénylalanines dans un tractus acide), et un domaine ORD (domaine apparenté à l'OSBP) [9](#), [8](#), [10,11](#) (figure 1A). Le domaine PH se lie au Trans-Golgi (TGN) par une double interaction avec phosphatidylinositol-4-phosphate (PI4P) et la protéine Arf (ADP-ribosylation factor) 1-GTP [12](#). Le motif FATT se lie à ER via le récepteur VAP-A (vesicle associated membrane protein associated protein), une protéine transmembranaire qui contrôle la localisation ER d'une myriade de protéines cytosoliques [13](#); à la fin, ORD lie non seulement les oxystérols mais aussi le cholestérol [14](#).

## Introduction

Etant donné que ces domaines sont séparés par des régions qui peuvent agir comme des séparateurs flexibles, l'architecture de l'OSBP propose un mécanisme de pont dans lequel cette dernière connecte l'ER au TGN via son motif FATT et son domaine PH, et transfère le cholestérol entre les deux membranes à travers son domaine ORD-c terminal [8](#) (figure 1B).

Enfin, dans l'ER, le PI4P est hydrolysé, rendant le cycle d'échange irréversible, et donc l'OSBP permet l'échange de lipides dans lequel un cholestérol « coûte » un PI4P [10](#).



**Figure 1. Organisation structurale et activités biochimiques d'OSBP.**

**A.** La séquence d'OSBP : N-Ter : une région non structurée ; PH : un domaine d'homologie de pleckstrine ; CC : une région de dimérisation (coiled-coil), FATT : deux phénylalanines dans un tractus acide ; ORD : domaine apparenté à OSBP.

**B.** Sur le modèle d'un pont transporteur, OSBP connecte deux membranes et échange cholestérol et PI4P entre les deux membranes opposées.

Actuellement, Il est fortement admis que le transport du cholestérol médié par OSBP favorise la formation de nombreux cancers [15](#). En effet, l'interaction de l'OSBP avec le cholestérol est due à l'assemblage d'oligomères constitués d'OSBP, cholestérol, et serine thréonine phosphatase PP2A ; cette phosphatase oligomère contrôle principalement la voie de signalisation de la kinase régulatrice du signal extracellulaire (ERK) [16](#). Etant donné que la voie de signalisation ERK est étroitement liée au développement du cancer [17](#), les résultats d'une étude indiquent que l'OSBP pourrait jouer un rôle important dans la régulation du signal cellulaire, et de la progression de cancer [18](#). En effet, chez les eucaryotes, l'OSBP est souvent

## Introduction

---

fortement exprimé dans les cancers, d'où la nécessité d'inhiber ce transporteur [3](#). Pour cela, la protéine OSBP est très étudiée en tant que cible attractive pour la stratégie anticancéreuse [15](#). Par ailleurs, l'OSBP s'est révélé être un récepteur cellulaire de haute affinité d'un groupe de produits naturels potentiellement inhibiteurs de croissance de lignées cellulaires cancéreuses humaines. Ces produits naturels sont constitués de céphalostatine1, OSW-1, retrazine B, stelletin E, et schweifortine A, schweifortine B, ou collectivement ORPphilines [18](#).

Le cancer également appelé tumeur maligne, est l'une des principales causes de décès dans le monde et est responsable d'environ un décès sur six ; il s'agit d'une prolifération anormale des cellules [19](#), résultant de l'accumulation de modification du génome cellulaire ou de sa transcription cytoplasmique [20](#), conduisant à un équilibre non régulé dans la prolifération cellulaire et la mort cellulaire [21](#). Et à partir de là, se développe un groupe de cellules qui peuvent envahir les tissus et migrer du lieu de leur production et forment des métastases [19](#).

Le cancer est détecté lors d'un dépistage organisé ou individuel [22](#), et dont les signes précurseurs suivants sont retrouvés à l'examen clinique : masse ou zone épaisse, des variations de poids, des modifications cutanées (jaunissement, assombrissement, ou rougeur de la peau), saignement ou ecchymoses inexplicables, douleurs musculaires ou articulaires [23](#). En 2011, il a été découvert que l'OSBP est une cible de la famille des ORPphilines [18](#) ; des études ont montré que l'ORPphiline interagit avec l'OSBP qui était impliqué dans la survie des cellules cancéreuses. Ces résultats les ont amenés à obtenir plusieurs preuves montrant que l'ORPphiline intervient dans les activités antiprolifératives contre les lignées cellulaires cancéreuses [18](#).

En effet, l'ORPphiline, anciennement appelé CRAMs, est un produit naturel [24](#), ce sont de petites molécules biologiquement actives possédant de puissantes activités inhibitrices de croissance sur plusieurs lignées de cellules cancéreuses humaines [18](#).

Les structures des ORPphilines sont assez diverses, mais elles contiennent toutes de nombreuses similitudes structurelles avec la présence du noyau stéroïde du cholestérol, en particulier la cephalostatine, retrazine, osw1 ce qui explique leur interaction avec la protéine OSBP [25](#).

## Introduction

---

L'ORPphiline est le plus spécifique de l'OSBP, en l'occurrence avec l'OHC-25 pour la liaison à l'OSBP car il déplace l'OHC-25 de son domaine de liaison aux lipides hautement conservé, qui se trouve dans l'extrémité C-terminale de toutes les protéines OSBP 24.

De plus, l'ORPphiline est un inhibiteur sélectif de la croissance des cellules tumorales dépourvues de p21. Les résultats montrent que la première indication de la perte de cette protéine suppresseur de tumeurs rend les cellules très sensibles à la perturbation de l'OSBP. Les résultats indiquent donc que l'OSBP est une nouvelle cible pour obtenir la mort synthétique à l'aide de p21 menant à des thérapies anticancéreuses sélectives pour les tumeurs 24.

Les molécules naturelles de la famille ORPphilines inhibent la croissance des cellules cancéreuses en utilisant IC50 dans l'ordre nanomolaire dans une soixantaine de lignées du National Cancer Institute (NIC60) 18.

En se liant à la protéine OSBP, ORPphiline perturbe le transport des lipides entre ER et Golgi, et empêche les cellules de s'enrichir en cholestérol, essentiel à la formation et à la survie des membranes cellulaires. Il cause aussi une diminution de l'expression de l'OSBP et une diminution de la sphingosine. En outre, l'effet cytotoxique de l'ORPphiline s'est avéré être lié à l'inhibition de l'OSBP, là où la surexpression de l'OSBP a conféré aux cellules cancéreuses une résistance à ces molécules et une prolifération cellulaire accrue 18.

A ce jour, l'association entre la protéine OSBP et la cytotoxicité n'est pas bien connue, et de nombreuses études cherchent à comprendre l'activité anticancéreuse et le mécanisme exact de la mort cellulaire induite par l'ORPphiline. Parmi les nombreux mécanismes étudiés, l'implication de la voie PI3K/AKT/mTOR semble être commune à l'ORPphilines, cette voie de signalisation est souvent surexprimée dans les cellules tumorales, permettant une prolifération cellulaire massive 26. L'ORPphiline module la rigidité des membranes dont la membrane plasmique, ce qui empêche la formation des membranes lipidiques dans lesquels la protéine AKT doit s'adapter pour être phosphorylée 27. En perturbant la phosphorylation de l'AKT ou d'autres protéines en amont de l'AKT, cela empêche la phosphorylation ultérieure des protéines de la voie mTOR/AKT/PI3K et altère la prolifération des cellules cancéreuses. 27

L'objectif de ce travail est d'identifier des molécules qui pourraient avoir une valeur potentielle en tant qu'inhibiteurs spécifiques de ce transporteur OSBP et d'évaluer de

## Introduction

---

nouveaux inhibiteurs contre 7V62 avec des activités biologiques connues sur le transporteur OSBP en utilisant des techniques in silico.

L'étude in silico consiste principalement à utiliser l'adhésion moléculaire et la dynamique moléculaire pour évaluer la capacité de ces molécules à inhiber la formation et prolifération des cellules cancéreuses en ciblant le transporteur de cholestérol OSBP par les ORPphilines.

**MATERIEL  
ET  
METHODES**

### 1. Préparation de la protéine :

La structure cristallisée de la protéine OSBP (PDB ID : 7V62) a été téléchargée à partir du site Web de la banque de données sur la protéine (Proteine Data Bank) [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org).

La protéine a une très bonne résolution de 3.25 Å et ne présente pas de mutation. Pour la préparer, nous utilisons les programmes ChimeraUCSF [28](#), afin d'éliminer les chaînes cristallisées et les ligands (Molécules d'eau .....). Enfin, la structure 3D préparée de la protéine principale 7V62 a été enregistrée sous forme PDB (**figure2**).



**Figure 2 : Structure de la cible 7V62.**

### 2. Téléchargement des ligands :

Les structures tridimensionnelles des analogues de stelletin E ont été téléchargées à partir de la base de données PubChem au format SDF <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. Cette bibliothèque de molécules a été obtenue en appliquant un filtre sur la masse moléculaire.

### 3. L'amarrage moléculaire :

L'amarrage a été réalisé en utilisant la protéine 7V62 avec 23 molécules, afin de déterminer

Le degré d'affinité entre les différents ligands de la protéine 7V62 par le programme (AUTODOCK VINA) connecté à CHIMERA.

Le docking a été réalisé pour les meilleurs molécules avec le niveau de  $\Delta G$  le plus bas à l'aide du logiciel Chemira afin d'identifier les molécules les plus intéressantes et les plus compatibles.

#### **4. Identification des interactions :**

Les composés avec la protéine 7V62 sont importés les uns après les autres dans le programme Discovery Studio Visualizer <sup>29</sup>, permettant de visualiser en 2D les nombreux diagrammes d'interaction, notamment entre le site actif de la protéine et les ligands.

#### **5. Détermination des paramètres pharmacocinétiques :**

Après avoir sélectionné les ligands, ils ont ensuite été soumis à une analyse en ligne sur le site de (SwissAdame) afin de prédire les paramètres ADME, d'évaluer les propriétés pharmacocinétiques et physiques et de calculer les descripteurs physiques et chimiques des molécules. [Http://www.swissadme.ch](http://www.swissadme.ch).

**RESULTATS  
ET  
DISCUSSION**

### 1. L'étude d'amarrage :

La structure cristalline tridimensionnelle de la protéine OSBP (PDB ID : 7V62) est désormais accessible sur le site « RCSB PDB ».

Les énergies de liaisons (kcal/ mol) obtenues par docking moléculaire ont été rapportées, et les interactions protéine /ligands ont été étudiées à l'aide de l'outil DISCOVERY.

Les résultats de l'étude ont montré que plus l'énergie de liaison est faible, plus l'efficacité de liaison est élevée, y compris l'augmentation de l'inhibition.

Le lien portant le code 154417841 a montré l'énergie de liaison la plus faible avec la cible de cette étude 7V62 avec -10,1 kcal/mol, suivi du lien portant le code 76391099 avec -10 kcal/mol **(tableau 1, figure 3 et 4)**. Afin d'identifier les molécules à haute affinité se liant à cette protéine (PDB : 7V62), nous avons effectué un test informatique virtuel pour la liaison moléculaire et l'amarrage. Les résultats, pour chacune des 23 molécules, sont présentés dans **le tableau 1**.

**Tableau 1 : Coordonnées et énergie de liaisons de 23 ligands STELLETTIN E amarrés à la Protéine OSBP.**

Composés	Pubchem ID	Formules moléculaire	Masse moléculaires (g/mol)	ΔG (Kcal/mol)
(2Z,4Z)-2-hydroxy-4-[(3aS,5aS,9aS,9bS)-3a-methyl-3,7-dioxododecahydro-6H-cyclopenta[a]naphthalen-6-ylidene]but-2-enoic acid	129626671	C9H8N2O5S	318.4	-9.8
2-[(8S,9S,10R,13S,14S)-10,13-dimethyl-11-oxo-2,7,8,9,12,14,15,16-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-ylidene]acetic acid	154417841	C21H26O3	326.4	-10.1
Globostelletin B	49799306	C18H24O4	304.4	-9.2
Globostelletin E	49799338	C19H24O4	316.4	-9.0
Globostelletin F	49799339	C19H24O4	316.4	-9.1
(8R,9S,10R,13S,14S)-13-methyl-17-oxo-8,9,10,11,12,14,15,16-octahydro-7H-cyclopenta[a]phenanthrene-3-carboxylic acid	54140627	C19H22O3	298.4	-9.5
2-[(8S,9S,10R,13S,14S)-10,13-dimethyl-11-oxo-2,3,6,7,8,9,12,14,15,16-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-ylidene]acetic acid	67790542	C21H28O3	328.4	-9.7
(2E)-2-[(8R,9S,10R,13S,14S)-13-methyl-3-oxo-1,2,6,7,8,9,10,11,12,14,15,16-dodecahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-ylidene]acetic acid	69759407	C20H26O3	314.4	-9.9
4-(3a-methyl-2,7-dioxo-4,5,5a,6,8,9,9a,9b-octahydro-1H-cyclopenta[a]naphthalen-3-ylidene)pent-2-enoic acid	76391099	C19H24O4	316.4	-10
2-(3a,9a-Dimethyl-2,7-dioxo-1,4,5,5a,6,8,9,9b-octahydrocyclopenta[a]naphthalen-3-ylidene)propanoic acid	76392687	C18H24O4	304.4	-9.2
(2Z,10Z)-3-hydroxy-5,17-dioxo-4,5-secoestra-2,10-diene-3-oate	129626670	C18H21O5-	317.4	-9.2
(E)-3-[(3aS,5aS,6R,9aS,9bS)-3a,6-dimethyl-3,7-dioxo-2,4,5,5a,8,9,9a,9b-octahydro-1H-cyclopenta[a]naphthalen-6-yl]prop-2-enoic acid	146169531	C18H24O4	304.4	-9.8
2-[(8R,9S,10R,13S,14S)-10,13-dimethyl-3-oxo-2,6,7,8,9,11,12,14,15,16-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-ylidene]acetic acid	154101669	C21H28O3	328.4	-9.8
2-[(8S,9S,10R,13S,14S)-10,13-dimethyl-16-oxo-6,7,8,9,11,12,14,15-octahydro-3H-cyclopenta[a]phenanthren-17-ylidene]acetic acid	158105748	C21H26O3	326.4	-9.3
Stelletin E	6519634	C30H40O4	464.6	-8
(2E)-2-(10,13-dimethyl-3-oxo-2,6,7,8,9,11,12,14,15,16-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-ylidene)acetic acid	23267856	C21H28O3	328.4	-9.9
2-(3a,6,6,9a-tetramethyl-2,7-dioxo-4,5,5a,8,9,9b-hexahydro-1H-cyclopenta[a]naphthalen-3-ylidene)propanoic acid	162947067	C20H28O4	332.4	-9

## Résultats et discussion

(2Z)-2-[(3aS,5aR,9aR,9bS)-3a,6,6,9a-tetramethyl-2,7-dioxo-4,5,5a,8,9,9b-hexahydro-1H-cyclopenta[a]naphthalen-3-ylidene]propanoic acid	162947068	C20H28O4	332.4	-9
2-[(3aS,5aR,9aR,9bS)-3a,6,6,9a-tetramethyl-2,7-dioxo-4,5,5a,8,9,9b-hexahydro-1H-cyclopenta[a]naphthalen-3-ylidene]propanoic acid	162947069	C20H28O4	332.4	-9
4-(3a-methyl-3,7-dioxo-2,4,5,5a,8,9,9a,9b-octahydro-1H-cyclopenta[a]naphthalen-6-ylidene)-2-hydroxybut-2-enoic acid	163020067	C18H22O5	318.4	-9.8
(Z)-4-[(3aS,5aS,9aS,9bS)-3a-methyl-3,7-dioxo-2,4,5,5a,8,9,9a,9b-octahydro-1H-cyclopenta[a]naphthalen-6-ylidene]-2-hydroxybut-2-enoic acid	16302068	C18H22O5	318.4	-9.8
(4Z)-4-[(3aS,5aS,9aS,9bS)-3a-methyl-2,7-dioxo-4,5,5a,6,8,9,9a,9b-octahydro-1H-cyclopenta[a]naphthalen-3-ylidene]pent-2-enoic acid	162819866	C19H24O4	316.4	-9
(2E)-2-[(3aS,5aR,9aR,9bS)-3a,6,6,9a-tetramethyl-2,7-dioxo-4,5,5a,8,9,9b-hexahydro-1H-cyclopenta[a]naphthalen-3-ylidene]propanoic acid	162947070	C20H28O4	332.4	-9

## Résultats et discussion

---

Nous avons réalisé le processus d'amarrage moléculaire de ces liaisons avec la protéine 7V62, ce qui a permis d'identifier toutes les interactions et les modèles de liaison que nous pouvons obtenir et qui permettent d'obtenir une bonne inhibition, car plus l'énergie de liaison est faible, plus l'efficacité de liaison est élevée, ce qui entraîne une inhibition accrue.

Il s'avère que les deux molécules 154417841 et 76391099 ont montré la meilleure affinité avec la protéine 7V62 avec une énergie de liaison de -10 kcal/mol et la molécule 23 avec une énergie de liaison de -8 kcal/mol qui est considérée comme une faible énergie alors qu'il a une bonne inhibition.

Après fusion moléculaire, le programme Discovery Studio a été utilisé pour identifier et détailler les liaisons formées par ces molécules et les acides aminés du site actif de la cible 7V62.

Les interactions des meilleurs composés amarrés sont présentées dans **le tableau 2**.

## Résultats et discussion

**Tableau 2 : Interaction des 5 ligands les mieux ancrés contre le site actif de la protéine.**

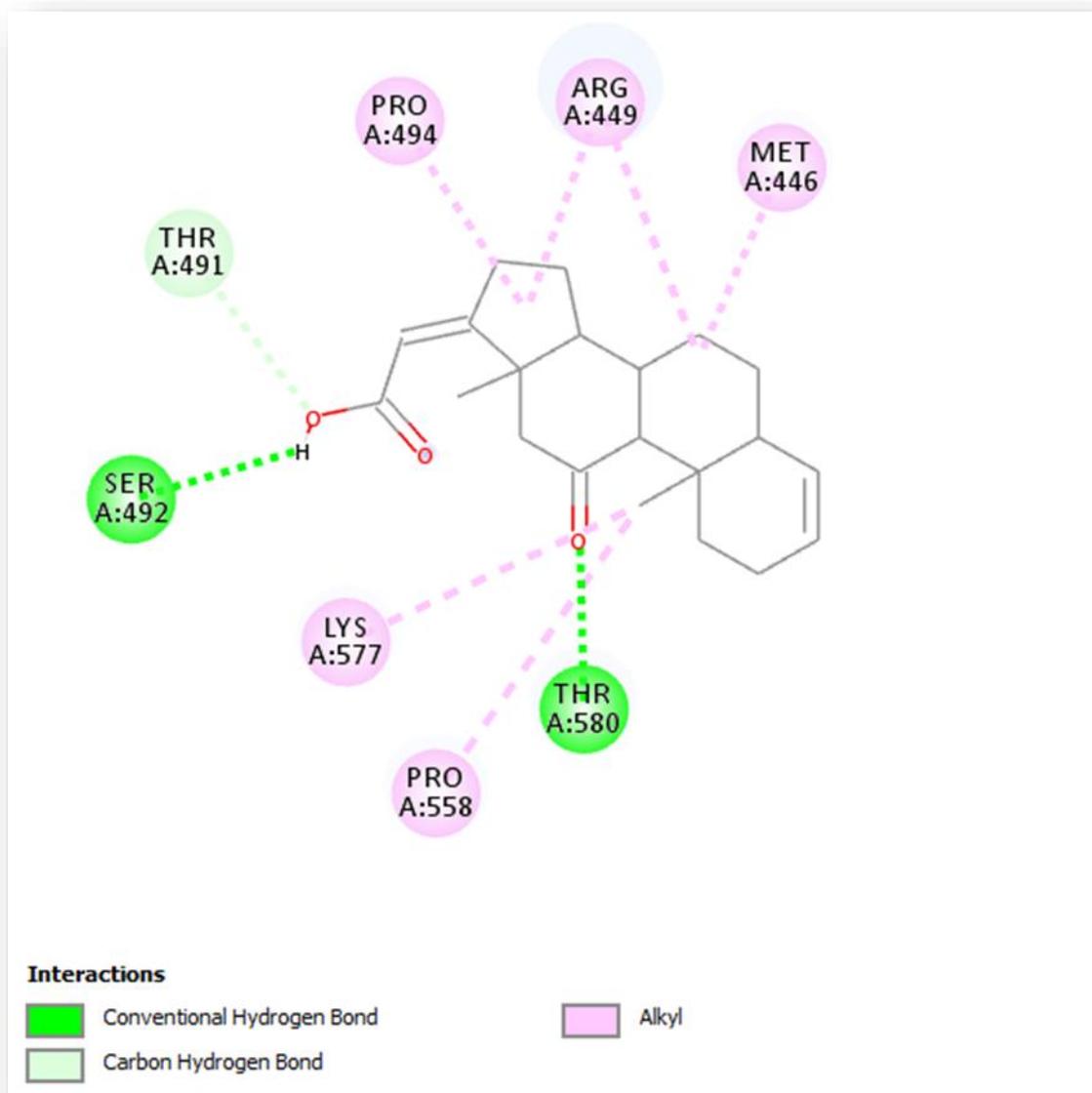
Meilleurs composés amarrés	Les acides aminés de 7V62 qui interviennent dans les interactions du composé	Types d'interaction	$\Delta G$ kcal/mol
2-[(8S,9S,10R,13S,14S)-10,13-dimethyl-11-oxo-2,7,8,9,12,14,15,16-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-ylidene]acetic acid	MET 446	Alkyl	-10.1
	ARG 449	2 Alkyl	
	TRH 491	Liaison hydrogène carbone	
	SER 492	Liaison hydrogène conventionnelle	
	PRO 494	Alkyl	
	PRO 558	Alkyl	
	LYS 577	Alkyl	
4-(3a-methyl-2,7-dioxo-4,5,5a,6,8,9,9a,9b-octahydro-1H-cyclopenta[a]naphthalen-3-ylidene)pent-2-enoic acid	ARG 449	2 Liaisons hydrogène conventionnelle Alkyl	-10
	PRO 494	Alkyl	
	ILE 556	2 Alkyl	
(2E)-2-[(8R,9S,10R,13S,14S)-13-methyl-3-oxo-1,2,6,7,8,9,10,11,12,14,15,16-dodecahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-ylidene]acetic acid	ARG 449	Alkyl	-9.9
	PRO 494	Alkyl	
	ILE 556	2 Alkyl	

## Résultats et discussion

5-Hydroxy-5-(5-methoxy-2-thienyl)-2,4,6(1H,3H,5H)-pyrimidinetrione	ARG 449	3 Liaisons hydrogène conventionnelle	-9.8
	SER 483	2 Liaisons hydrogène conventionnelle	
	ILE 556	2 Alkyl	
	LYS 577	Liaison hydrogène conventionnelle	
	ILE 592	Alkyl	
Stellettin E	LEU 431	2 Alkyl	-8
	MET 446	Alkyl	
	ARG 449	Alkyl	
	PHE 479	Liaison hydrogène conventionnelle	
	THR 480	Liaison hydrogène conventionnelle	
	SER 483	Liaison hydrogène Carbone défavorable donneur –donneur	
	THR 484	Alkyl	
	LYS 493	Alkyl	
	PRO 494	2 Alkyl	
	LEU 554	2 Alkyl	
	ILE 556	Alkyl	
	PRO 558	Alkyl	
	TRP 575	Liaison hydrogène conventionnelle	
	LYS 577	Alkyl	
VAL 582	2 Alkyl		
ILE 592	Alkyl		

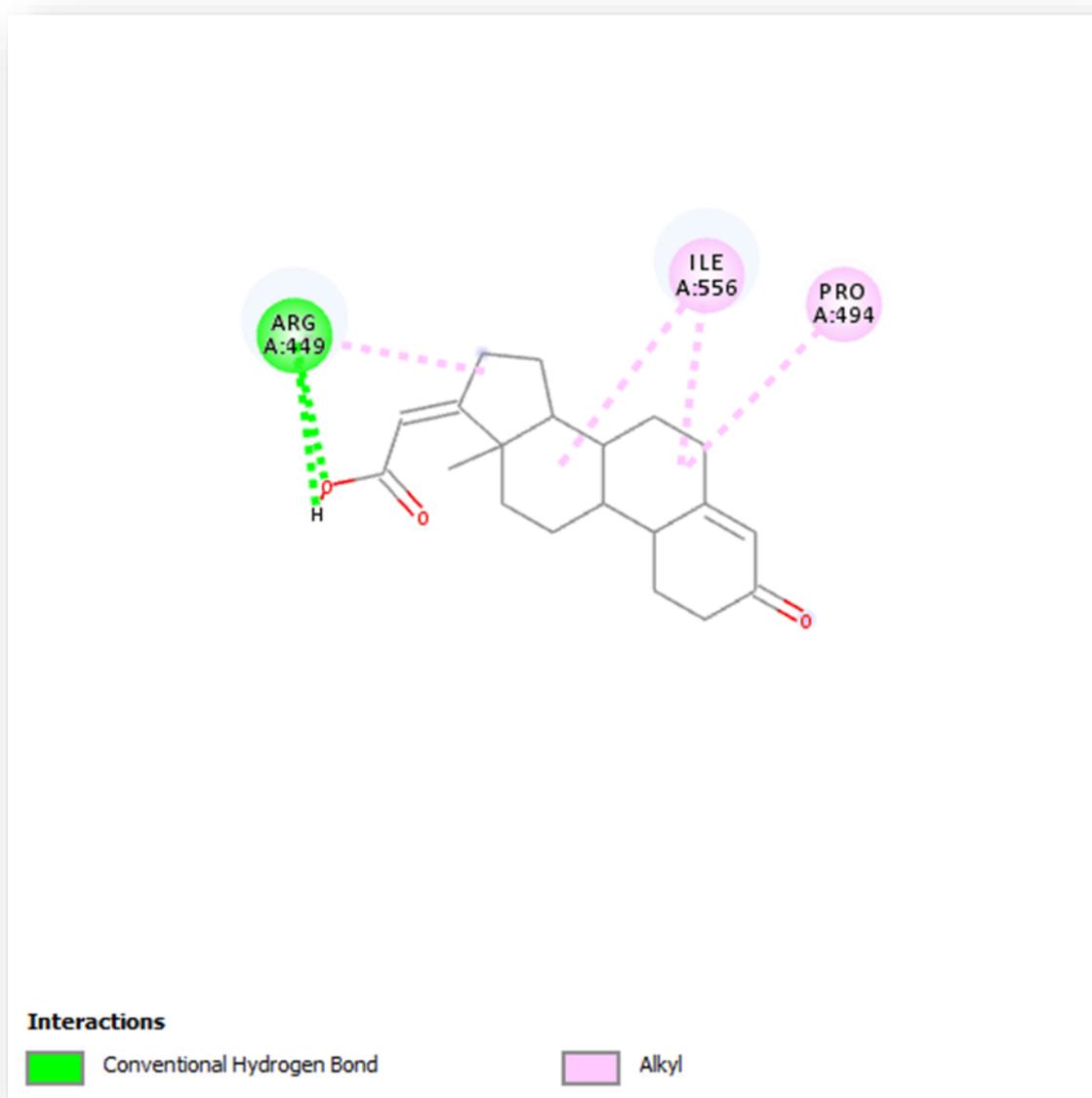
De ces résultats, il ressort que la molécule de code 154417841 fournit la meilleure énergie de liaison, qui équivaut respectivement à -10,1 kcal/mol. Le complexe a établi 2 liaisons hydrogène conventionnelles, 6 liaisons alkyle et 1 liaison hydrogène carbone avec les acides aminés PRO 494, ARG449, MET 446, LYS 577, PRO 558, SER492, THR580, THR491 respectivement (**figure 3 et tableau 2**).

Et aussi, était l'image des différents types de liaison que cette molécule créait produit à l'aide du logiciel Discovery comme le montre **la figure 3**.



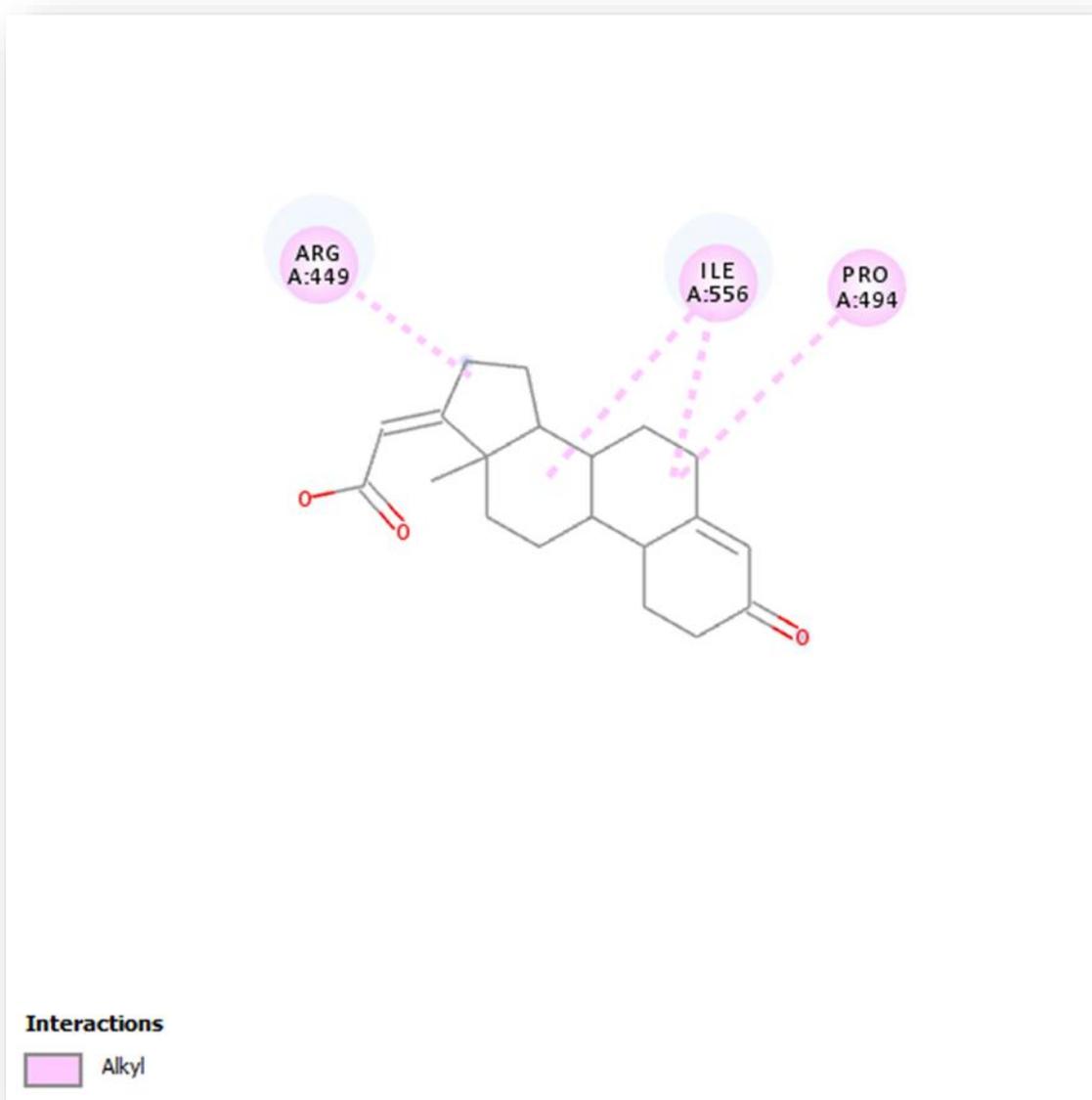
**Figure 3 : Interaction 2D de la molécule portant le code 1544178441.**

La molécule de code 76391099 apporte une meilleure énergie de liaison, un score de liaison De -10 kcal/mol avec la création de deux liaisons hydrogène classiques et de 4 liaisons alkyle, avec les acides aminés ARG449, ILE556 et PRO494 (**figure 4, tableau 2**).



**Figure 4 : Interaction 2D de la molécule portant le code 76391099.**

Le ligand portant le code 69759407 a présenté un score de liaison de -9.9 kcal/mol avec la création de 4 liaisons alkyl avec les acides aminés ARG449, ILE556, PRO494 (**figure 5, tableau 2**).



**Figure 5 : Interaction 2D de la molécule portant le code 69759407.**

Il ressort de ces résultats que la molécule portant le code 129626671 a présenté un score de liaisons équivalentes de -9.8 kcal/mol. Le composé 129626671 a établi 3 liaisons alkyl avec Les acides aminés ILE592, ILE 556 et 6 liaisons avec les acides aminés ARG449, SER483 et LYS577 (figure 6, tableau 2).

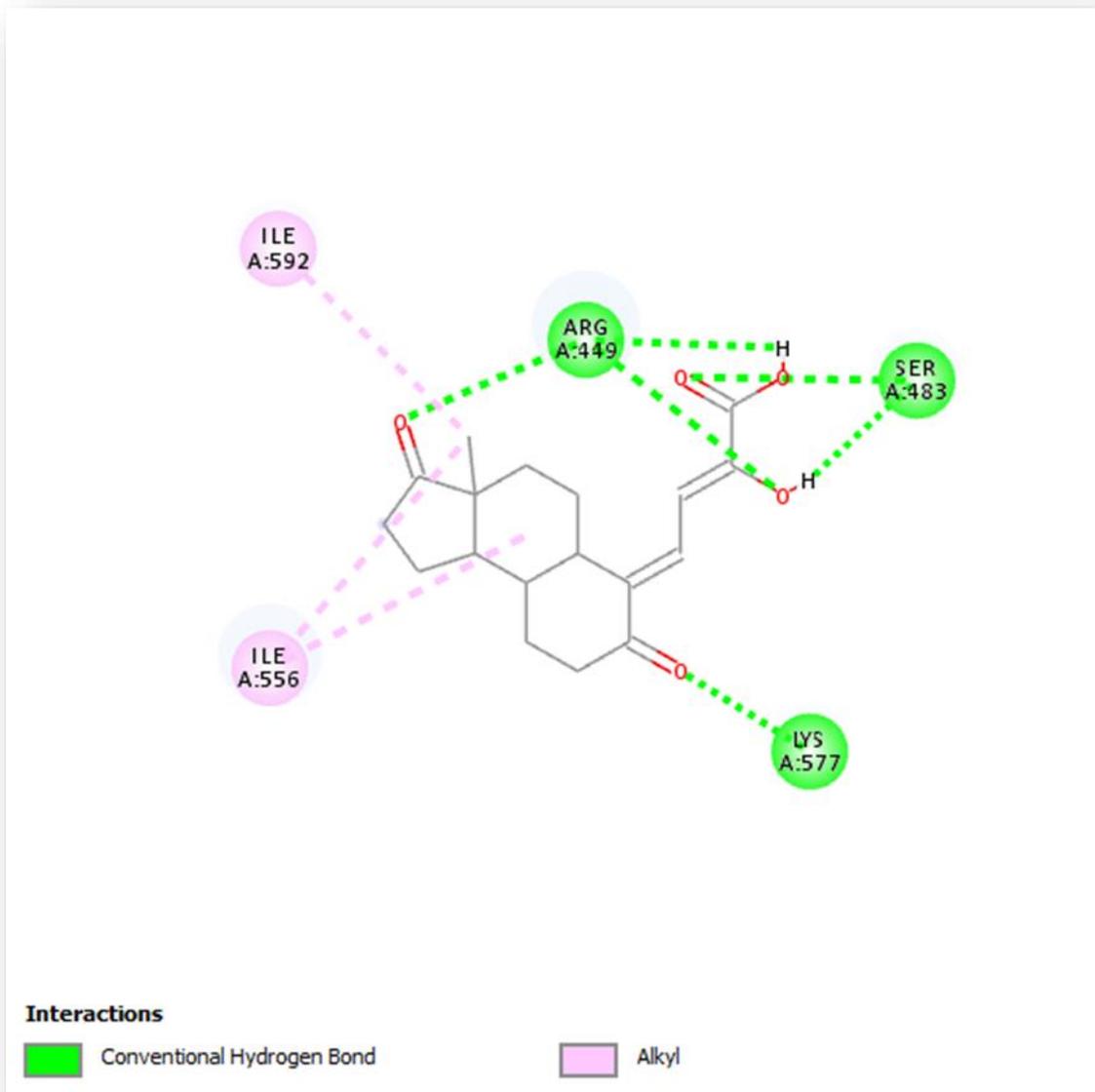
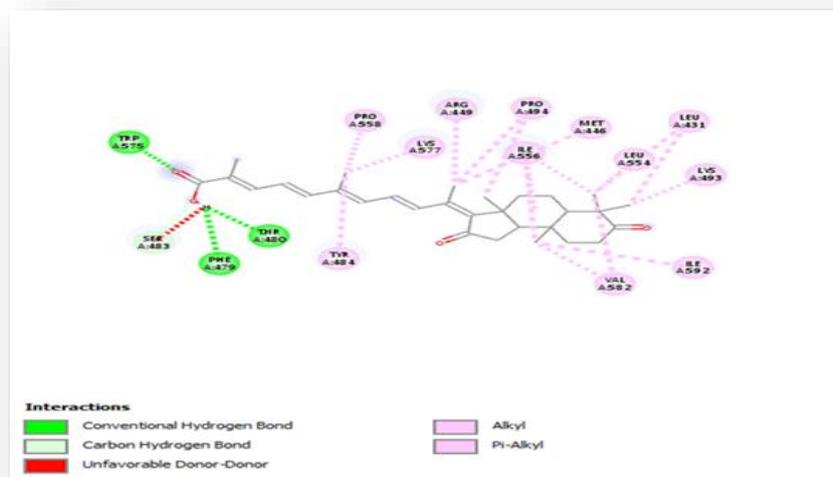


Figure 6 : Interaction 2 D de la molécule portant le code 129626671.

De ces résultats, la molécule stelletin E a présenté un score de liaison de -8 kcal/mol, ce composé a établi des liaisons hydrogène carbone avec un acide aminé SER 483, des liaisons alkyl avec des acides aminés PRO 558, ARG 449, MET 446, PRO 494, LEU 431, LEU 554, LYS 493, LYS 577, ILE 556, ILE 592, VAL 582, TRY 484, les liaisons hydrogène avec des acides aminés TRP 575, PHE 479, TRH 480 (figure 7, tableau 2).



**Figure 7 : Interaction 2D de la molécule stellettin E.**

Les acides aminés en commun avec le composé 154417841 par rapport au ligand Stellettin E sont : PRO 494, ARG 494, LYS 577.

Pour le composé 76391099, il s'agit de 3 acides aminés : PRO 494, ILE 556, ARG449.

Pour le composé 69759407, il s'agit de 3 acides aminés : ILE556, PRO 494, ARG449.

Pour le composé 12962671, il s'agit de 3 acides aminés : ARG 449, LYS577, ILE556.

Pour le composé 6519634, il s'agit de 4 acides aminés : ARG449, PRO 494, LYS 577, ILE 556.

La similitude réside dans les 4 acides aminés (ARG449, PRO494, ILE 556), cela nous a permis de suggérer que ces acides aminés appartiennent au site de fixation de la protéine 7V62. Il est aussi intéressant de noter qu'il y a certains acides aminés (MET 446, LEU554, ILE592, LYS577) qui sont présents dans les liaisons de plusieurs ligands, ce qui suggère que ces acides aminés sont à proximité du site de fixation.

Pour s'assurer de la validité pharmacologique de ces composés, il est important d'évaluer leur paramètre pharmacocinétique.

En effet, un bon médicament doit être rapidement et complètement absorbé par le tractus gastro intestinal. Spécifiquement distribué à son site d'action dans le corps, sans interférer avec les fonctions corporelles, et soit éliminé de manière appropriée sans en faire des dégâts.

Les propriétés pharmacocinétiques (ADME) ont été évaluées à l'aide de la règle de Lipinski sur le site Web swissdame.ch. afin d'étudier les caractéristiques pharmacocinétiques, ceci est également valable pour toutes les molécules (**tableau 2**).

## Résultats et discussion

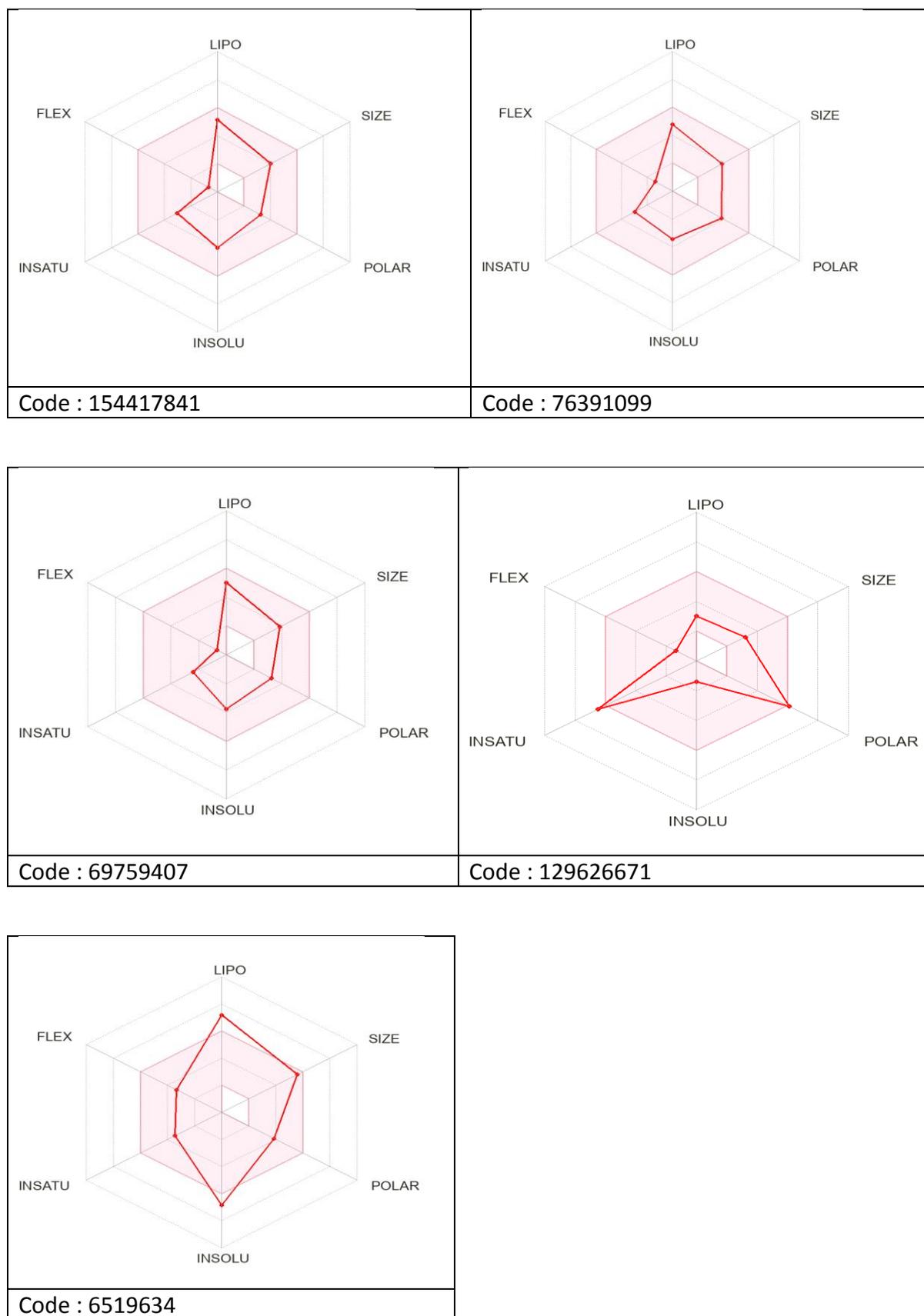


Figure 8 : Les propriétés ADME des 5 principaux ligands (6519634 ; 129626671, 69759407, 76391099,154417841).

**Tableau 3 : Propriétés pharmacocinétiques des médicaments en voie de réadaptation.**

Composés	$\Delta G$	XLOGP3 -0.7<XLOGP3<+5.0	POLAR (Polarity) 71.44 Å <sup>2</sup>	INSOLU (Insolubilité) -6.85	INSTATU (Insaturation) 0.57	FLEX (Flexibilité) 5	Lipinski
6519634	-8	7.08	71.44 Å <sup>2</sup>	-6.85	0.57	5	Yes ; 1 Violation n: MLOGP > 4.15
129626671	-9.8	-0.21	132.97 Å <sup>2</sup>	-1.38	0.22	2	YES. Violation
69759407	-9.9	3.26	54.37 Å <sup>2</sup>	-3.78	0.70	1	Yes; 0 violation
76391099	-10	2.83	71.44 Å <sup>2</sup>	-3.45	0.63	2	Yes; 0 violation
154417841	-10.1	3.46	54.37 Å <sup>2</sup>	-3.98	0.62	1	Yes; 0 violation

Dans cette étude de Lipinski, aussi connue sous le nom de règle 5, ( $MW \leq 500$ ,  $MLOGS \leq 4$ ,  $15$ ,  $NorO \leq 10$ ,  $NhorOH \leq 5$ ), les diagrammes radar de biodisponibilité obtenus ont été analysés pour décrire leurs propriétés liées médicamenteuses : la lipophilie (XLOGP3 entre -0.7 et +5,0), Le poids moléculaire (entre 150 et 500 g/mol), la polarité (entre 20 Å<sup>2</sup> et 130 Å<sup>2</sup>), l'insolubilité (log S ESOL entre 0 et 6), l'insaturation (fraction Csp3 entre 0.25 et 1) et la flexibilité (entre 0 et 9). L'objectif de la règle de Lipinski est d'estimer la biodisponibilité par la voie orale d'un composé à partir de sa structure bidimensionnelle, pour laquelle il est possible qu'un composé ne remplissant pas au moins trois des cinq conditions pose des problèmes d'administration orale **30**.

Le tableau 03 montre que les cinq composés avec les codes suivants 129626671, 154417841, 69759407, 76391099 et 6519634 remplissaient les conditions et avaient donc des propriétés pharmacocinétiques consécutives des bases de Lipinski.

Dans notre travail, il a été constaté que les 5 composés fournissent de bons produits biologiques par la voie orale en tant que médicament pour inhiber la protéine OSBP. Par ailleurs, nous constatons que les deux composés avec les codes suivants 154417841 et 76391099 ont fourni des résultats intéressants avec une énergie de liaison de -10,1 et -10 kcal/mol, et peuvent être suggérés pour leur utilisation comme médicament pour inhiber la protéine OSBP.

# Conclusion

## Conclusion

---

La présente étude vise à proposer et développer d'éventuels inhibiteurs in silico qui agissent sur la protéine cible 7V62 contre le cancer induit par la protéine OSBP. Pour réaliser cette étude, nous avons utilisé l'amarrage moléculaire.

Parmi les 23 composés de la stelletine E qui ont été étudiés par docking moléculaire avec la protéine 7V62, il a été montré que les composés 154417841, 76391099, 6519634, 69759407 et 129626671 sont les 5 meilleurs inhibiteurs de la protéine 7V62, et que l'inhibiteur 2-[(8S,9S,10R,13S,14S)-10,13-diméthyl-11-oxo-2,7,8,9,12,14,15,16-Octahydro-1H-cyclopenta [a]phénanthrène-17-ylidène] acide acétique avec le code 154417841 et l'inhibiteur 4-(3a-méthyl-2,7-dioxo-4,5,5a,6,8,9,9a,9b-octahydro-1H-Cyclopenta[a]naphtalène-3-l'acide ylidène) pent-2-énoïque avec le code 76391099 présentent les meilleures énergies de liaison (-10,1 kcal/mol et -10 kcal/mol). Sur la base de ces résultats, ces substances pourraient être utilisées pour la thérapie anti cancéreuse, mais pour cela d'autres essais in Vivo et in vitro devraient être réalisées pour valider les résultats obtenus in silico.

**RÉFÉRENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

---

- 1- Bigay J, Antonny B. (2012). Curvature, lipid packing, and electrostatics of membrane organelles: defining cellular territories in determining specificity. *Dev Cell* ; 23 : 886-95.
- 2-Bigay J, Mesmin B, Antonny B. (2020). Un marché d'échange de lipides : Transport vectoriel du cholestérol Transport par la protéine OSBP. *Med Sci*; 36 :130-136.
- 3- Yan D & Olkkonen A. (2008). Characteristics of oxysterol binding proteins. *Int Rev Cytol* ; 265 : 253–285.
- 4-Kobayashi J, Arita M, Sakai S, et al. (2022). Ligand Recognition by the Lipid Transfer Domain of Human OSBP Is Important for Enterovirus Replication. *ACS Infect Dis*; 8: 1161-1170.
- 5- Laitinen S, Olkkonen VM, Ehnholm C, Ikonen E. (1999). Family of human oxysterol binding protein (OSBP) homologues. A novel member implicated in brain sterol metabolism. *J Lipid Res*; 40:2204-11.
- 6- Taylor FR, Kandutsch AA. (1985). Oxysterol binding protein. *Chem Phys Lipids*; 38:187–194.
- 7- Ngo MH, Colbourne TR, Ridgway ND. (2010). Functional implications of sterol transport by the oxysterol-binding protein gene family. *Biochem J*; 429: 13-24.
- 8- Levine TP. (2004). Short-range intracellular trafficking of small molecules across endoplasmic reticulum junctions. *Trends Cell Biol*; 14: 483 – 490.
- 9- Luo J, Jiang LY, Yang H, et al. (2019). Intracellular Cholesterol Transport by Sterol Transfer Proteins at Membrane Contact Sites. *Trends Biochem Sci*; 44: 273-292.
- 10- Mesmin B, Bigay J, Moser von Filseck J, et al. (2013). A four-step cycle driven by PI(4)P hydrolysis directs sterol/PI(4)P exchange by the RE-Golgi tether OSBP. *Cell*; 155: 830-43.
- 11-Mesmin B, Bigay J, Polidori J, et al. (2017). Sterol transfer, PI4P consumption, and control of membrane lipid order by endogenous OSBP. *EMBO*; 36: 3156-3174.
- 12-Levine TP, Munro S. (2002). Targeting of Golgi-specific pleckstrin homology domains involves both PtdIns 4-kinase-dependent and –independent components. *Curr Biol*; 12: 695 – 704.
- 13-Loewen CJR, Roy A, Levine TP. (2003). A conserved ER targeting motif in three families of lipid binding proteins and in Opi1p binds VAP. *Embo J*; 22: 2025 – 2035.
- 14- Im YJ, Raychaudhuri S, Prinz WA, Hurley JH. (2005). Structural mechanism for sterol sensing and transport by OSBP-related proteins. *Nature*; 437:154 – 158
- 15-Liu H, Huang S. (2020). Role of oxysterol-binding protein-related proteins in malignant human tumours. *World J Clin Cases*; 8:1-10.
- 16- Wang PY, Weng J, Anderson RG. (2005). OSBP is a cholesterol-regulated scaffolding protein in control of ERK 1/2 activation, *Science*; 307: 1472–1476.
- 17- Deschenes-Simard X, Kottakis F, Meloche S, Ferbeyre G. (2014). ERKs in cancer: friends or foes? *Cancer Res*; 74: 412–419.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

---

- 18- Burgett AW, Poulsen TB, Wangkanont K, et al. (2011). Shair, Natural products reveal cancer cell dependence on oxysterol-binding proteins, *Nat. Chem. Biol*; 7: 639–647.
- 19- Martel C, Georges D, Bray F, Ferlay J, Clifford GM. (2020). Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. *The Lancet Global Health*; 8(2): e180-e190.
- 20-DeBerardinis RJ, Sayed N, Ditsworth D, Thompson CB. (2008). Brick by brick : metabolism and tumor cell growth. *Curr Opin Genet Dev*; 18: 54–61.
- 21- Ruddon RW. (2007). *Cancer biology*. New York, Oxford University Press, Etats Unis: Oxford University Press
- 22- Lophatananon A, Usher-Smith J, Campbell J et al. (2017). Development of a Cancer Risk Prediction Tool for Use in the UK Primary Care and Community Settings. *Cancer Prevention Research*; 10(7): 421-430.
- 23- Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, et al. (2020). Observatoire mondial du cancer : « Cancer Today ». Lyon : Centre international de recherche sur le cancer.
- 24- Shair Matthew D. (2012). OSW-1 Analogs and conjugates, and thereof US 20140135279A1.pdf
- 25- Tang Y, Li N, Duan J, Tao W. (2013). Structure, Bioactivity, and Chemical Synthesis of OSW-1 and Other Steroidal Glycosides in the Genus *Ornithogalum*. *Chem Rev* ; 113 : 5480-514.
- 26- Xu J, Dang Y, Ren YR, Liu JO. (2010). Le trafic de cholestérol est nécessaire à l'activation de mTOR dans cellules endothéliales. *Proc Natl Acad Sci*; 107: 4764-9.
- 27- Pietrangelo A, Ridgway ND. (2018). Bridging the molecular and biological functions of the oxysterol-binding protein family. *Cell Mol Life Sci*; 75: 3079-98.
- 28- Petersen, Eric F, et al. (2004). UCSF Chimera, un système de visualisation pour la recherche exploratoire et analyse. *Journal de chimie computationnelle*; 13: 1605–1612.
- 29-Studio, Discovery. "Discovery Studio." *Accelrys [21]* (2008).
- 30- Lipinski, Christopher A, et al.(1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings." *Advance drug delivery reviews*; 1: 3-25.

## الملخص :

**المقدمة:** إن ناقل الكوليسترول داخل الخلايا OSBP هو بروتين ينظم التوزيع الخلوي للكوليسترول بين الشبكة الإندوبلازمية وجهاز جولجي. أظهرت الدراسات الحديثة أن مستويات التعبير OSBP مرتفعة في الخلايا السرطانية مقارنة بالخلايا الطبيعية. من خلال الارتباط بـ OSBP، تمنع الجزيئات الطبيعية لعائلة ORPphiline نمو الخلايا السرطانية، مما يوفر هدفًا جذابًا لعلاج السرطان. تم تصميم هذه الدراسة لتثبيط OSBP مع المانع ORPphiline في جميع أنواع السرطان باستخدام طريقة الالتحام الجزيئي. **الطريقة:** تم الحصول على الهيكل ثلاثي الأبعاد لبروتين OSBP من بنك بيانات البروتين. تم إجراء الالتحام الجزيئي باستخدام برنامج AUTODOCK VINA. في برنامج Chimera لدراسة تفاعل 23 نظير Stelletin E في سيليكو البروتين المستهدف. ونتائج الطاقة الملزمة كانت معيارا عنه ب كيلو كال /مول. ثم تم تحليل تفاعلات البروتين –رابطة باستخدام برنامج Discovery Studio ثم خصائص حركية الدواء لهذه النظائر باستخدام برنامج Swissdame.ch.Sa **النتيجة:** أوضحت دراستنا إن المركبات التي تحمل الاكواد 154417841 و 76391099 هي أفضل المرشحين كمثبطات يحتمل إن تكون نشطة ضد بروتين OSBP لعلاج السرطان.

**الكلمات المفتاحية:** OSBP; السرطان; الالتحام الجزيئي; ORPphilines; Stelletin E.

## Résumé :

**Introduction :** Le transporteur du cholestérol intracellulaire OSBP est une protéine qui régule la distribution cellulaire du cholestérol entre le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi. Des études récentes ont montré que les niveaux d'expression de l'OSBP sont élevés dans les cellules cancéreuses par rapport aux cellules normales. En se liant à l'OSBP, les molécules naturelles de la famille ORPphilines inhibent la croissance des cellules cancéreuses, ce qui constitue une cible attrayante pour le traitement du cancer. L'objectif de cette étude est d'identifier les inhibiteurs de l'OSBP en utilisant la méthode d'amarrage moléculaire.

**Méthode :** La structure tridimensionnelle de la protéine OSBP a été obtenue à partir de la protéine Data Bank. L'amarrage moléculaire a été réalisé à l'aide du programme AUTODOCK VINA, intégré dans le logiciel UCSF Chimera pour étudier in silico l'interaction de 23 analogues de Stelletin E avec la protéine cible ; les résultats de l'énergie de liaison ont été exprimés en (kcal/mol), les interactions protéine-ligand ont été analysées à l'aide de programme Discovery Studio, et les propriétés pharmacocinétiques de ces analogues à l'aide de programme swissadme.ch.

**Résultats :** Notre étude a montré que les composés portant les codes 154417841 et 76391099 sont les meilleurs candidats comme des inhibiteurs potentiellement actifs envers la protéine OSBP pour la thérapie anticancéreuse.

**Mots clés :** OSBP, ORPphilines, 7V62, l'amarrage moléculaire ; Stelletin E, cancer.

## Abstract:

**Introduction:** The intracellular cholesterol transporter OSBP is a protein that regulates the cellular distribution of cholesterol between the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus. Recent studies have shown that OSBP expression levels are elevated in cancer cells compared to normal cells. By binding to OSBP, the naturally occurring molecules of the ORPphilins family inhibit the growth of cancer cells, providing an attractive target for cancer treatment. This Study was designed to inhibit OSBP with the inhibitor ORPphilins in all types of cancer using the molecular Docking Method.

**Methods:** The three-dimensional structure of the OSBP protein was obtained from the protein Data Bank. Molecular docking was performed using the AUTODOCK program VINA, integrated into the UCSF Chimera software to study in silico the interaction of 23 Stelletin E analogs with target protein, and Binding Energy Results were Expressed in (kcal/mol), then the protein-ligand interactions were analyzed using Discovery Studio program, then the pharmacokinetic properties of these analogs to the program help swissadme.ch.

**Results:** Our study showed that compounds carrying the codes 154417841 and 76391099 are the best candidates as potentially active inhibitors against OSBP protein for cancer therapy.

**Keywords:** OSBP, ORPphilins, 7V62, molecular docking; Stelletin E, Anti-cancer.