



## Remerciements

Nous adressons nos remerciements à l'éternel, ALLAH tout puissant qui nous a soutenu et renforcé dans notre détermination à mener à bien ce travail.

Nos remerciements s'adressent ensuite à notre encadrante Dr **BERRAHOUI samira** pour avoir accepté de guider notre travail. Nous la remercions pour ses précieux conseils et corrections qui nous ont permis de mener à bien ce travail. Sa vision, son expertise et son soutien indéfectible ont été des sources d'inspiration constantes tout au long de cette recherche.

Nous tenons également à remercier, Dr **TABET HELLAL Sana**, maître de conférences au département de biologie, d'avoir accepté de présider le jury.

Nos remerciements s'adressent aussi au Dr **BEKHCHI Chahrazed**, Professeur au département de biologie, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à exprimer également toute notre reconnaissance à Dr **CHERRAK Sabri** qui nous a aidé et guidé tout le long de la réalisation de la partie pratique de cette étude, en nous faisant bénéficier de son expérience dans le domaine du docking moléculaire.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous nos enseignants du département de biologie à la faculté des sciences de la Nature et de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou-Bakr Belkaid Tlemcen.

## ***Dédicaces***

*Je dédie mon travail.....*

***À mes chers parents***

*Je tenais à prendre un moment pour vous exprimer toute ma reconnaissance et mon amour, vous avez été une source inépuisable de soutien d'encouragement et d'amour tout au long de ce voyage, votre confiance en moi et votre soutien indéfectible ont été les piliers de ma réussite. Je vous suis profondément reconnaissant d'être à mes côtés et des sacrifices que vous avez consentis pour me permettre d'atteindre cet objectif.*

***À ma famille*** qui m'a soutenu avec amour, patience et compréhension Votre soutien inconditionnel et vos encouragements continus ont été une force motrice puissante pour mon succès. Je vous suis profondément reconnaissant d'être à mes côtés.

***À ma seule et ma chère sœur bien aimée Chahrazed***

***À mes chers frère Oussama, Yacine***

***À mes chéris Hiba, Rajaa, Youssra, Lila, Chaimaa, Nour Al-Huda, Romaisa***

*À mes amis les plus fidèles Wissam, Douaa, Asma, Hafsa, Cette dédicace est un témoignage de mon amour et de ma gratitude envers vous, je vous remercie pour tous les moments inoubliables qu'on a passé ensemble.*

***À mon binôme Benmoussa Meriem,*** dans les moments de stress et de pression ta présence rassurante m'a donné la force nécessaire pour aller de l'avant, ton soutien inconditionnel et ta capacité à trouver des solutions ont été des atouts précieux dans notre travail d'équipe.

***Esma***

## *Dédicace*

*Je dédié ce modeste travail*

*A mes chers parent*

*pour leur soutien , leur patience leur encouragement durant mon parcours scolaire. surtout ma mère qui m'a soutenu financièrement et moralement.*

*A mes chers frères , **Youcef** et **Ali** pour leur confiance.*

*A chaque membre des familles **Benmoussa** ,**Berrahoui** .*

*A mes amis qui ont partagé toutes sortes de moments avec moi.*

*A mon amie la plus proche Narimen.*

*Ainsi à ma copine **Abd moumen Hafssa**, Je tiens à la remercier pour son aide.*

*Sans oublier mon binôme **Rezine Essma** pour leur patience , leur gentillesse et soutien dans des circonstances difficiles et sa patience pour compléter ce travail.*

*Et A tous ceux qui ont contribué de près ou de loi pour que ce travail soit possible, je vous dis merci.*

**Meriem**

## Résumé

ZP3, est l'une des protéines constitutives de la zone pellucide. Elle est indispensable pour la reconnaissance spécifique des spermatozoïdes et la fusion avec l'ovocyte ; en son absence, la fécondation ne peut pas se faire

Par docking moléculaire, nous avons recherché parmi les médicaments approuvés par la FDA, des inhibiteurs potentiels, susceptibles d'interagir avec ZP3. L'objectif est d'empêcher la fécondation par une approche contraceptive non hormonale.

Les résultats de l'amarrage moléculaire ont permis de ressortir 7 molécules susceptibles de se lier avec ZP3 avec une forte affinité de liaison.

Des études *in vitro* et *in vivo* seront nécessaires pour tester l'efficacité de ces molécules a faible dose afin d'éviter leurs effets secondaires.

**Mots clés :** ZP3, fécondation, contraception non hormonale, docking moléculaire.

## **Abstract**

ZP3 is one of the constituent proteins of the zona pellucida. It is essential for specific sperm recognition and fusion with the oocyte; in its absence, fertilization cannot take place.

Molecular docking was used to search for potential inhibitors of FDA-approved drugs that might interact with ZP3. The aim is to prevent fertilization using a non-hormonal contraceptive approach.

Molecular docking results have identified 7 molecules likely to bind ZP3 with high binding affinity.

*In vitro* and *in vivo* studies will be required to test the efficacy of these molecules at low doses in order to avoid their side effects.

**Key words:** ZP3, fertilization, non-hormonal contraception, molecular docking.

## ملخص

ZP3 هو أحد البروتينات المكونة للمنطقة الشفافة يعتبر أساسيا للتعرف بالحيوان المنوي و دمجها مع البويضة، في غيابه لا يتم الإخصاب.

اعتمادا على الالتحام الجزيئي بحثنا بين الادوية المعتمدة من طرف FDA على مثبطات محتملة يمكنها التفاعل مع ZP3 بهدف منع الإخصاب في إطار منع الحمل بطريقة غير هرمونية.

أظهرت الدراسات في المختبر وفي الجسم الحيوي ستكون ضرورية لاختيار فعالية هذه الجزيئات بجرعات منخفضة لتفادي آثارها الجانبية.

**الكلمات المفتاحية:** ZP3 ، الإخصاب ، منع الحمل غير الهرموني ، الالتحام الجزيئي

## Liste des abréviations

**DM** : Docking Moléculaire

**FDA**: Administration of Food Drug

**FIV** : Fécondation *in Vitro*

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PZP** : Protéine de la Zone Pellucide

**ZP** : Zone Pellucide

**Zp1** : Zone pellucide 1

**Zp2** : Zone pellucide 2

**Zp3** : Zone pellucide 3

**Zp4** : Zone pellucide 4

**$\Delta G$**  : Energie libre de Gibbs

## Table des matières

<b>Introduction</b> .....	<b>2</b>
<b>Synthèse bibliographique</b> .....	<b>4</b>
<b>Chapitre I</b> .....	<b>5</b>
1. Fécondation .....	<b>6</b>
2. Les gamètes .....	<b>7</b>
2.1.Spermatozoïde .....	7
2.2.Ovocyte .....	8
3. Les étapes de fécondation.....	<b>8</b>
3.1.Maturation des spermatozoïdes .....	8
3.2.Capacitation .....	8
3.3.Hyperactivation.....	9
3.4.Reaction acrosomique .....	9
4. La Zone Pellucide.....	<b>9</b>
5. La famille des gènes ZP .....	<b>10</b>
6. La protéine ZP3 .....	<b>11</b>
<b>Chapitre II</b> .....	<b>13</b>
1. Immuno-contraception .....	<b>14</b>
2. Immunocontraception anti-ZP .....	<b>15</b>
<b>Chapitre III</b> .....	<b>17</b>
1. Généralités sur le docking moléculaire .....	<b>18</b>
2. Principe du docking moléculaire.....	<b>18</b>
<b>Matériels et méthodes</b> .....	<b>20</b>
1. Logiciels et banques de données utilisés .....	<b>20</b>
2. Méthode .....	<b>22</b>
2.1.Préparation des molécules au docking.....	22
2.1.1.Récepteur .....	22
2.1.2.Ligand .....	23
2.2.Docking moléculaire.....	23
2.2.1.Préparation du récepteur .....	28
2.2.2.Préparation du ligand .....	30
<b>Résultats et discussions</b> .....	<b>33</b>
1. Criblage moléculaire .....	<b>33</b>
2. Docking moléculaire .....	<b>33</b>

<b>Conclusion .....</b>	<b>42</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>44</b>

## Liste des Figures

<b>Figure 1</b> : Diagramme schématique de l'interaction spermatozoïde-ovule chez les mammifères	6
<b>Figure 2</b> : Représentation schématique d'un spermatozoïde.....	7
<b>Figure 3</b> : Structure d'un ovocyte .....	8
<b>Figure 4</b> : Diagramme illustrant le rôle des protéines ZP dans la liaison aux spermatozoïdes et l'induction de la réaction lysosomale.....	10
<b>Figure 5</b> : Interaction spermatozoïde – zone pellucide .....	12
<b>Figure 6</b> : Immunocontraception utilisant une réponse immunitaire à la zone pellucide .....	15
<b>Figure 7</b> : Structure 3D de la protéine chaîne a de ZP3.....	22
<b>Figure 8</b> : Diagramme 2D de l'interaction l'Alectinib - ZP3 .....	37
<b>Figure 9</b> : Diagramme 2D de l'interaction Lapatinib -ZP3 .....	38
<b>Figure 10</b> : Diagramme 2D de l'interaction Danol-ZP3.....	39

## Liste des Tableaux

**Tableau 1** : Les meilleurs scores  $\Delta G$  révélés par le screening moléculaire par PyRx .....33

**Tableau 2** : Les meilleurs scores  $\Delta G$  révélés par le screening moléculaire par Chimera.....34

# **Introduction**

La surpopulation peut entraîner de nombreux problèmes de société ainsi que des changements dans l'habitat. Des mesures de contrôle des naissances sont donc nécessaires pour contrôler cette croissance (**Vickram et al., 2022**).

La contraception est pratiquée depuis des milliers d'années. D'après les études de l'organisation mondiale de santé, une grande partie des besoins en contraception humaine ne sont pas satisfaits par les méthodes disponibles pour diverses raisons médicales, économiques, politiques ou culturelles. De ce fait, le développement de nouvelles méthodes de contraception plus accessibles à des populations moins médicalisées, de moindre coût et aussi efficaces que les moyens actuels apparaît comme une nécessité. Au cours des 20 dernières années, un nombre important de stratégies a été proposé pour le développement de vaccins à effets contraceptifs (**Najar, 2003**).

Malgré les attentes élevées concernant des contraceptifs plus sûrs, efficaces, économiques et à action prolongée, à ce jour, aucun vaccin contraceptif homologué n'est disponible sur le marché. Les vaccins ont sans aucun doute un rôle à jouer en tant qu'aide à l'espacement des naissances et en tant que moyen non chirurgical de générer la stérilité (**Lekhwani et Vaswani, 2014**).

Des recherches ont été menées et de nombreuses études sur le contrôle de la fertilité des animaux sauvages se sont concentrées sur les immunocontraceptifs qui ciblent les hormones ou les protéines (**Massei, 2023**). Pour atteindre cet objectif, il est nécessaire d'identifier les protéines impliquées dans le processus de fécondation. Les cibles comprennent les antigènes du sperme, les antigènes des ovocytes, en particulier les protéines de la zone pellucide (**Cooper et Larsen, 2006**). Depuis les années 1970, la zone pellucide a suscité une attention considérable, cible prometteuse pour l'immunocontraception en tant que potentiel cible pour la contraception puisque son rôle clé dans les premières étapes de la fécondation a été reconnu (**Aitken, 2002**). C'est une couche de glycoprotéine extracellulaire entourant l'ovocyte de mammifère, impliquée dans la liaison spermatozoïde-ovule spécifique à l'espèce (**Ownby et Shivers, 1972**).

Shivers et Dunbar ont noté pour la première fois la présence naturelle d'anticorps anti-zone pellucide chez les femmes infertiles en 1977. Ces auteurs ont rapporté une incidence de 32 % d'auto-anticorps dans un groupe de 22 femmes infertiles testées ; les auto-anticorps n'ont pas été trouvés dans les témoins fertiles (**Caudle et Shivers, 1989**).

Il a été démontré que les anticorps dirigés contre la zone pellucide peuvent être utilisés pour l'inhibition de la fertilité. Depuis, plusieurs groupes ont étudié le potentiel des vaccins immuno-contraceptifs à base de ZP (zone pellucide). Ces vaccins sont très efficaces et non invasifs, ils peuvent offrir un effet à long terme allant de plusieurs mois à plusieurs années sans la nécessité d'une prise quotidienne ou régulière et contrairement aux méthodes contraceptives hormonales, ils n'entraînent pas des effets secondaires tels que des saignements irréguliers, des maux de tête et des nausées (**Kirkpatrick et al. , 2009**).

L'objectif de notre travail est d'envisager une contraception non hormonale en ciblant la zone pellucide et plus précisément la protéine ZP3, afin d'empêcher le spermatozoïde de se fixer à l'ovule, inhibant ainsi la fécondation.

Pour une approche *in silico*, nous avons cherché dans la base de données FDA, tenté de repositionner des molécules connues et commercialisées, pour cibler la protéine ZP3.

# **Synthèse**

# **Bibliographique**

# Chapitre I

## 1. Fécondation

La fécondation est le processus biologique par lequel un spermatozoïde pénètre dans un ovule pour former une cellule unique appelée zygote. Cela se produit dans les trompes de Fallope chez la femme. La fécondation est nécessaire pour la reproduction sexuée et la formation d'un nouvel être vivant (Figure 1) (Hanisha et al., 2019) .

Ce processus marque le début du développement embryonnaire chez les organismes sexués et conduit à la formation d'un nouvel individu. La fécondation est souvent précédée par une série de processus de reconnaissance et d'interaction entre les spermatozoïdes et l'ovule, qui permettent la sélection d'un spermatozoïde capable de féconder l'ovule. Après la fusion des gamètes, le zygote subit une série de divisions cellulaires pour former une structure multicellulaire appelée blastocyste, qui peut ensuite s'implanter dans l'utérus pour poursuivre le développement embryonnaire. La fécondation est un processus crucial pour la reproduction sexuée et est étroitement régulée par une variété de mécanismes moléculaires et cellulaires complexes (Gupta et al., 2009) .

La fécondation peut être naturelle, c'est-à-dire qu'elle se produit lors d'un rapport sexuel entre un homme et une femme, ou elle peut être assistée par des techniques de procréation médicalement assistée, telles que la fécondation in vitro (FIV) (Serres et al. , 2008).

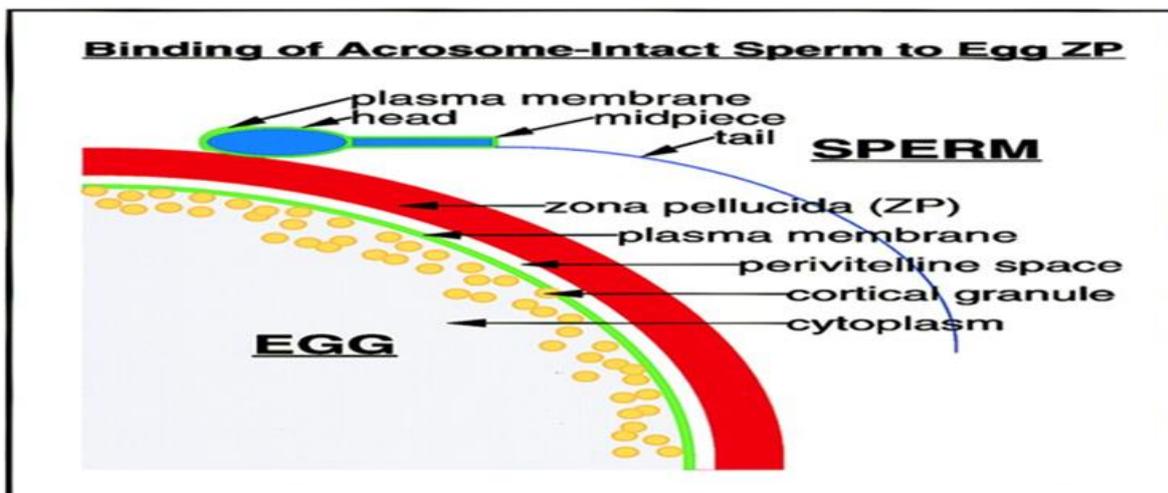


Figure 1 : Diagramme schématisé de l'interaction spermatozoïde-ovule chez les mammifères (Wassarman, 1999)

## 2. Les gamètes

### 2.1.Spermatozoïde

Le mot sperme est dérivé du mot grec «sperma», qui signifie «graine» (GeorGadaki et al., 2016). Le spermatozoïde d'un mammifère peut être séparé en deux parties : tête et queue (Teves et Roldan, 2022). La tête contient le noyau, que renferme des fibres de chromatine densément enroulées, et sera encerclé antérieurement par l'acrosome, un sac étroit et aplati qui transporte des enzymes pour percer l'œuf femelle. La queue est le composant le plus long, également connu sous le nom de flagelle (Figure 2) (Lee, 2021).

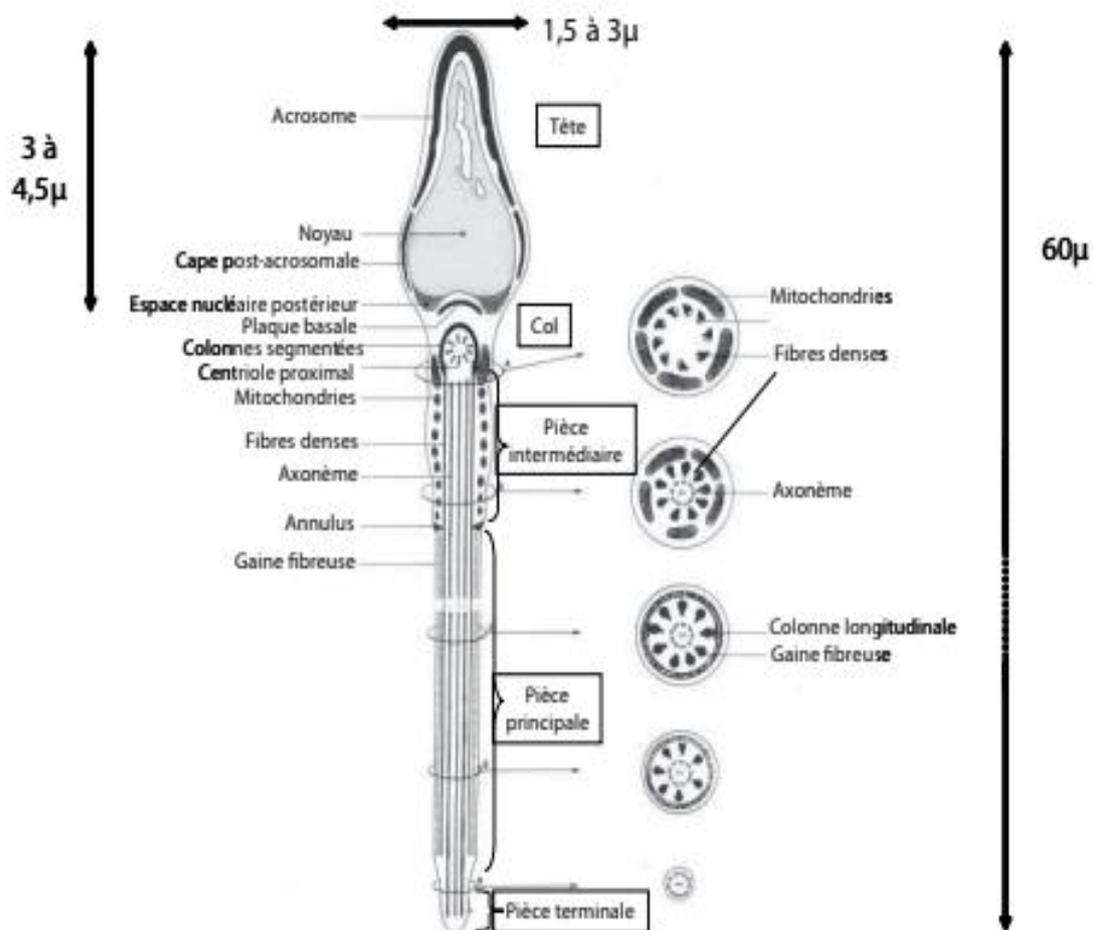
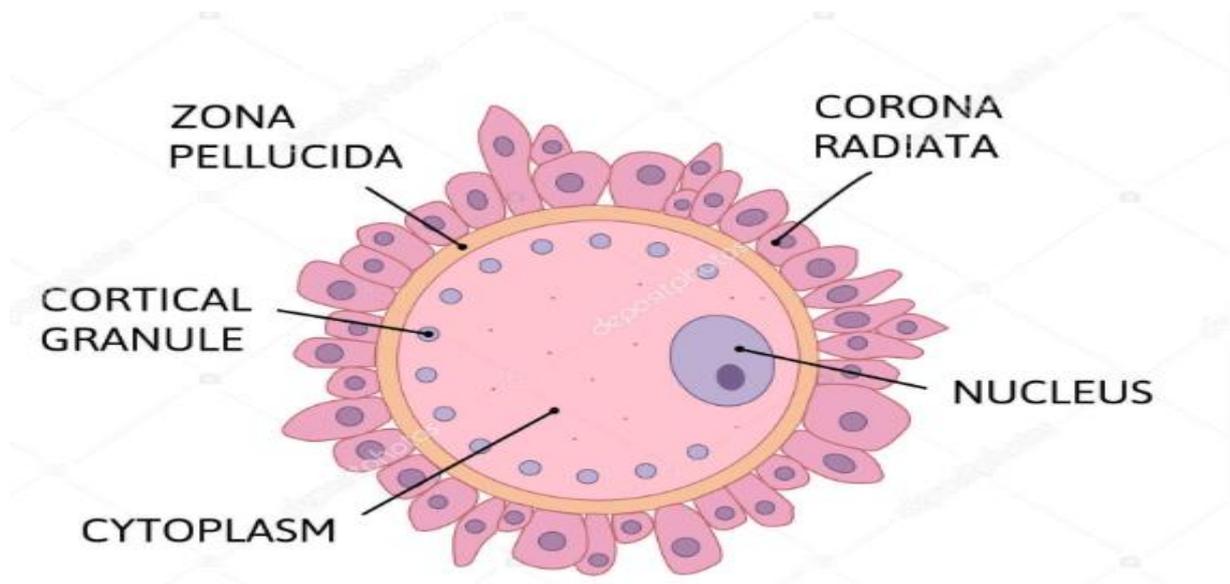


Figure 2 : Représentation schématique d'un spermatozoïde (Cohen-Bacrie, 2008)

## 2.2.Ovocyte

Situé au niveau de l'ovaire, l'ovule une grosse cellule sphérique, immobile, entourée d'une enveloppe translucide formée de protéines, la ZP. A l'extérieur de la ZP, l'ovocyte est inclus dans une masse cellulaire appelée cumulus oophorus, dont la couche en contact avec la ZP est nommée corona radiata (**Figure 3**) (**Royère,2006**)



**Figure 3 : Structure d'un ovocyte (Gahlay et Rajbut, 2020)**

## 3. Les étapes de fécondation

### 3.1.Maturation des spermatozoïdes

Pour devenir féconds, les spermatozoïdes doivent subir deux processus de maturation extra-testiculaires, l'un dans l'appareil reproducteur masculin, connu sous le nom de maturation épидидymaire des spermatozoïdes, et le second dans l'appareil féminin, appelé capacitation. Les deux sont associés à des changements biochimiques séquentiels se produisant dans différents compartiments du sperme (**Gervasi et al ,2017**).

### 3.2.Capacitation

Comprend de multiples modifications physiologiques et biochimiques. Les modifications biochimiques associées au processus de capacitation comprennent un efflux de cholestérol de la membrane plasmique entraînant une augmentation de la fluidité et de la perméabilité de la membrane aux ions bicarbonate et calcium (**Ickowicz et al, 2012**).

### 3.3. Hyperactivation

Les spermatozoïdes subissent une hyperactivation dans l'appareil reproducteur féminin avant la pénétration de l'œuf. Les spermatozoïdes mobiles ne subissant pas d'hyperactivation ne peuvent pas féconder (**Dey et al., 2019**).

### 3.4. Réaction acrosomique

Est une étape cruciale lors de l'interaction des gamètes chez toutes les espèces, y compris l'homme. Elle permet aux spermatozoïdes de pénétrer dans la zone pellucide et de fusionner avec la membrane de l'ovocyte (**Figure 4**). Les spermatozoïdes incapables de subir la réaction acrosomique ne féconderont pas les ovocytes intacts (**Brucker et al., 1995**).

## 4. La zone pellucide

Est une enveloppe acellulaire entourant l'ovocyte des mammifères (**Bercegeay et al., 1993**). Elle est composée de quatre glycoprotéines désignées sous le nom de zone pellucide glycoprotein-1 (ZP1), -2 (ZP2), -3 (ZP3) et -4 (ZP4) respectivement (**Ganguly et al., 2010**).

Les glycoprotéines ZP jouent un rôle essentiel dans l'accomplissement de la fécondation en agissant comme ligand pour la liaison des spermatozoïdes à l'ovule suivi de l'induction de l'exocytose acrosomique et blocage de la polyspermie (**Figure 4**) (**Gupta, 2018**).

La ZP a plusieurs fonctions, dont la protection de l'ovocyte des dommages physiques et des attaques immunitaires, ainsi que la régulation de l'entrée des spermatozoïdes dans l'ovocyte. De plus, elle facilite la fusion des membranes des spermatozoïdes et des ovocytes lors de la fécondation.

La ZP joue également un rôle essentiel dans la prévention de la polyspermie, ou la fécondation de l'ovule par plus d'un spermatozoïde. Ceci est réalisé grâce à un certain nombre de mécanismes, notamment la création d'une barrière physique qui bloque l'entrée de spermatozoïdes supplémentaires et la libération d'enzymes qui dégradent la ZP après qu'un seul spermatozoïde l'a pénétrée avec succès (**Wassarman, 2008**).

Dans les technologies de procréation assistée, telles que (FIV), le retrait ou la modification de la ZP peut être nécessaire pour faciliter la fécondation et l'implantation d'embryons (**Goudet et al., 2008**).

## 5. La famille des gènes ZP

- Le gène ZP1 humain possède 12 exons et code pour un polypeptide de 638 acides aminés (aa) ( **Lefièvre et al., 2004**). ZP1 remplit une fonction structurale, étant indispensable pour la liaison ou la fécondation des spermatozoïdes . Les femelles nulles ZP1 présentent une folliculogénèse perturbée et, bien que les taux d'ovulation ne soient pas affectés, le taux de clivage et la taille de la portée sont réduits, probablement en raison de l'incapacité de la zone nulle ZP1 à protéger l'embryon en développement (**Toranzo,2019**).
- Le gène ZP2 humain a 19 exons et code pour un polypeptide de 745 aa de long. La protéine ZP2 de la zone pellucide joue un rôle important dans le processus de fécondation en assurant la liaison secondaire des spermatozoïdes aux ovocytes de mammifères (**Hinsch et al., 1998**).
- La ZP3 humaine est un polypeptide long de 424 aa, codé par 8 exons. Il possède une séquence peptidique signal hydrophobe N-terminale longue de 22 aa qui entraîne la protéine dans la voie de sécrétion (**Bansal et al., 2009**).
- Le gène humain ZP4 (pseudogène chez la souris) , code pour un polypeptide long de 540 acides aminés. Le gène ZP4 couvre 12 exons et 11 introns (**Meczekalski et al., 2015**). Le rôle de la ZP4 humaine dans l'induction de la réaction acrosomique a également été confirmé par des études indépendantes utilisant de la ZP4 native ou recombinante (**Younger et al., 2011**).La figure 4 résume le rôle de chacunes des PZP dans le processus de fécondation.

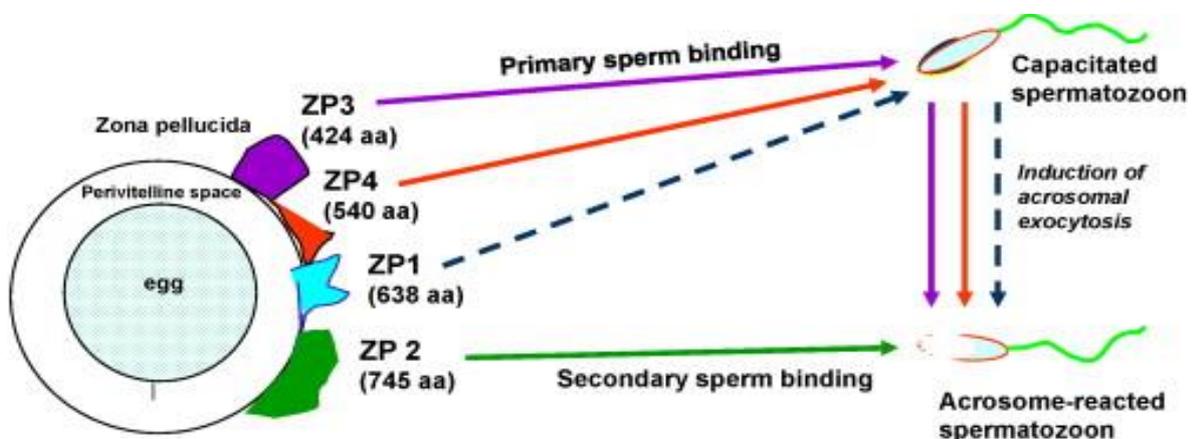


Figure 4 : Diagramme illustrant le rôle des protéines ZP dans la liaison aux spermatozoïdes et l'induction de la réaction lysosomale (Gupta et al. , 2009)

### 6. La protéine ZP3

La ZP3 joue un rôle essentiel dans la processus de la fécondation se liant au sperme et en déclenchement de la réaction acrosomique (**Wassarman ,2008**).

La structure de la zone pellucide change pendant la fécondation. La liaison des spermatozoïdes à la protéine ZP3 déclenche une cascade d'événements qui conduit au durcissement de la ZP et à la libération d'enzymes permettant aux spermatozoïdes de pénétrer dans la matrice et de fusionner avec la membrane de l'ovocyte (**Xu et al., 2020**).

ZP3 est hautement conservée parmi les espèces de mammifère et une cible clé pour le développement de contraceptifs et de traitements de fertilité. Les chercheurs étudient l'utilisation de vaccins ou d'anticorps à base de ZP3 comme moyen de prévenir la fécondation en bloquant la liaison des spermatozoïdes à la ZP, ce qui pourrait potentiellement conduire au développement de contraceptifs non hormonaux (**Bianchi et al., 2018**). A l'inverse, les traitements à base de ZP3 pourraient être utilisés pour favoriser la fécondation en cas d'infertilité en améliorant la liaison des spermatozoïdes à la ZP (**Liu et al., 2019**),

Des études ont montré que des mutations du gène ZP3 peuvent entraîner l'infertilité chez certaines femmes, Indiquant l'importance de cette glycoprotéine dans la fertilité humaine. De plus. ZP3 a été identifiée comme une cible potentielle pour le développement de nouvelles thérapies anticancéreuses, car elle est surexprimée dans certains types de cellules cancéreuses (**Wu et al., 2021**). De plus, des mutations dans ZP1 humaine, ZP2 et ZP3 influencent leurs fonctions et entraînent un manque de ZP ou un syndrome des ovocytes anormaux et des follicules vides, ce qui conduit à l'infertilité féminines (**Cao et al., 2020**).

### 7. Mécanisme de l'interaction spermatozoïde-zone pellucide

Les spermatozoïdes se lient à la ZP au moyen de récepteurs membranaires qui reconnaissent les fractions glucidiques sur les glycoprotéines ZP selon un processus séquentiel bien précis. Lors de la fixation initiale, les spermatozoïdes se lient à ZP3 / ZP4 (**Figure 5**), ce qui induit l'exocytose de l'acrosome du sperme, suivie d'une liaison secondaire du spermatozoïde ayant réagi avec l'acrosome à ZP2 (**Serres et al., 2008**).

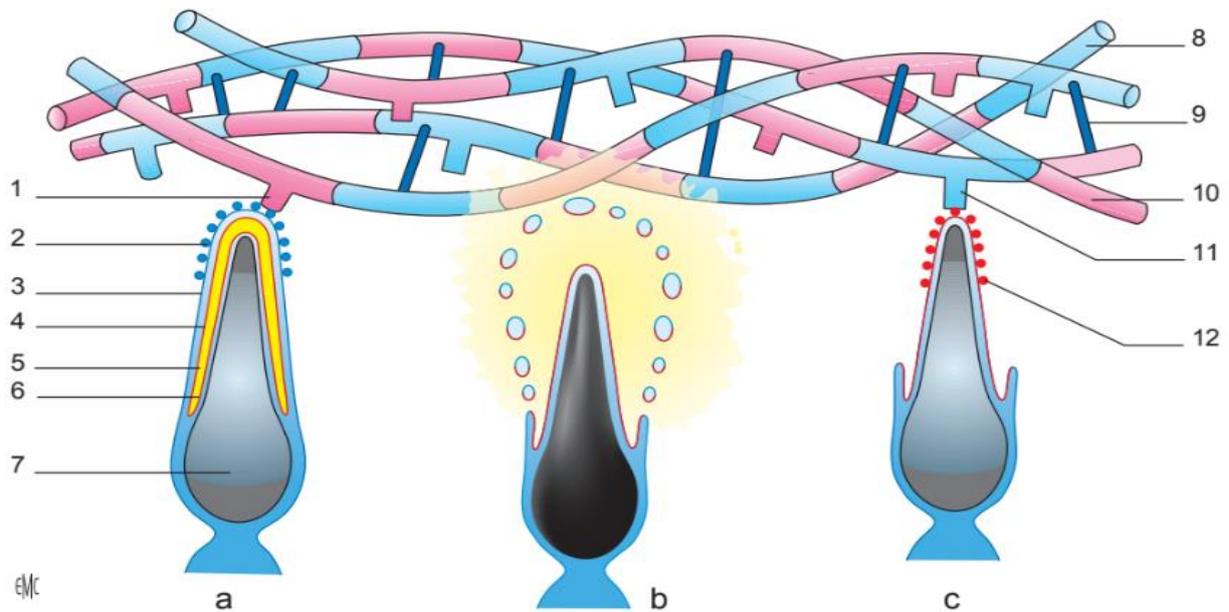


Figure 5 : Interaction spermatozoïde – zone pellucide (Hamamah et al., 2009)

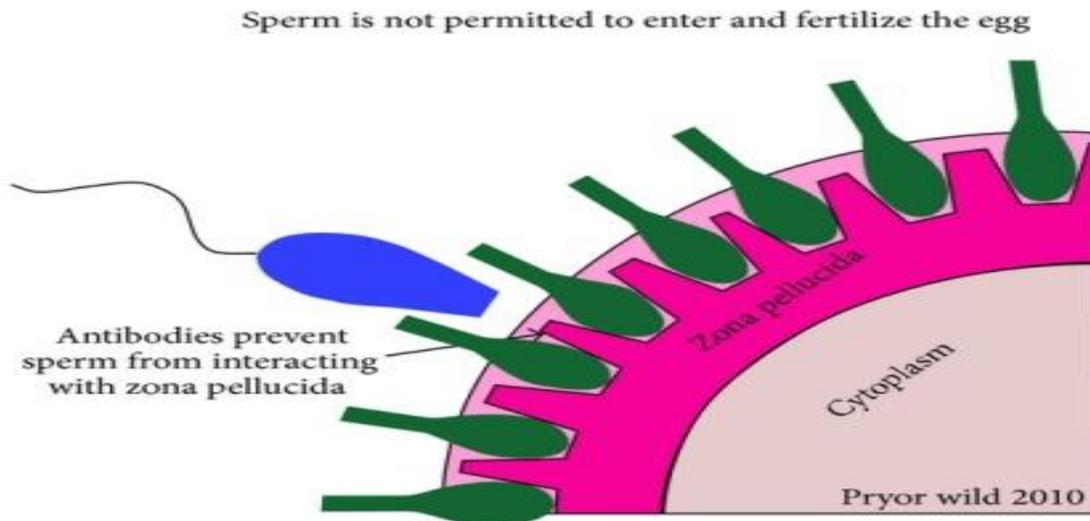
1. Chaîne oligosac-charidique de ZP3 ;
2. Récepteurs membranaires spermatisques ;
3. Membrane plasmique ;
4. Membrane acrosomique externe ;
5. Acrosome ;
6. Membrane acrosomique interne ;
7. Noyau ;
8. ZP2 ;
9. ZP1 ;
10. ZP3 ;
11. Chaîne saccharidique de ZP2 ;
12. Récepteurs acrosomiques

# **Chapitre II**

### 1. Immuno-contraception

L'immuno-contraception est une nouvelle approche de contrôle de la fertilité . Elle vise à réduire la fertilité des populations féminines principalement. (**Yadav et al., 2022**). En utilisant la propre réponse immunitaire d'un animal pour perturber la fonction de reproduction. Il s'agit de l'administration d'un vaccin qui induit une réponse immunitaire adaptative (**Kaur et Prabha, 2014**). Des protéines d'œufs, de spermatozoïde , d'ovule fécondés et d'hormones de reproduction ont été proposées de diverses manières pour être utilisées dans le développement d'un vaccin pour le contrôle de la fertilité. En effet, les méthodes immunocontraceptives utilisent des facteurs impliqués dans des processus cruciaux de reproduction. Ces facteurs, connus sous le nom d'antigènes, sont soit des hormones de reproduction, soit des protéines impliquées dans la fécondation ou d'autres aspects de la reproduction . L'injection d'un tel antigène entraîne la production d'anticorps spécifiques, qui neutralisent ensuite l'antigène (typique des hormones) ou bloquent un processus de reproduction tel que la fécondation .Pour améliorer la réponse immunitaire, les antigènes sont associés à un ou plusieurs adjuvants (**Bertschinger et al., 2018**).

Le vaccin immunocontraceptif le plus largement testé pour les espèces sauvages est basé sur le développement d'anticorps dirigés contre ZP (**Figure 6**). Ce vaccin a réussi à provoquer l'infertilité chez certains animaux, mais nécessite plusieurs traitements (**Muller et al, 1997 ; Cooper et Larsen, 2006**).



**Figure 6 : Immunocontraception utilisant une réponse immunitaire à la zone pellucide (Yadav et al., 2022)**

## 2. Immunocontraception anti-ZP

Du fait des rôles majeurs de la ZP dans le processus de la fécondation (interaction avec les spermatozoïdes, induction de la réaction acrosomique et contrôle de la polyspermie), elle est une cible attractive pour le développement d'un vaccin contraceptif. Les contraceptifs à base d'anticorps ZP, qui ciblent les événements précédant la fusion des gamètes, sont exempts de problèmes éthiques potentiels concernant la destruction d'embryons prématurés. La teneur élevée en protéines de la ZP de mammifère, la connaissance des séquences complètes d'acides aminés des principales protéines ZP et le degré élevé d'homologie de séquence entre les espèces individuelles soutiennent tous les progrès rapides des projets de vaccins anti-ZP (Tesarik, 1995).

Le vaccin PZP est produit en créant une zone pellucide antigène dérivé d'ovocytes porcins. Une fois la femelle inoculée avec le vaccin PZP, son système immunitaire répondra en produisant des anticorps contre l'antigène ovocytaire du porc. Les mêmes anticorps se lient également aux récepteurs des spermatozoïdes à la surface de l'ovule, ce qui provoquera une déformation de la structure de l'ovule, bloquant ainsi la fixation du spermatozoïde rendant l'ovule infertile sans aucun autre effet secondaire ou impact comportemental (Rosenfield et Pizzutto, 2018).

Les anticorps dirigés contre ZP3 ou des fragments peptidiques empêchent la fécondation *in vitro* chez diverses espèces animales, y compris les humains. L'insémination active d'animaux

femelles de diverses espèces, y compris des primates, avec ZP3 ou des fragments peptidiques entraîne la stérilité. Fait intéressant, le vaccin PZP a été testé sur plus de 112 espèces différentes, dont des phoques, des lions de mer et des ours, dans 110 zoos différents pour contrôler les populations animales (Naz, 2005).

En théorie, la contraception résultant de pZP ou d'autres vaccins anti-fertilité sera automatiquement inversée une fois que les concentrations d'anticorps circulants chuteront en dessous d'un seuil . Et dans des études sur des chevaux, il a été démontré que la vaccination pZP pendant jusqu'à quatre ans peut être réversible. Les observations de la vaccination pZP chez les éléphants ont également confirmé le retour de la fertilité environ un an après une série de trois vaccinations .Cependant, chez les chevaux vaccinés pendant de plus longues périodes, la récupération de la fertilité a été retardée jusqu'à quatre ans , parce que la vaccination pZP a entraîné une baisse du taux d'ovulation ultérieur .

# Chapitre III

### 1. Généralités sur le docking moléculaire

Avec le développement des outils informatiques, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire s'est très vite introduit dans le domaine de la recherche en biologie (**Boucherti et al. , 2013**). DM est un outil clé de la biologie moléculaire structurale et de la conception de médicaments assistée par ordinateur.

C'est la méthode de chimie computationnelle la plus utilisée dans la conception de médicaments basée sur la structure en raison de sa capacité à prédire, avec une précision fiable (**Ouassaf et al. , 2021**).

L'application la plus importante de l'amarrage moléculaire est le criblage virtuel. Une variété de programmes d'amarrage ont été utilisés pour imaginer la structure tridimensionnelle de la molécule et le gain d'amarrage peut également être analysé à l'aide de méthodes de calcul différentes. L'amarrage peut être utilisé pour exécuter un criblage virtuel sur de grandes bibliothèques de composés, classer les résultats et suggérer des hypothèses structurelles sur la façon dont les ligands réduisent la cible, ce qui est précieux dans l'optimisation des pistes (**Dnyandev et al. , 2021**).

Le DM vise à prédire la structure et l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation d'un complexe moléculaire « ligand-protéine » ou « protéine-protéine », à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales *in vitro*.

Le DM permet soit de découvrir de nouvelles molécules (par assemblage de deux ou plusieurs molécules), soit de comprendre la nature d'un complexe de molécules obtenu par cristallographie (**Barre et al. , 2018**).

### 2. Principe du docking moléculaire

Le docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées. DM décrit le processus de placement de molécules (ligand) sur des sites actifs de la protéine cible dans l'espace tridimensionnel. Il y a deux composants principaux : prédiction de l'affinité du complexe (ligand - protéine) et prédiction de la position correcte le ligand passe dans le site actif de la protéine. La prédiction d'affinité est liée à différents ligands de la collection, certains conviennent mieux que d'autres. La prédiction de position est liée à la même molécule de ligand mais dans des orientations différentes (**Bender et al. , 2021**).

# **Matériels et Méthodes**

### 1. Logiciels et banques de données utilisés

- **PDB** (<https://www.rcsb.org/>) est la banque de données protéique Protein Data Bank Il s'agit de fichiers de données qui contiennent des informations sur la structure tridimensionnelle des protéines, des acides nucléiques et d'autres molécules biologiques. Ils sont créés à partir de techniques expérimentales telles que la cristallographie aux rayons X, la résonance magnétique nucléaire (RMN) et la microscopie électronique. Les fichiers PDB sont utilisés dans de nombreux domaines de la recherche biomoléculaire, notamment la conception de médicaments, la biologie structurale, la bio-informatique et la recherche sur les protéines (**Berman et al., 2003**).
- **PyRx** (Python Prescription) est un outil open-source utilisé dans la découverte de médicaments et la conception de ligands. Il est basé sur le langage de programmation Python et fournit une interface conviviale pour effectuer des tâches telles que le docking moléculaire, le virtual screening (criblage virtuel) et la visualisation des structures moléculaires. Doté d'une interface utilisateur intuitive et fonctionnant sur les principaux systèmes d'exploitation (Linux, Windows et Mac OS) (**Dallakyan et Olson, (2015)**
- **Chimera** est un programme informatique de visualisation moléculaire et de modélisation pour la biochimie et la biologie structurale. Il permet de visualiser des molécules biologiques en 3D, telles que des protéines, des acides nucléiques, des lipides et des hydrates de carbone, et de simuler des processus moléculaires tels que la liaison ligand-protéine et la dynamique moléculaire (**Huang et al., 2014**).
- **Robbeta** est un logiciel de bioinformatique utilisé pour prédire la structure de protéines à partir de leur séquence d'acides aminés. Il se concentre sur la prédiction des structures de protéines à feuille  $\beta$ . Le programme Robbeta utilise une méthode de prédiction basée sur l'apprentissage automatique (machine learning). Il utilise une base de données de structures de protéines à feuille  $\beta$  connues pour entraîner son algorithme et prédire la structure de nouvelles protéines à partir de leur séquence d'acides aminés. Il utilise également des algorithmes de prédiction de la structure secondaire de la protéine pour aider à prédire les contacts interatomiques et les arrangements de feuilles  $\beta$  nécessaires pour la formation de la structure de la protéine (**Kim et al., 2004**).

- **PubChem** est une base de données en ligne gratuite qui fournit des informations sur les activités biologiques des petites molécules. Elle est gérée par le Centre National de Biotechnologie de l'Information (NCBI), qui fait partie de la bibliothèque nationale de médecine des États-Unis (NLM). PubChem est une ressource complète permettant aux chercheurs, aux scientifiques et au grand public d'accéder aux informations sur les substances chimique (**Bolton et al., 2008**).
- **ZINC** (<https://zinc.docking.org/> ) est une ressource publique gratuite pour la découverte de ligands. La base de données contient plus de 20 millions de molécules disponibles dans le commerce dans des représentations biologiquement pertinentes qui peuvent être téléchargées dans des formats et sous-ensembles populaires prêts à l'emploi (**Irwin et Shoichat, 2005**).
- **Discovery Studio** est un logiciel de solutions de conception moléculaire biologique pour les chimistes et les biologistes computationnels et facilite l'examen des propriétés des petites et grandes molécules. De plus, des meilleurs algorithmes de visualisation à 3D des interactions qui résultent par des stimulations de docking (**De Luca et al., 2020**).

## 2. Méthode

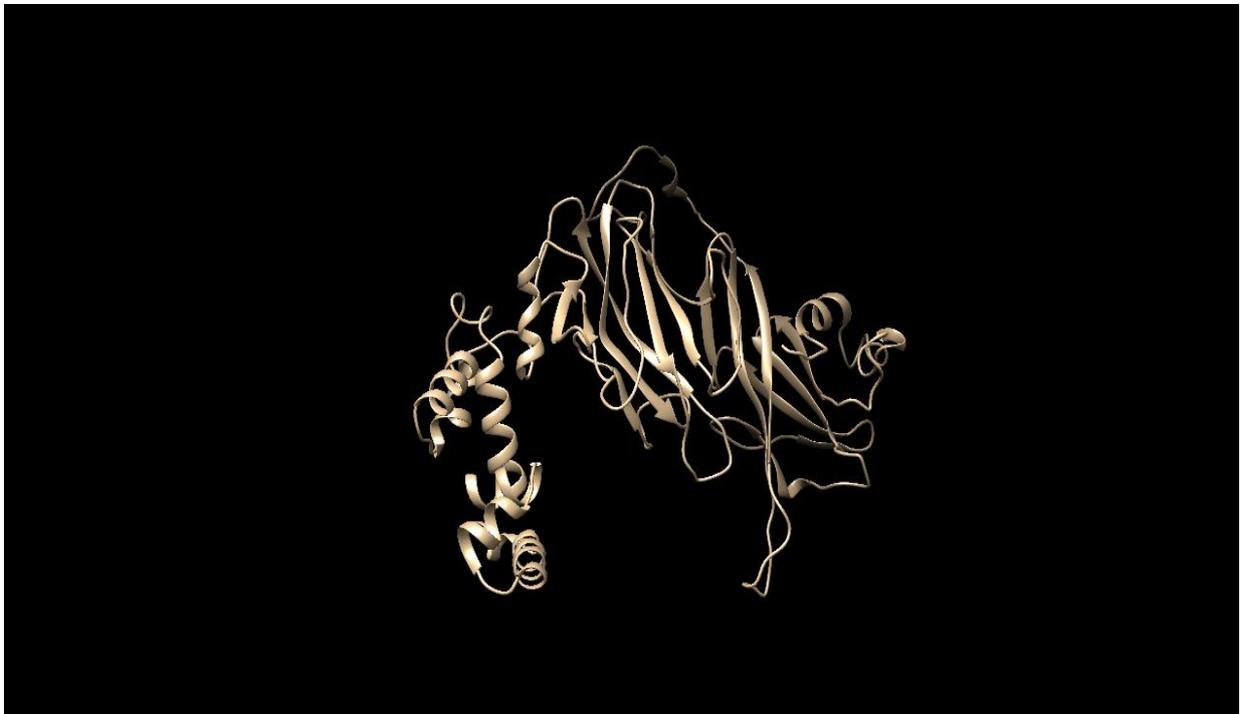
### 2.1. Préparation des molécules au docking

#### 2.1.1. Récepteur

Etant donné que la structure cristallographique de la protéine ZP3 humaine n'est pas disponible dans PDB, nous avons procédé à sa modélisation sur Robetta modals, en utilisant la structure de ZP3 du poulet comme référence.

L'alignement des séquences de la la ZP3 humaine (424 aa) et la séquence de la ZP3 du poulet (415 aa), a montré qu'elles avaient une homologie de 60%.

La **figure 7** représente la structure 3D de la protéine ZP3 répertorié sous le code Robbeta \_modals\_ 510245.



**Figure 7 : Structure 3D de la protéine chaîne a de ZP3**

### 2.1.2. Ligand

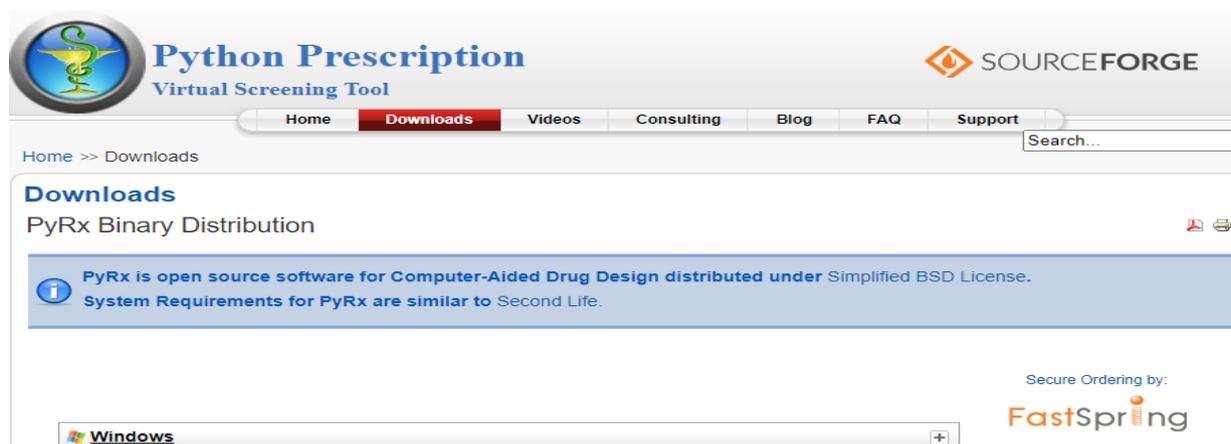
Les structures des ligands sont obtenues a partir du site PubChem. Pour télécharger les molécules FDA (Food and Drugs Administration), nous suivons les étapes suivantes :

- Cliquer sur *Substances* pour rechercher les sous-ensembles.
- Cliquer sur *Sous-ensembles* pour rechercher les médicaments approuvés par la FDA, dans la Drug Bank.
- Télécharger les structures des ligands sous forme SDF.

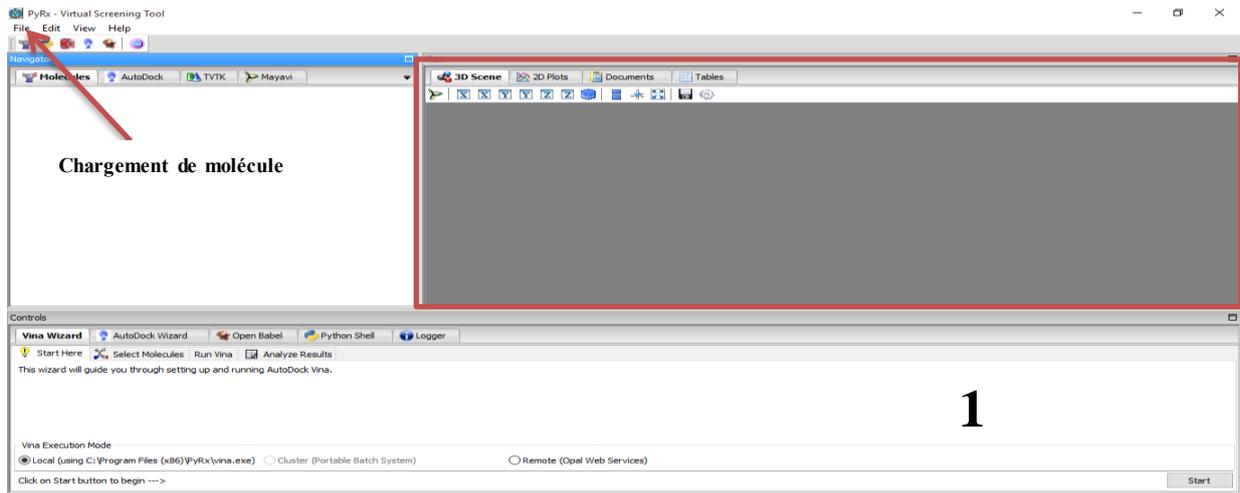
### 2.2.Docking moléculaire

Le docking moléculaire sur PyRx se déroule les étapes suivantes :

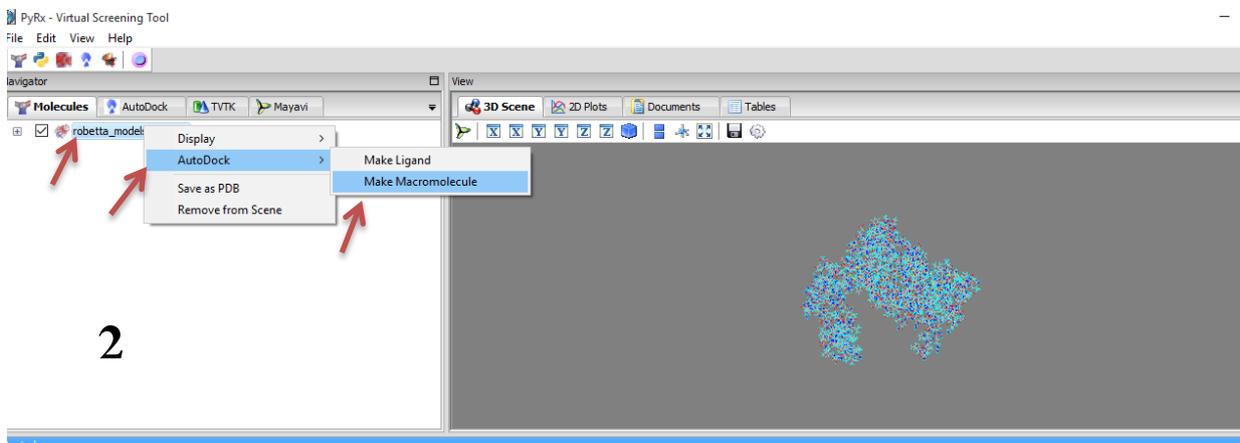
- Télécharger PyRx : <https://pyrx.sourceforge.io/>



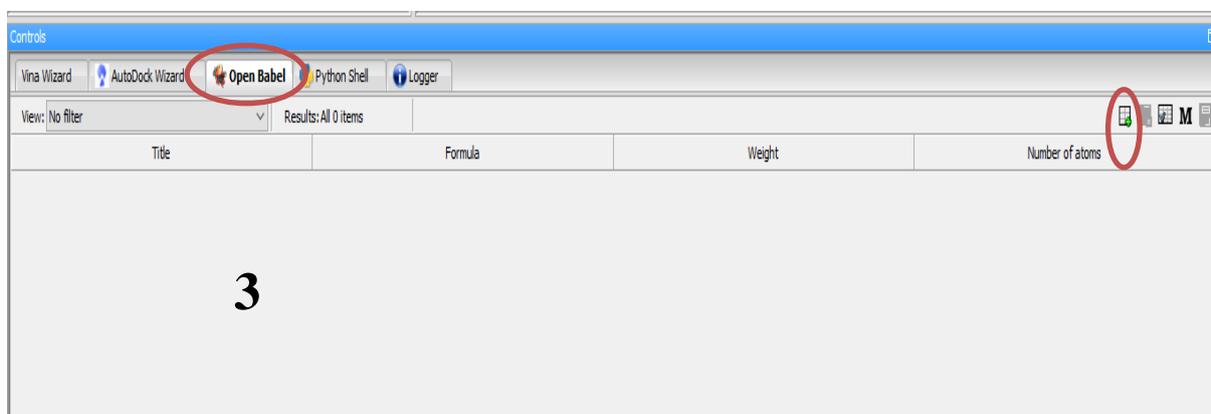
- Chargement des molécules l'espace de travail PyRx.
- Cliquer sur File puis sur Load Molecule et sélectionner le fichier robbeta\_ modals\_510245.



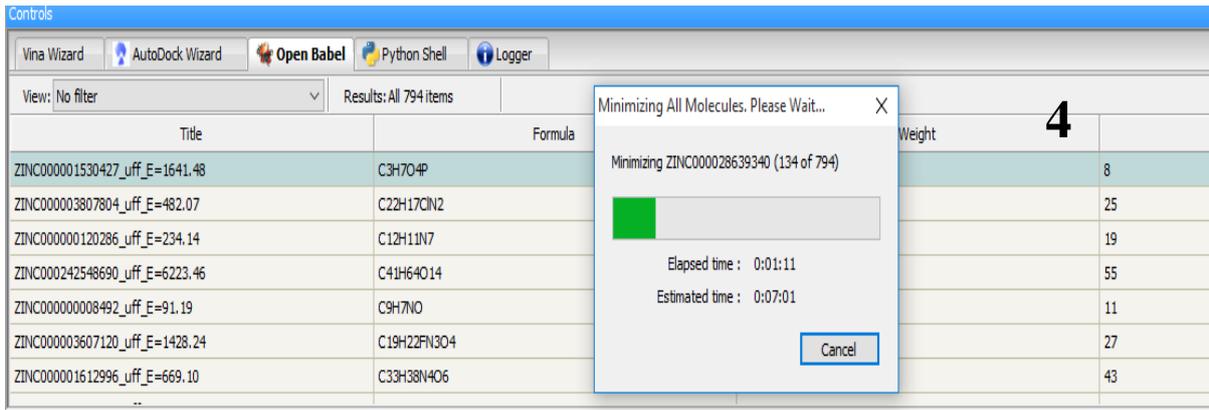
- Cliquer sur molécules /AutoDock/ Make Macromolecule



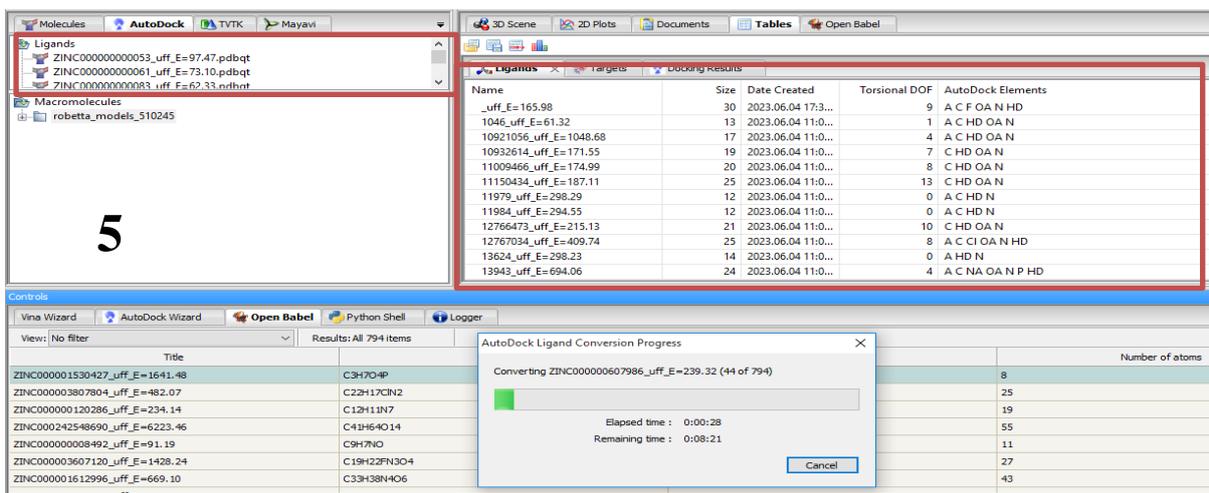
- Cliquer sur Open Babel/ insert new item/ sélectionner la base de données FDA.



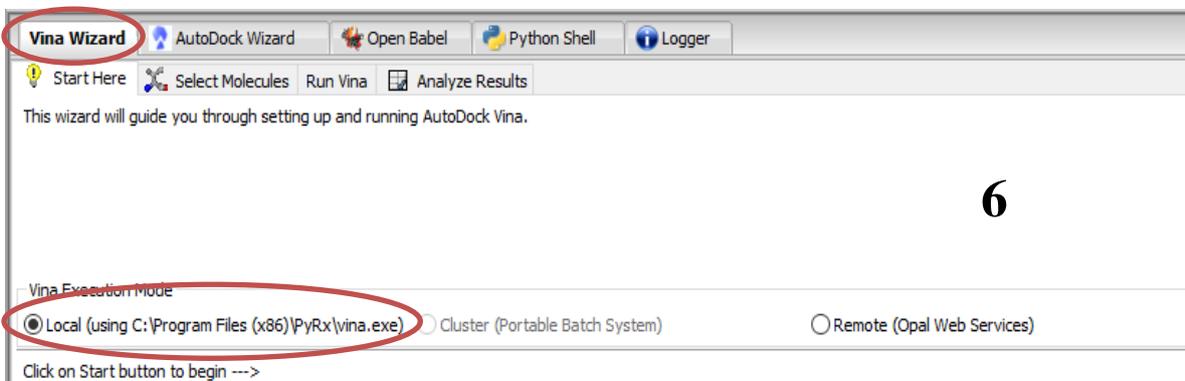
- Cliquer droit et sélectionner Minimize All



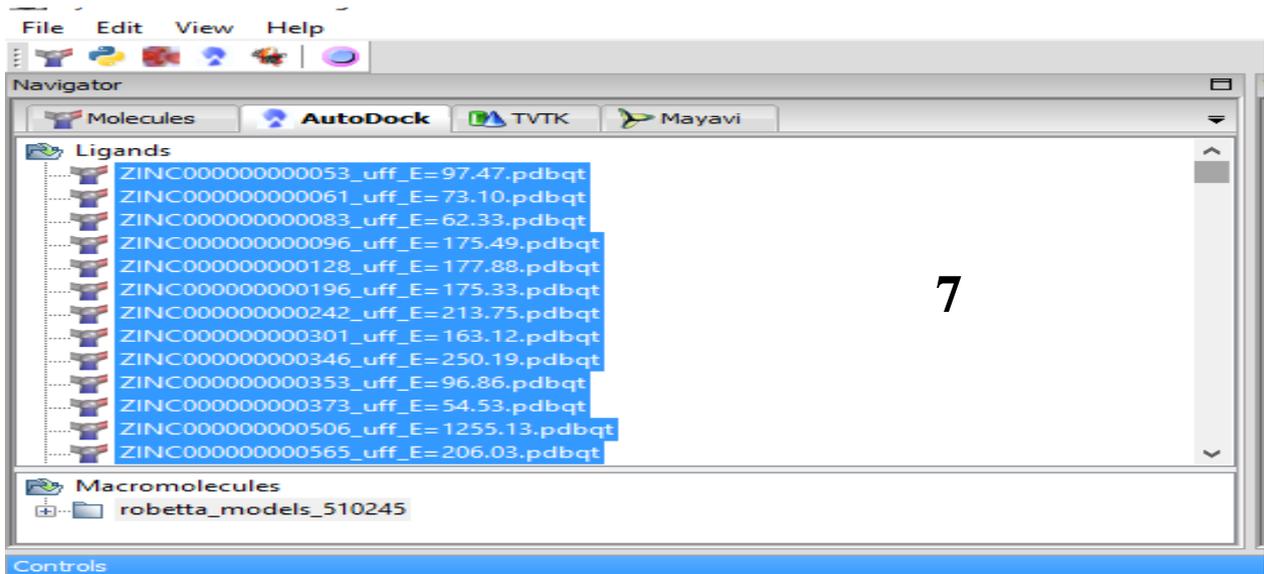
➤ Cliquer droit et sélectionner Convert All to AutoDock Ligand (pdbqt)



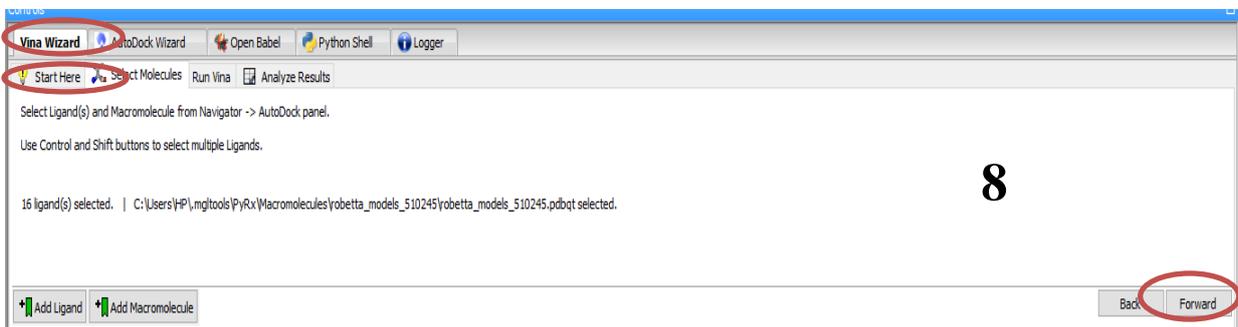
➤ Cliquer Vina Wizard \_sélectionner Local/ start/Add Macromolecule\_ sélectionner robbetta \_modals \_510245.



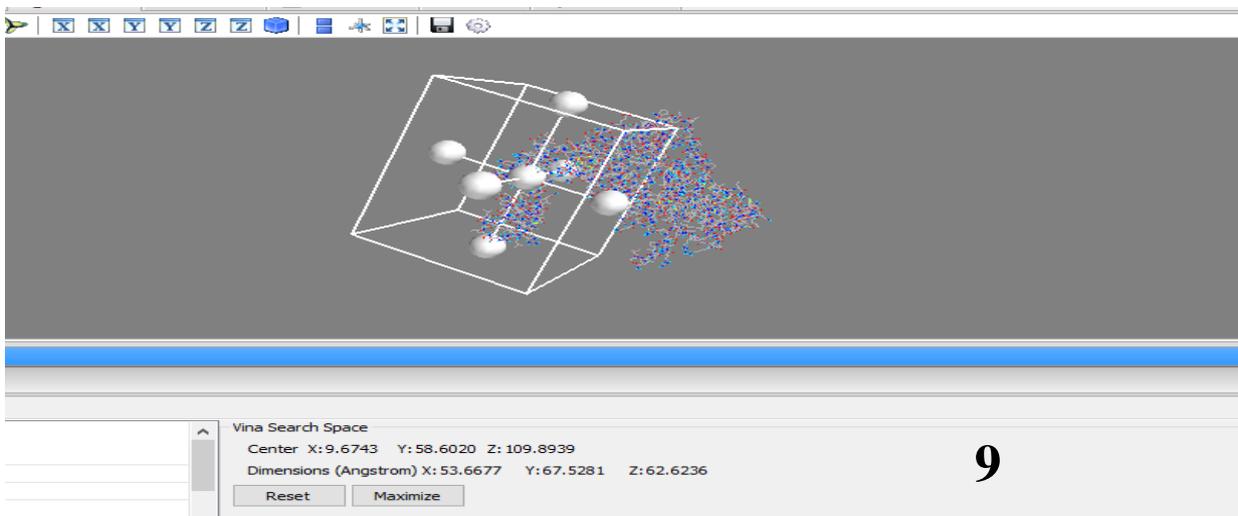
➤ Cliquer sur le premier ligand et sur shift puis sur le dernier ligand pour sélectionner tous les ligands et en fin sur forward.



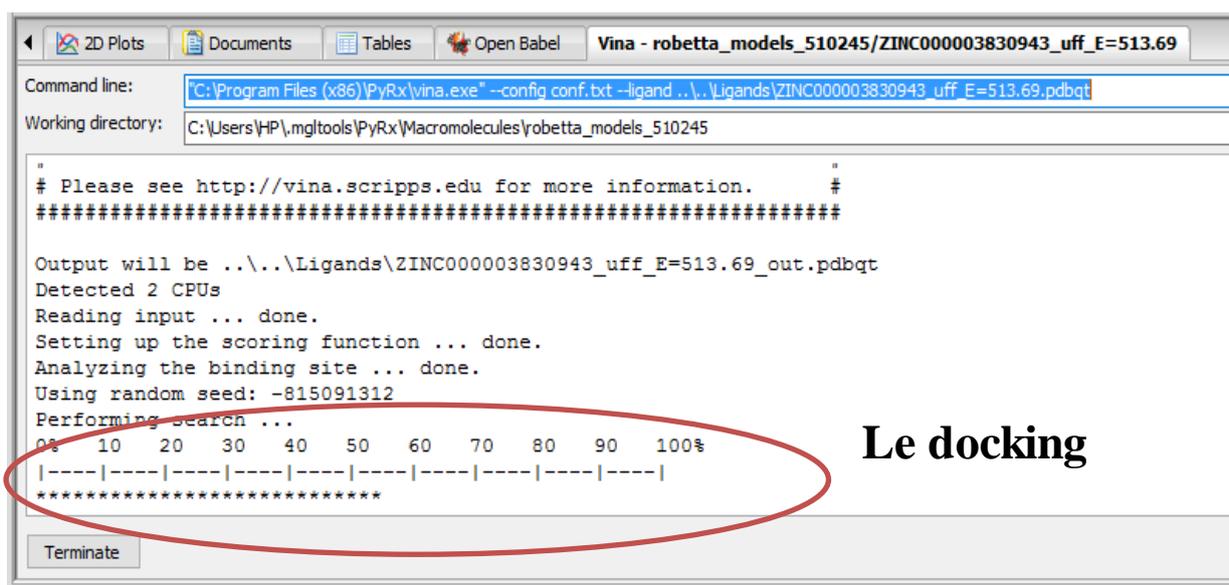
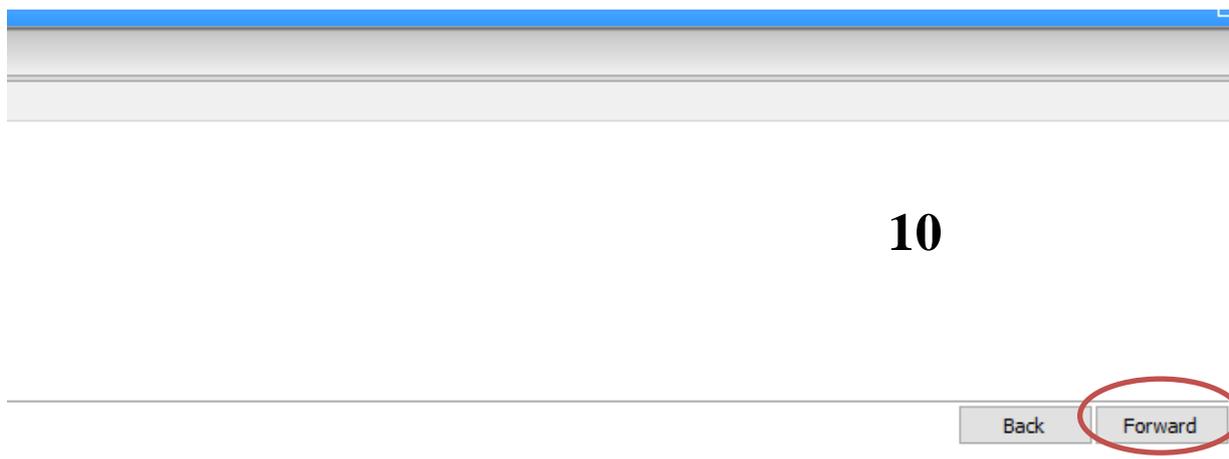
➤ Cliquer Vina Wizard /start here/start/Forward.



➤ Régler la box dans le site d'interaction.



➤ Et enfin cliquer sur Forward.



Ensuite, on transforme le fichier de minimisation pdb en pdb.qt pour entrer dans un le programme Chimera.

Le docking moléculaire se poursuit sur Chimera selon les étapes suivantes :

- Télécharger UCSF Chimera :

<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>

**UCSF CHIMERA**  
an Extensible Molecular Modeling System

**Download Chimera**

- Daily Builds
- Snapshot Releases
- Unsupported Releases
- Old Releases
- Bug Tracking System
- Licensing Information
- Experimental Chimera Features
- Plug-ins on the Web
- Graphics Driver Bugs
- Benchmark Results
- Chimera Source Code
- Cygwin Source Code

**Tip:** We recommend *ChimeraX* for higher performance and many new features instead of legacy Chimera.

**Current Production Releases**

- See the [release notes](#) for a list of new features and other information.
- For [more recent changes](#), use the [snapshot](#) and [daily](#) builds; they are less tested but usually reliable.

**64-bit Releases:**

- Préparer les stimulations de docking ouvrir avec UCSF Chimera la structure pdp du récepteur ZP3 puis les ligands, les structures de ces derniers sont téléchargées de ZINC (docking.org) sous forme SDF.

ZINC Substances Catalogs Tranches Biological More About

/substances / ZINC000003881958

**ZINC3881958 (Danol)**  
Google Wikipedia PubMed

Added	Availability	Since	Mwt	logP	Download
2005-10-05	In-Stock	2015-08-07	337.463	4.221	↓

Mol Formula	Rings	Heavy Atoms	Hetero Atoms	Fraction	Download
C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>2</sub>	5	25	3	0.68	↓

SMILES: C#C[C@@]1(O)CC[C@H]2[C@@H]3CCCC4=Cc5oncc5C[C@@]4(C)[C@H]3CC[C@@]21C

InChI: InChI=1S/C22H27NO2/c1-4-22(24)10-8-18-16-6-5-15-11-19-14(13-23-25-19)12-20(15,2)17(16)7-9-21(18,22)3/h1,11,1

InChI Key: POZRVSJJTULAOH-LHZXLZLDSA-N

Available 3D Representations

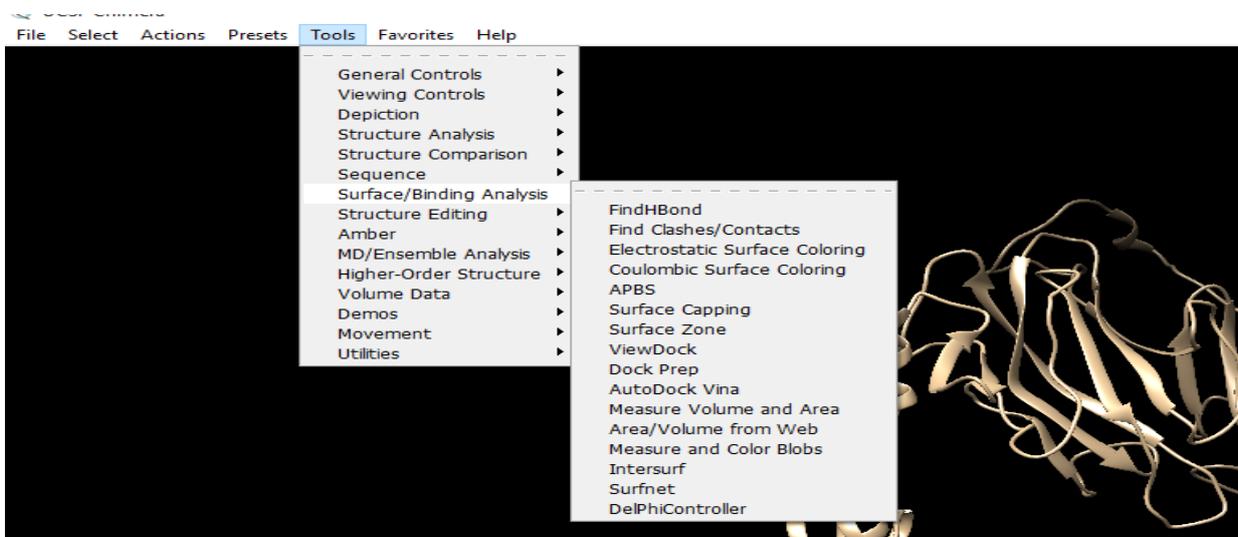
pH range	Net charge	H-bond donors	H-bond acceptors	tPSA	Rotatable bonds	Apolar desolvation	Polar desolvation	Download
Reference	0	1	3	46	0	8.69	-7.88	↓

### 2.2.1. Préparation du récepteur

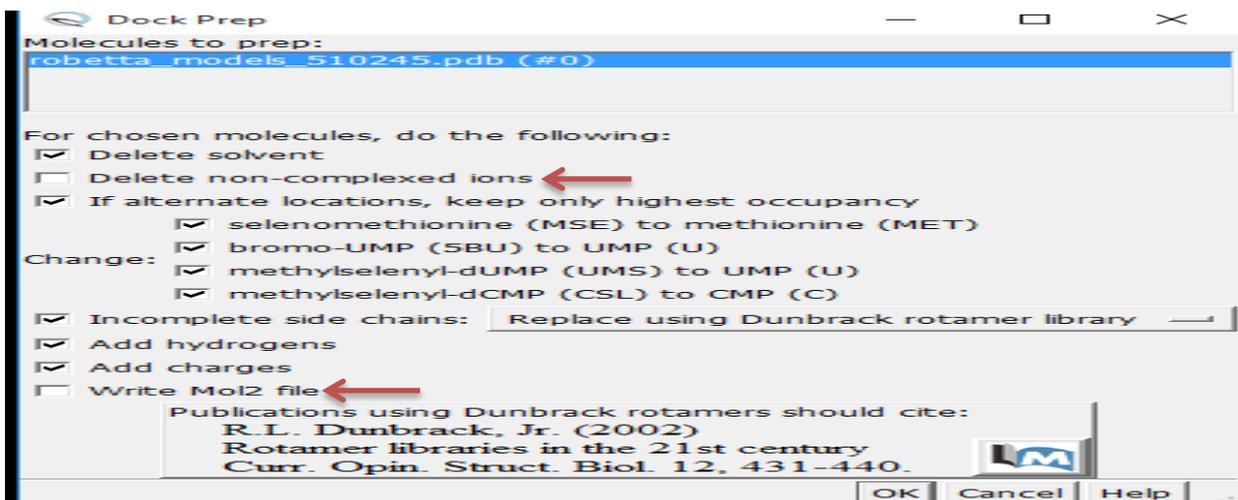
- Cliquer sur File puis Open pour ouvrir le fichier robbeta\_modals\_510245.



- Cliquer sur Tools puis sur Surface/ Binding Analysis/ Dock prep.



- Dans Dock prep sélectionner toute les options sauf « Delte non-complexed » et
- « WriteMol2 file » / cliquer sur OK/ OK/ OK.



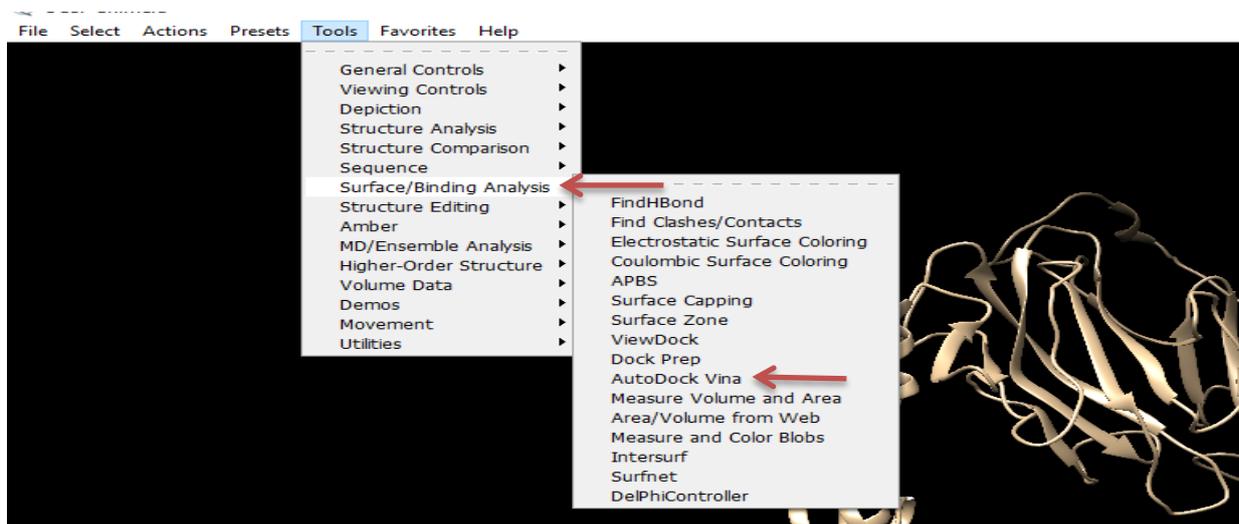
### 2.2.2. Préparation du ligand

- Cliquer sur File puis Open/ On commence par ouvrir le premier ligand.



- **Docking moléculaire**

- Cliquer sur Tools/Surface/Binding Analysis/AutoDock Vina.



- Dans AutoDock Vina cliquer sur Browse, nommer le complexe/ puis sélectionner le récepteur et le ligand /, et cliquer sur bouton 1/définir l'espace de recherche (taille et position de centre de grille).
- Cliquer sur l'écran par la souris clic droit pour mettre le complexe sur une boîte.
- Pour contrôler le mouvement de la boîte de docking nous cochoons sur Resize.
- Ensuite cliquer sur Ok/ running.
- L'amarrage moléculaire a maintenant commencé et une fois l'analyse terminée, l'interface « View Dock » est ouverte et le tableau de score  $\Delta G$  apparaît.

- Enfin, pour enregistrer les fichiers obtenus, cliquer sur file/save pdb/cocher le récepteur et le ligand (3.1) en cliquant sur ctrl /insérer le code de ligand dans file Name /Save.
- On recommence les mêmes étapes pour les autres ligands.

**Résultats**  
**Et**  
**Discussion**

### 1. Criblage moléculaire

Le screening moléculaire a permis de ressortir 1617 molécules susceptibles de cibler la protéine ZP3. Nous n'en avons retenu que 7 sur la base des scores  $\Delta G$ , qui reflètent l'affinité de liaison entre le récepteur et le ligand et qui sont donnés dans le **tableau 1**.

**Tableau 1 : Les meilleurs scores  $\Delta G$  révélés par le screening moléculaire par PyRx**

Ligands	Zinc Code	$\Delta G$ (Kcal/ml)
Lifitegrast	84668739	-9.5
Lomitapide	27990463	-9.4
Danol	3881958	-9.2
Lurasidone	3927822	-9.1
Alectinib	66166864	-9.0
Lapatinib	1550477	-8.9
Daclatasvir	68204830	-8.9

### 2. Docking moléculaire

Le criblage moléculaire étant une recherche rapide de ligands pour notre récepteur parmi des milliers de molécules, c'est pourquoi nous procédons à un docking moléculaire par Chimera sur les ligands qui ont montré le meilleur score afin de confirmer leur affinité de liaison pour le récepteur ZP3 (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Les meilleurs scores  $\Delta G$  révélés par le screening moléculaire par Chimera

Ligands	Zinc Code	$\Delta G$ (Kcal/ml)
Alectinib	66166864	-9.3
Lapatinib	1550477	-8.3
Danol	3881958	-8.2
Lomitapide	27990463	-7.7
Lurasidone	3927822	-7.1
Lifitegrast	84668739	-5.9
Daclatasvir	68204830	-3.5

Les résultats du docking par Chimera ont réduit le nombre de molécules qui ont une affinité de liaison pour le récepteur ZP3 à cinq molécules. Il s'agit de médicaments approuvés par la FDA, et dont les modes d'action et les effets secondaires sont connus.

L'alectinib qui présente le meilleur score  $\Delta G$ , est un médicament utilisé comme traitement de première ligne privilégié pour les patients atteints d'un cancer du poumon non à petites cellules (NSCLC) positif à l'anaplastic lymphoma kinase (ALK) avancé dans plusieurs directives nationales de pratique clinique. Certains événements indésirables liés à l'alectinib ne sont pas encore entièrement caractérisés, notamment la myalgie et l'œdème périphérique (**Dziadziuszko et al., 2022**).

Le lapatinib est également un anti-cancéreux, utilisé en association avec la capécitabine dans le traitement du cancer du sein avancé surexprimant HER2 (HER2+). Le lapatinib est un inhibiteur oral réversible à petite molécule des récepteurs du facteur de croissance épidermique (EGFR) et du récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2) (**Tevaarwerk et Kolesar, 2009**). Ses effets indésirables sont principalement la diarrhée, les nausées et les vomissements (**Yang et al., 2018**).

Le Danol, troisième meilleur ligand potentiel pour le récepteur ZP3, est un médicament utilisé pour traiter l'endométriose. Il est également utilisé dans d'autres problèmes gynécologiques tels que les fibromes utérins et la maladie fibrokystique du sein, ainsi que dans diverses maladies hématologiques telles que la thrombocytopénie immunitaire réfractaire persistante/chronique qui n'a pas répondu aux corticostéroïdes et/ou à d'autres traitements, et l'œdème de Quincke héréditaire. Effets indésirables liés au système reproducteur : Le Danol peut causer des irrégularités menstruelles, des bouffées de chaleur, une diminution de la taille des seins, une augmentation de la pilosité corporelle, une diminution de la libido et des changements d'humeur. Des effets indésirables tels que des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements, des ballonnements et des diarrhées peuvent survenir lors de la prise de Danol. Dans de rares cas, il peut provoquer une toxicité hépatique, qui se manifeste par des symptômes tels qu'une jaunisse (jaunissement de la peau et des yeux), une fatigue, des douleurs abdominales et une urine foncée. Si vous remarquez ces symptômes, vous devez consulter immédiatement un professionnel de santé, peut provoquer des maux de tête, des étourdissements, de l'insomnie et des changements de la vision (**Boostani et al., 2013**).

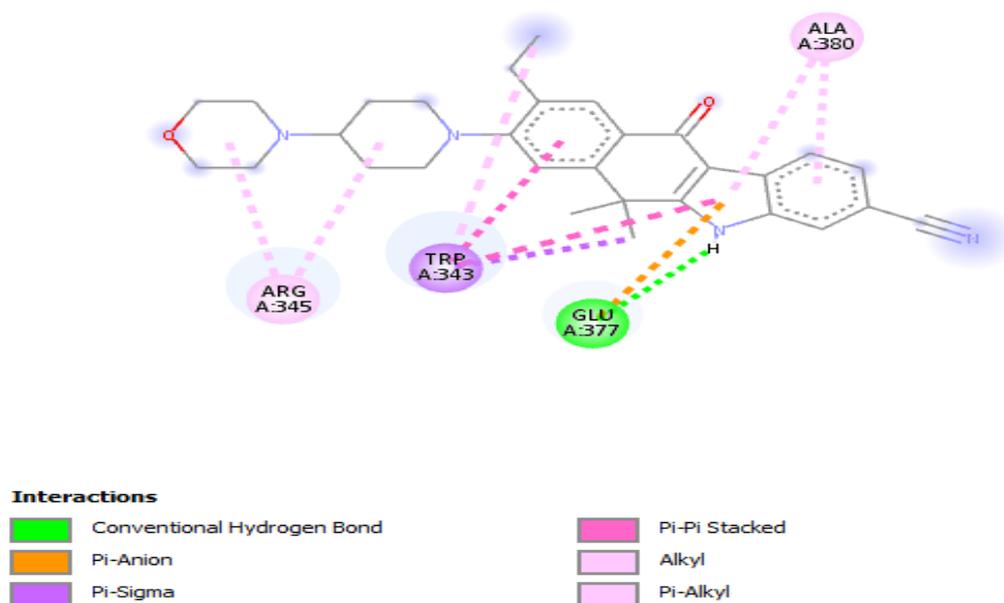
Le Lomitapide peut être également envisagé comme inhibiteur de l'interaction spermatozoïde-ZP3, en raison de sa forte affinité de liaison pour cette protéine. Cette molécule a reçu le statut de médicament orphelin pour le traitement de l'hypercholestérolémie familiale homozygote (HFHo) en 2007 et a été approuvée par la FDA en 2012. HoFH) (**Alonso et al., 2019**). Il provoque certains effets secondaires notamment des problèmes gastro-intestinaux, très fréquents chez les patients traités par lomitapide. Des diarrhées, des nausées, une dyspepsie et des vomissements ont été rapportés chez des patients, tandis que des douleurs, des malaises et des ballonnements de l'abdomen, de la constipation et des flatulences ont été observés moins fréquemment (**Gouloze et al., 2015**).

Nos résultats montrent que La Lurasidone a également une bonne affinité de liaison pour ZP3. Ce médicament utilisé dans le traitement de la schizophrénie et de la dépression bipolaire, a un risque réduit d'effets secondaires métaboliques tels que l'hypercholestérolémie, l'hyperlipidémie, l'hyperglycémie et la prise de poids par rapport à la rispéridone, la quétiapine et l'olanzapine (**Loebal et Citrome, 2015**).

Les digrammes 2D, confirment l'affinité de liaison des molécules qui montrent les trois meilleurs scores delta G, puisque chacune d'elle engage un grand nombre de liaisons dans son interaction avec ZP3

Entre l'Alectinib et ZP3, nous pouvons recenser :

- Une liaison hydrogène formée entre C-ter de l'Alectinib et les résidus glutamiques en position 377 du N-terminal de robbeta\_modals\_510245 (**Figure 9**). La liaison hydrogène est une interaction chimique faible mais importante entre un atome d'hydrogène lié à un atome électronégatif, non covalente de type dipôle-dipôle entre deux molécules ou entre deux groupements d'une molécule. Elle joue un rôle stabilisation des structures moléculaires (**Steiner, 2002**).
- Une liaison Pi-Anion entre le ligand et le résidu glutamique en position 377 du récepteur robbeta\_modals\_510245 (**Figure 8**). La liaison Pi-Anion est une interaction chimique entre un système  $\pi$ -électronique et un anion. Elle se produit lorsque les électrons  $\pi$  d'une molécule ou d'un groupe fonctionnel entrent en interaction avec un anion chargé négativement. Elle joue un rôle stabilisation de la conformation moléculaire et es complexes métalliques (**Li et al., 2022**).
- Une liaison Pi-Sigma entre le ligand et le résidu tryptophane en position 343 du récepteur robbeta\_modals\_510245 (**Figure 8**). La liaison Pi-Sigma est une interaction chimique covalente entre un système  $\pi$ -électronique et un atome ou un groupe fonctionnel portant une liaison  $\sigma$  (liaison simple). Elle joue un rôle stabilisation de la conformation moléculaire et modulation de la réactivité chimique (**Clayden et al., 2012**).
- Deux liaisons Pi-Pi Stacked entre le ligand et le résidu tryptophane en position 343 du récepteur robbeta\_modals\_510245 (**Figure 8**).
- Deux liaisons Pi-Alkyl entre le ligand et résidu alanine en position 380 du récepteur robbeta\_modals\_510245 (**Figure 8**). La liaison Pi-Alkyl est une liaison chimique covalente qui crée entre deux atomes. Les interactions non covalentes impliquant des systèmes pi sont essentielles pour des événements biologiques tels que la reconnaissance protéine-ligand (**Allen et al., 2001**).
- Deux liaisons Alkyl entre le ligand et le résidu arginine en position 345 du récepteur robbeta\_modals\_510245 (**Figure 8**).



**Figure 8 : Digramme 2D de l'interaction l'Alectinib - ZP3**

L'interaction Lapatinib- ZP3engage :

- Une liaison hydrogène formée entre C-ter de la Lapatinib et les résidus arginine en position 349 du N-terminal de robbeta\_modals\_510245 (**Figure 9**).
- Une liaison Salt Bridge entre le ligand et le résidu aspartique en position 373 du récepteur robbeta\_modals\_510245 (**Figure 9**).
- Une liaison Pi-Pi Stacked entre le ligand et le résidu tryptophane en position 343 du récepteur robbeta\_modals\_510245 (**Figure 9**).
- Une liaison Pi-Cation entre le ligand et les résidus arginine en position 349 du robbeta\_modals\_510245 (**Figure 9**).
- 4 liaisons Pi-Alkyl entre ligand et le résidu alanine en position 380, valine en position 376, arginine en position 345, tryptophane en position 343 du robbeta\_modals\_510245 (**Figure 9**).
- Une liaison Halogen entre le ligand et le résidu proline en position 419 du robbeta\_modals\_510245 (**Figure 9**).

- Une liaison Pi-Sigma entre le ligand et le résidu et l'arginine en position 345 du récepteur robbeta\_modals\_510245 (Figure 10).

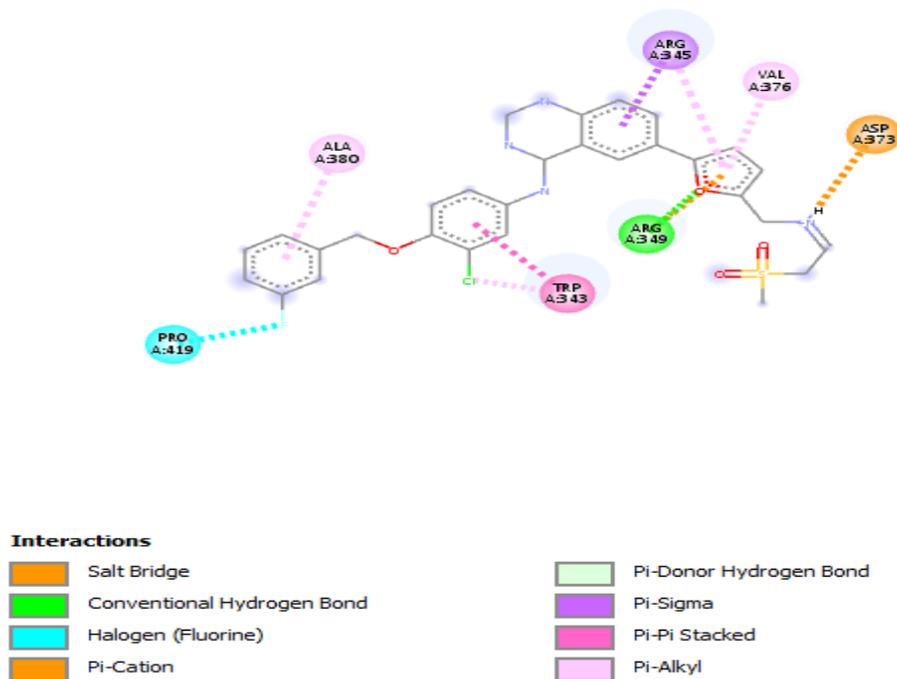


Figure 9 : Digramme 2D de l'interaction Lapatinib -ZP3

D'après la figure 11, le complexe Danol-ZP3, engage :

- Deux liaisons Pi-Alkyl entre le ligand et le résidu phénylalanine en position 302, lysine en position 304 du récepteur robbeta\_modals\_510245 (Figure 10).
- Deux liaison Alkyl entre ligand et le résidu leucine en position 244, tryptophane en position 309 du récepteur robbeta\_modals\_510245 (Figure 10).

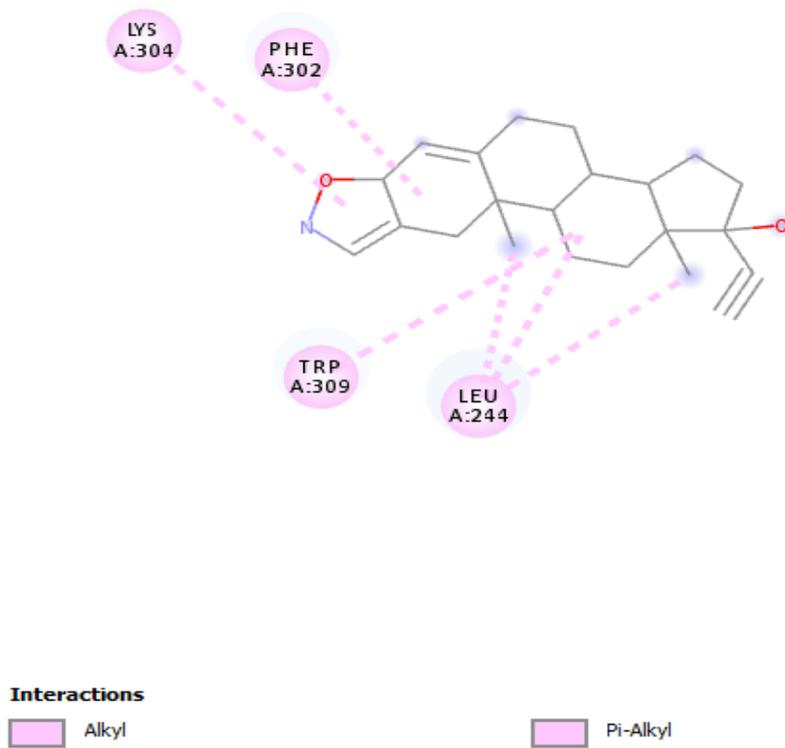


Figure 10 : Digramme 2D de l'interaction Danol-ZP3

# **Conclusion**

ZP3 est l'une des protéines constitutives de la zone pellucide. Son rôle principal est de servir de récepteur aux spermatozoïdes lorsqu'ils tentent de pénétrer l'ovule pendant la fécondation. En vue d'une approche de contraception non hormonale, nous avons entrepris une étude par docking moléculaire pour rechercher des inhibiteurs potentiels susceptibles d'interagir avec ZP3 afin d'empêcher son interaction avec le spermatozoïde, et donc empêcher la fécondation.

Le criblage moléculaire a fait ressortir plus de 1600 molécules FDA, avec une affinité de liaison avec le récepteur ZP3. Sept d'entre elles seulement ont été retenues pour le docking moléculaire sur la base de leur faible variation d'énergie de Gibbs.

Toutefois, en raison de leurs utilisations thérapeutiques et leurs effets secondaires, ces molécules ne semblent pas a priori intéressantes dans le cadre d'un repositionnement de médicaments pour une contraception non hormonale. Bien que certains de ces médicaments ne provoquent que des effets secondaires mineurs, il s'avère que ce sont les mêmes effets indésirables de la contraception hormonale. Cependant, des études *in vitro* et *in vivo*, seraient nécessaires afin d'explorer l'efficacité de ces molécules et éventuellement l'absence d'effets indésirables à faible dose.

Pour des études ultérieures, nous souhaitons cibler la zone pellucide pour une approche d'immuno-contraception.

# **Références**

# **Bibliographique**

**A**

**Aitken J.R.(2002).** Immunocontraceptive vaccines for human use. *Journal of reproductive immunology*;57:273-287).

**Allen T.W., Klink W.H., Polyzou W.N. (2001).**Analyse ponctuelle des facteurs de forme de deutons élastique. *Examen physique* ; 63 : 1-3.

**Alonso R ., Cuevas A., Mata P.(2019).** Lomitapide : examen de son utilisation clinique, de son efficacité et de sa tolérance.*Core évidence*;14:19-30.

**B**

**Bansal .P ., Ckkrabarti .K ., Gupta K.S. (2009).** Functional Activity of Human ZP3 Primary Sperm Receptor Resides Toward Its C-Terminus.*Biology of Reproduction* ;81 :7-15.

**Barre A., Simplicien M., Cassan G., Benoist H., Rougé P.(2018).** Docking of peptide candidates to HLA-DQ2 and HLA-DQ8 basket as a tool for predicting potential immunotoxic peptides toward celiac diseased people.*REVAL* ; 2741 : 1-7.

**Bender<sup>1</sup> B.J., Gahbauer S., Lutgens A., LyuJ., Webb C.M., Stein R.M., Fink E.A., Balus T.E. , Carlsson J., Irwin J.J., Shoichet B.K.(2021).** A practical guide to large-scale docking .*NATURE PROTOCOLS* : 16 : 4799–4832.

**Bergegeay F ., Allaire F ., Jeam M ., L’Hermite A ., Bruyas J.f ., Renard.N ., Taintier D ., Barrière P(1993).** La zone pellucide bovine.défférence composition macromolécules entre ovocytes, pretraités ou non à l'A 23187, et embryons. *Reproduction Nutrition Development*;33 :567-576.

**Berman H., Henrick, K., Nakamura H. (2003).** Announcing the worldwide Protein Data Bank. *Nature Structural & Molecular Biology* ; 10(12) : 980-980.

**Bertschinger H.J ., Delsin A ., Altena J.J ., Kirkpatrick J.F. (2018).** Porcine zona pellucida vaccine immunocontraception of African elephant (*Loxodonta africana*) cows: A review of 22 years of research.*Review article* ; 48 :1-8.

**Bianchi E., Wright G. J., Searle,B. C., and Morgenstern J. P. (2018).** Using zona pellucida domain proteins in contraception and infertility treatments. *Frontiers in Bioscience* 23, 894-907.

**Bolton E.E., Wang Y., Thiessen P.A., Bryant S.H.(2008)** PubChem: Integrated Platform of Small Molecules and Biological Activities. Annual Reports in Computational Chemistry ; 4 : 217-241.

**Boostani R., Saber H., Etemadi M. (2013).** Effects of danazol on clinical improvement of patients with human T-cell Lymphotropic Virus Type I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP): A placebo-controlled clinical trial. Iranian Journal of Basic Medical Sciences ; 16(3) : 213–216.

**Boucherti H ., Chikhi A ., Bensegueni A ., Merzoug A ., Hioual K.A ., Mokrani H .(2013).**L'amarage moléculaire.Microbiol .Ind.San et Environ ;7:133-149.

**Brucker C ., Lipford B.G.(1995).** The human sperm acrosome reaction: physiology and regulatory mechanisms. An update.Humain Reproduction ;1 :51-62.

### C

**Clayden J., Greeves N., Warren S. (2012).** Organic Chemistry; 2: 101-136.

**Cohen-Bacrie (2008).** Qualité et sélection du spermatozoïde. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction ; 37:S4-S8.

**Cooper D.W ., Larsen E. (2006).** Immunocontraception of mammalian Wildlife : ecological and immunogenetic issues. Society for Reproduction and Fertility ; 132:821-828.

**CAUDLE M.R SHIVERS C.Alex (1989).** État actuel des anticorps anti-Zona Pellucida. JOURNAL AMÉRICAIN D'IMMUNOLOGIE DE LA REPRODUCTION 21:57-60

### D

**Dallakyan S., Olson A. J. (2015).** Small-molecule library screening by docking with PyRx. Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.) ; 1263 : 243–250.

**De Luca L., Vittorio S., Peña-Díaz S., Pitasi G., Fornt-Suñé M., Bucolo F., Ventura S., Gitto R. (2022).** Ligand-based discovery of a small molecule as inhibitor of  $\alpha$ -Synuclein amyloid formation. International Journal of Molecular Sciences ; 23(23) : 1\_14.

**Dey S ., Brothag C ., Vijayaraghavan .S. (2019).** Signaling Enzymes Required for Sperm Maturation and Fertilization in Mammals.In Cell And Developpement Biology;7 :1-15.

**Dnyandev M.K ., Babasaheb V.G ., Chandrashekhar V.K ., Chandrakant A. M ., Vasant K.O.(2021).** A Review on Molecular Docking.International Research Journal of pure And Applied Chemistry;22:1-9.

**Dun M.D ., Mitchell L.A ., Aitken R.J ., Nixon B. (2010).** Sperm–Zona Pellucida Interaction: Molecular Mechanisms and the Potential for Contraceptive Intervention. Handbook of Experimental Pharmacology ;198 :139-178.

**Dziadziuszko R., Petets S ., Cardona U.T ., Guérini E ., Kurtsikidzé N ., Smoljanovic V., Planchard D.(2022).** Clinical experience and management of adverse events in patients with advanced ALK-positive non-small-cell lung cancer receiving alectinib.Free Pmc article;7:15 35.

## G

**Ganguly A ., Bansal .P ., Gupta .T ., Gupta k.S.(2010).'**'ZP domain' of human zona pellucida glycoprotein-1 binds to human spermatozoa and induces acrosomal exocytosis. Reproductive Biology And Endocrinology ;8 :1-14.

**Gahlay K.G ., Rajbut N.(2020).** The Enigmatic Sperm Proteins in Mammalian Fertilization :An review .Oxford University press on behalf of society for the study of reproduction ; 12 :1-46.

**Georadaki k., khoury .N., Spandidos .A., Zoumpourlis .V. (2016).** The molecular basis of fertilization .International journal of molecular Medecine;38:979-986.

**Cao Q., Zhao C., Zhang X., Zhang H., Lu Q., Wang C., Hu Y. , Ling X., Zhang G., Huo R.(2020).** Des mutations hétérozygotes dans ZP1 et ZP3 provoquent un trouble de la formation de ZP et l'infertilité féminine chez l'homme.J Cell Mol Med;24:8557-8566.

**Gervasi G.M ., Visconti .E.P. (2018).** Molecular changes and signaling events occurring in sperm during epididymal maturation. Andrology ;5 :204-218.

**Goudet G., Mugnier, S., Callebaut, I., Monget, P., & Jolivet, G. (2008).** Phylogenetic analysis and identification of pseudogenes reveal a progressive loss of zona pellucida genes during evolution of vertebrates. Biology of reproduction, 78(2), 796-806.

**Goulooze C.S ., Cohen F.A ., Rissman R. (2015).**Lomitapide.Br J clin Pharmaco;2:179-181.

**Gupta S.K ., Bansal P ., Ganduly A ., Bhandari B ., Chakrabarti K. (2009).**Human zona pellucida glycoproteins :functional relevance during fertilization. *Journal of Reproductive Immunology* ; 83 : 50–55.

**Gupta S.K. (2018).** The Human Egg's Zona Pellucida. *Curr Top Dev Biol*;130:379-411.

**Gupta S.K ., Gupta N ., Suman P ., Choudhury .S ., Prakash. K., Gupta. T ., Sriraman R ., Nagendrakumar S.B ., Srinivasan V.A. (2011).** Zona pellucida-based contraceptive vaccines for human and animal utility . *Journal of Reproductive Immunology* ;88 : 240–246.

### H

**Hamamah S ., Jean M ., Royere D ., Barrière P. (1995).**Capacité des spermatozoïdes a se fixer sur la zone pellucide.*Andrologie* ; 5 :361-368.

**Hinsch E ., Oehninger S ., Schill W ., Hinsch K. (1999).** Species specificity of human and murine anti-ZP3 synthetic peptide antisera and use of the antibodies for localization and identification of ZP3 or ZPC domains of functional significance.*Humman Reproduction* ; 14 :419-199.

**Huang C.C., Meng E.C., Morris J.H., Pettersen E.F., Ferrin T.E. (2014).** Enhancing UCSF Chimera through web services. *Nucleic Acids Research* ; 42 :1\_7.

**Hanisha HB., Fares HB ., Matteo AA .(2019).**The molecular mechanisims mediating mammalian fertilization.*The company of biologists Ltd Developpment* ;141461-13.

### I

**Ickowicz D ., Finkelstein M ., Breitbart .H.(2012).** Mechanism of sperm capacitation and the acrosome reaction: role of protein kinases.*Asian Journal of Andrology* ;14 :816-821.

**Irwin J.J., Shoichet B.K. (2005).** ZINC - A Free Database of Commercially Available Compounds for Virtual Screening." *Journal of Chemical Information and Modeling* ; 45(1) : 177-182.

**K**

**Kaur .K ., Prabha V. (2014).** Immunocontraceptifs : nouvelles approches du contrôle de la fertilité. *Biomed Research International*;2014:1-15.

**Kim D.E., Chivian D. , Baker D. (2004).** Protein structure prediction and analysis using the Robetta server. *Nucleic Acids Research* ; 32 : W526–W531.

**Kirkpatrick J.F .,Lyda R.O ., Frank K .M. (2011).** Contraceptive vaccines for wildlife: a review .*American Journal Of Reproductive Immunology* ;66:1-11.

**L**

**Lee .L.(2021).**A Brief Note on Human Sperm and its function .*Andrology* ;10 :1-2.

**Lefievre .L ., Conner S. J ., Salpekar .A ., Olufowobi .O ., Ashton. P ., Pavlovic .B., (2004).** Four zona pellucida glycoproteins are expressed in the human. *Hummain Reproduction* ;19 :1580–1586.

**Li G., Fang Y., Ma Y., Dawa Y., Wang Q., Gan J., Dang J. (2022).** Screening and isolation of potential anti-inflammatory compounds from *Saxifraga atrata* via affinity ultrafiltration-HPLC and multi-target molecular docking analyses. *Nutrients* ; 14(12) :1-25.

**Liu H., Shi H., Gao Y., Yang P., and Li Z. (2019).** ZP3: a promising candidate for non-hormonal contraception and infertility therapy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 7, 81.

**Loebal A ., Citrome L .(2015).** Lurasidone : un nouvel agent antipsychotique pour le traitement de la schizophrénie et de la dépression bipolaire.*BJ psych Bull*;39:237-241.

**Lekhwani S., Vaswani N.D. (2014).**Immunocontraceptives:How far from reality?.*Advanced Biomedical Research*;3:1-5.

**M**

**Massei G. (2023).**Fertility Control for Wildlife: A European Perspective. *Journal animals* ;13 :1-17.

**Meczekalski B ., Nawrot R ., Nowak W ., Czyzyk A ., Kedzia H ., Jozefiak A.G.** Study on the zona pellucida 4 (ZP4) gene sequence and its expression in the ovaries of patients with polycystic ovary syndrome. *Journal of endocrinological investigation*;38:791-797.

**Muller L.I ., Warren R.J ., Evans D.I. (1997).** Theory and practice of immunocontraception in wild mammals .*Wildlife Society Bulletin* ; 25(2):504-514.

### N

**Najar L.A .(2003).** Interests and limits of immunocontraception. *Gynécologie obstétrique & fertilité*;31:1-4.

**Naz R.K (2005).**Contraceptive vaccines.*Drugs* ; 65(5) : 593-603.

### O

**Ownby C.L., Shivers C.A.(1972).** Antigens of the hamster ovary and effects of anti-ovary serum on eggs. *Biol Reprod* ; 6:310–318.

### R

**Rosenfield D.A ., Pizzutto C.S. (2018) .** Wildlife Population Control Reproductive Physiology under the Influence of Contraceptive Methods in Mammalian Wildlife, with emphasis on immunocontraception: being the best choice?. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo ; 55 :1-6.

**Royère D. (2006).** L'ovocyte: avancées fondamentales et thérapeutiques. *J GynecolObstet Biol Reprod*; 35 (Cahier 2): 288-2S13.

### S

**Serres C ., Auer J ., Petit F ., Patrat C.(2008).**Jouannat p. Les partenaires moléculaires impliqués dans l'interaction entre spermatozoïdes et zone pellucide chez les mammifères. Conséquences pour la fertilité humaine.*Société de Biologie*;202:119-128.

**Steiner T. (2002).** The Hydrogen Bond in the Solid State. *Angewandte Chemie International Edition* ; 41(1) : 48-76.

**Sulkowski S.M ., Gardiner F.D ., Grasela M.D .(2014).** Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection.*Free article*;3:21-212.

T

**Tesark J.(1995).**Targeting the zona pellucida for immunocontraception :a minireview.Homon Reproduction ;10 :132-139.

**Tevaarwerk J.A ., Kolesar M.J.(2009).** Lapatinib: a small-molecule inhibitor of epidermal growth factor receptor and human epidermal growth factor receptor-2 tyrosine kinases used in the treatment of breast cancer.Clin Ther;2:48-2332.

**Teves M.E., Roldan ER.S. (2022).** Sperm Bauplan And Function And Undelying Processes Of Sperm Formation And Sslection.Physiol Rev ; 102 :7-60.

**Toranzo LL .(2019).** ZP4 confers structural properties to the zona pellucida essential for embryo development.Development biology;8:1-18.

V

**Vickram A.S .,Dhama K ., Tanigaivel S., Chakraborty S ., Anbarasu K ., Dey N ., Karunakaran R. (2022).** Strategies for successful designing of immunocontraceptive vaccines and recent updates in vaccine development against sexually transmitted infections - A review. Saudi Journal of Biological science;29:2033-2046.

W

**Wassarman P.M.(1999).** Mammalian Fertilization Molecular Aspects of Gamete Adhesion, Exocytosis and Fusion.A Cell Press Journal;96 :175-183.

**Wassarman, P. M. (2008).** Zona pellucida glycoproteins. Annual review of biochemistry, 77 : 283-314.

**Wu X., Li X., Fu Q., Wei Z.(2021) .** Zona pellucida glycoprotein 3 (ZP3) :a protential target for cancer therapy. American journal for translational research ; 13(2) : 1058-1070.

X

**Xu Y., Li Y., Lei Y., Wan X., Li C., Zhang H., Liu X., Liu Z., Ma J., Gao Y., Zhu Y., Li X., Zhang X., Wu Y., Cao X., Zhang L., Zhang X., Huang Y. (2020).** ZP3 is required for fertilization in the mouse. Reproduction ; 159(1):1-12.

Y

**Yadav P ., Yadav B ., Kumar J ., Yadav D.K, Chauhan N ., Chouksey S. (2022).** Immuno-contraception : An approach of reproduction control in stray\feral animals. J. Exp. Zool. India ; 25 :1001-1006.

**Yang W.X ., Xiong C ., Cheng X ., Kuang Y ., Cheng Y .(2018).** Risk of Gastrointestinal Events During Lapatinib Therapy: A Meta-Analysis From 12,402 Patients With Cancer.Am J Ther ; 25:412-422.

**Younger B.,Boggs N.A .,Dean J.(2011).** Human ZP4 is not sufficient for taxon-specific sperm recognition of the zona pellucida in transgenic mice.Society of reproduction and fertility;141:313-319.

## Résumé

ZP3, est l'une des protéines constitutives de la zone pellucide. Elle est indispensable pour la reconnaissance spécifique des spermatozoïdes et la fusion avec l'ovocyte ; en son absence, la fécondation ne peut pas se faire

Par docking moléculaire, nous avons recherché parmi les médicaments approuvés par la FDA, des inhibiteurs potentiels, susceptibles d'interagir avec ZP3. L'objectif est d'empêcher la fécondation par une approche contraceptive non hormonale.

Les résultats de l'amarrage moléculaire ont permis de ressortir 7 molécules susceptibles de se lier avec ZP3 avec une forte affinité de liaison.

Des études in vitro et in vivo seront nécessaires pour tester l'efficacité de ces molécules à faible dose afin d'éviter leurs effets secondaires.

**Mots clés :** ZP3, fécondation, contraception non hormonale, docking moléculaire.

## Abstract

ZP3 is one of the constituent proteins of the zona pellucida. It is essential for specific sperm recognition and fusion with the oocyte; in its absence, fertilization cannot take place.

Molecular docking was used to search for potential inhibitors of FDA-approved drugs that might interact with ZP3. The aim is to prevent fertilization using a non-hormonal contraceptive approach.

Molecular docking results have identified 7 molecules likely to bind ZP3 with high binding affinity.

In vitro and in vivo studies will be required to test the efficacy of these molecules at low doses in order to avoid their side effects.

**Key words:** ZP3, fertilization, non-hormonal contraception, molecular docking.

## ملخص

ZP3 هو أحد البروتينات المكونة للمنطقة الشفافة يعتبر أساسيا للتعرف بالحيوان المنوي و دمجها مع البويضة، في غيابها لا يتم الإخصاب. اعتمادا على الالتحام الجزيئي بحثنا بين الادوية المعتمدة من طرف FDA على مثبطات محتملة يمكنها التفاعل مع ZP3 بهدف منع الإخصاب في إطار منع الحمل بطريقة غير هرمونية.

أظهرت الدراسات في المختبر وفي الجسم الحيوي ستكون ضرورية لاختيار فعالية هذه الجزيئات بجرعات منخفضة لتفادي آثارها الجانبية.

**الكلمات المفتاحية:** ZP3 ، الإخصاب ، منع الحمل غير الهرموني ، الالتحام الجزيئي