



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان



Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض 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

Benahmed Chaima et Hachemaoui Meriem

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème :

Inhibition du récepteur B1 des kinines comme cible thérapeutique au
cours du diabète et ses complications : Etude in silico

Soutenu le 12 juin 23, devant le jury composé de :

Présidente	Mme. SAHI-DALI YUCEF Majda	Université de Tlemcen
Encadrant	Mr. CHERRAK Sabri Ahmed	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme BOUANANE Samira	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

Résumé :

Le diabète est une maladie chronique touchant la régulation de sécrétion de l'insuline, et qui est caractérisés par une hyperglycémie, il est associé à des complications ce qui entraîne un dysfonctionnement des organes. Récemment, il a été proposé que le récepteur B1 des kinines, qui est surexprimé dans la phase chronique de la réponse inflammatoire dans les pathologies à forte composante immunitaire, comme le diabète, RB1 agit comme acteur clé. Son activation est connue pour induire des effets pro-inflammatoires, donc les antagonistes de la bradykinine B1 pourraient avoir un intérêt thérapeutique contre les maladies mentionnées. Les résultats de cette étude de docking moléculaire à l'aide de logiciel UCSF Chimera, a montré que l'antagoniste non-peptidique et sélectif pour le récepteur B1, le SSR240612, avec ses analogues sont efficace de faire des complexe récepteur-ligand à très bonne affinité. En utilisant le programme Biovia Studio Discovery pour identifier les interactions, nous observons que le site actif est composé de plusieurs acides aminés clés, notamment ASP191, GLN295, LEU191, LEU193, TRP93, PHE101, ASN96, TYR266, ASN298 et ARG176. Sur la base de ce qui précède, on conclut que les composés de type SSR240612 précédemment analysés sont des bons candidats pour inhiber le RB1, et le récepteur B1 pourrait donc représenter une nouvelle cible thérapeutique pour le traitement du diabète et ses complications.

Mots clé : récepteur B1 des kinines, le diabète et ses complications, SSR240612, in silico, L'amarrage moléculaire.

ملخص:

مرض السكري هو مرض مزمن يؤثر على تنظيم إفراز الأنسولين ، ويتميز بارتفاع السكر في الدم ، ويتراق مع مضاعفات تؤدي إلى اختلال وظائف الأعضاء. في الآونة الأخيرة ، تم اقتراح مستقبل B1 kinin ، الذي يتم التعبير عنه بشكل مفرط في المرحلة المزمنة من الاستجابة الالتهابية في الأمراض ذات المكون المناعي القوي ، مثل مرض السكري ، يعمل RB1 كلاعب رئيسي. من المعروف أن تنشيطه يؤدي إلى تأثيرات مؤيدة للالتهابات ، لذلك يمكن أن يكون لمضادات البراديكينين B1 فائدة علاجية ضد الأمراض المذكورة. أظهرت نتائج دراسة الالتحام الجزيئي هذه باستخدام برنامج UCSF Chimera ، أن المضاد غير البيبتيد والانتقائي لمستقبل B1 ، SSR240612 ، جنبًا إلى جنب مع نظائره لهم فعالية في تكوين معقدات مستقبلات-ربيطة ذات تقارب جيد جدًا. باستخدام برنامج Biovia Studio Discovery لتحديد التفاعلات ، نلاحظ أن الموقع النشط يتكون من عدة أحماض أمينية رئيسية ، أهمها ASP191 ، GLN295 ، LEU191 ، LEU193 ، TRP93 ، PHE101 ، ASN96 ، TYR266 ، ASN298 ، و ARG176. بناءً على ما سبق ، نستنتج أن المركبات الشبيهة بـ SSR240612 التي تم تحليلها مسبقًا هي مرشحة فعالة لتنشيط RB1 ، وبالتالي يمكن أن يمثل مستقبل B1 هدفًا علاجيًا جديدًا لعلاج مرض السكري ومضاعفاته.

Abstract:

Diabetes is a chronic disease affecting the regulation of insulin secretion, and which is characterized by hyperglycemia; it is associated with complications that leads to organ dysfunction. Recently, it has been proposed that the kinin B1 receptor, which is overexpressed in the chronic phase of the inflammatory response in pathologies with a strong immune component, such as diabetes, RB1 acts as a key player. Its activation is known to induce pro-inflammatory effects; therefore, bradykinin B1 antagonists could have therapeutic interest against the mentioned diseases. The results of this molecular docking study using UCSF Chimera software showed that the non-peptide and selective antagonist for the B1 receptor, SSR240612, together with its analogs are effective in making receptor-ligand complexes at very good affinity. Using the Biovia Studio Discovery program to identify the interactions, we observe that the active site is composed of several key amino acids, including ASP191, GLN295, LEU191, LEU193, TRP93, PHE101, ASN96, TYR266, ASN298 and ARG176. Based on the above, it is concluded that the SSR240612-like compounds previously analyzed are good candidates for inhibiting RB1, and the B1 receptor could therefore represent a new therapeutic target for the treatment of diabetes and its complications.



INTRODUCTION



Le diabète est un ensemble de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie. Cette condition est provoquée par un défaut de la sécrétion d'insuline, son efficacité, ou les deux (**Kuzuya et al., 2002**). L'hyperglycémie chronique du diabète est associée à des complications persistantes, ce qui entraîne un dysfonctionnement des organes, en particulier des yeux (**Brazionis et al., 2008**), des reins (**Santé Canada 2002**), des nerfs (**Trief, 2005**), et des vaisseaux sanguins. La propagation du diabète a provoqué une épidémie de complications macrovasculaires et microvasculaires graves qui augmentent à la fois la mortalité et la morbidité (**Feldmen, 2003**).

Le terme diabète recouvre en fait deux maladies différentes: le diabète insulino-dépendant (type 1), Il est caractérisé par la destruction spécifique des cellules β du pancréas menant à une suppression de la sécrétion d'insuline (**World Health Organisation Diabetes Unit**). Le diabète non insulino-dépendant (type 2) résulte de la conjonction de plusieurs gènes de susceptibilité, dont l'expression dépend de facteurs environnementaux au premier rang desquelles on note la consommation excessive de graisses saturées, de sucres simples et la sédentarité (**Leahy, 2005**).

Le SKK, ou système kallikréine-kinine, est un système peptidique vasoactif responsables de la vasodilatation. Ce système est composé d'enzymes activatrices, appelées kallikréines, ainsi que de leurs substrats, kininogènes et peptides vasoactifs appelés kinines (**Bhoola et al.,1992b**) (**Figure 01**). Ce système est impliqué dans les complications du diabète mais également dans le développement des anomalies métaboliques conduisant au diabète.

Les kininogènes sont des glycoprotéines synthétisées au niveau du foie et sont présents en quantité importante dans le plasma, il en existe deux types qui diffèrent entre eux par leur chaîne légère : KBPM et KHPM. Ce dernier va être complexé dans les vaisseaux sanguins au kallikréine plasmatique (PK) qui va être activé et libère la bradykinine (BK), nonapeptide vasoactif. D'un autre côté, la kallikréine tissulaire libère un peptide de 10 acides aminés, la lysyl-bradykinine, appelée aussi kallidine (Lys-BK ; KD) à partir du KBPM et du KHPM, elle est la principale enzyme de formation des kinines *in vivo*. (**Gabra et al.,2003**).

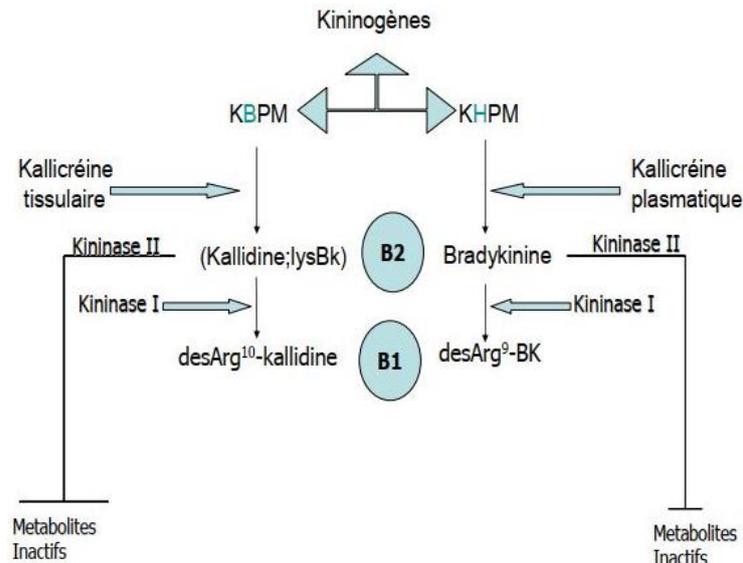


Figure 01 : Schéma illustrant le système kallikreine-kinine.

Les kinines sont des peptides vasoactifs et des neuromédiateurs centraux qui appartiennent à une petite famille de peptides incluant la bradykinine (BK) et la kallidine. Les kinines exercent leurs activités pharmacologiques en stimulant des récepteurs à 7 domaines transmembranaires (**Figure 03**) couplés aux protéines G : les récepteurs B2 (B2R) et B1 (B1R). La BK et la KD sont des agonistes endogènes des récepteurs B2 tandis que la des-Arg⁹-BK et la des-Arg¹⁰-KD sont les agonistes préférentiels des récepteurs B1. (**Marceau & Bachvarov, 1998**). (**Figure 02**).

	N-1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	- C	
Bradykinine (BK):		Arg	Pro	Pro	Gly	Phe	Ser	Pro	Phe	Arg	-OH	
Kallidine (KD) ou LysBK:		Lys	Arg	Pro	Pro	Gly	Phe	Ser	Pro	Phe	Arg	-OH
desArg ⁹ -BK:		Arg	Pro	Pro	Gly	Phe	Ser	Pro	Phe	-OH		
desArg ¹⁰ -KD:		Lys	Arg	Pro	Pro	Gly	Phe	Ser	Pro	Phe	-OH	

Figure 02 : Séquence en acides aminés des principaux peptides naturels de la famille des kinines chez l'homme.

Le RB2 participe à la phase aiguë de l'inflammation, tandis que le RB1 est principalement impliqué dans la phase chronique de la réponse inflammatoire dans les pathologies à forte composante immunitaire, comme le choc septique ou le diabète, RB1 agit comme acteur clé. Ceci explique pourquoi les antagonistes de ces récepteurs sont utilisés comme agents thérapeutiques. (Couture *et al.*, 2001; Gabra *et al.*, 2003).

Le gène humain du B1R code pour un peptide de 353 acides aminés (Figure 02). Il n'est pas exprimé de façon constitutive dans les tissus sains sauf dans quelques espèces de mammifères (Marceau *et al.*, 1998 ; Marceau, 1955). Son expression est induite lors de phénomènes inflammatoires d'origines diverses. (Moreau *et al.*, 2005).

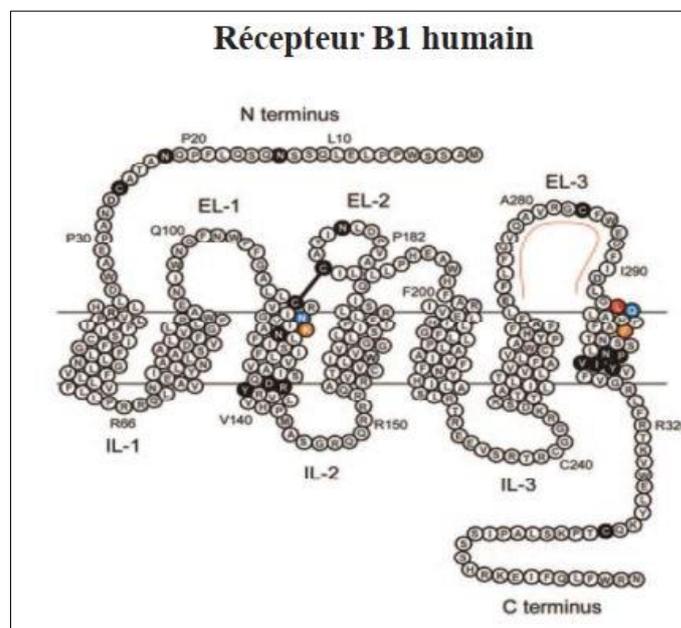


Figure 03 : Représentation schématique de la séquence peptidique des récepteurs B1.
(Leeb-Lundberg *et al.*, 2005).

L'activation des récepteurs B1 est connue pour induire des effets pro-inflammatoires, notamment l'accumulation de leucocytes, l'œdème et la douleur. De plus, les récepteurs B1 sont principalement impliqués dans les processus inflammatoires neurogènes. Donc, les antagonistes de la bradykinine B1 pourraient avoir un intérêt thérapeutique contre les maladies mentionnées. L'antagoniste non peptidique avec une efficacité durable et une bonne biodisponibilité serait un outil important pour confirmer les effets biologiques de l'inhibition de B1 et éventuellement pour développer de nouveaux médicaments anti-inflammatoires et analgésiques. (Gougat *et al.*, 2004).

Le puissant antagonisme par SSR240612 des récepteurs B1 a été démontré in vitro pour plusieurs espèces dans différents tests fonctionnels. (**Gougat et al.,2004**).

La présente étude porte sur le SSR240612, antagoniste sélectif non peptidique et très puissant du récepteur B1 des kinines et qui présente une grande affinité pour ce récepteur (RB1) chez plusieurs espèces (rat, souris, lapin, et humain) (**Gougat et al.,2004**). Des études ont démontré l'efficacité de cet antagoniste (SSR240612) par voie orale dans différents modèles (**Gougat et al.,2004**). En effet, le SSR240612 a prévenu le développement d'anomalies sensorielles (allodynie) dans les modèles du diabète du type 2 (**Dias et al.,2007 ;2010**) et du type 1 (**Talbot et al.,2010**).

L'objectif de cette étude est de rechercher et de proposer des candidats médicaments pour une thérapie au cours du diabète et de ses complications grâce aux outils de simulation moléculaire tel le Docking moléculaire. On a principalement évalué l'interaction in silico entre le complexe de la protéine cible 7EIB et l'inhibiteur et des analogues de l'inhibiteur SSR240612 afin de mesurer l'efficacité de ces molécules sur le site de fixation de la protéine cible.



MATÉRIELS ET MÉTHODES



Grâce à notre étude d'amarrage moléculaire, nous avons pu examiner de près les modes de liaison des ligands aux sites actifs de la protéine cible et finalement isoler les candidats les plus forts. Le docking s'est avéré utile pour prédire l'orientation et le comportement de ligands sur la protéine d'intérêt.

Préparation de la protéine :

La structure cristallisée tridimensionnelle de la protéine Récepteur B1 (figure 01) ayant comme ID PDB « 7EIB » a été extraite de la banque de données des protéines **PROTEIN DATA BANK PDB** site : <https://www.rcsb.org/> . La protéine a été obtenue avec une bonne résolution (3 Å°).

Cette structure 3D possède 5 chaînes A, B, C, D, E et doit donc être préparée avant de commencer le processus d'amarrage moléculaire. Cela a été fait en utilisant le programme Chimera UCSF, qui permet la suppression des chaînes B, C, D, E et de garder la chaîne A qui représente le récepteur B1. Cette chaîne étant incomplète, les parties manquantes ont été modélisées par homologie de structure sur le serveur robetta (<https://rosetta.bakerlab.org/>) (**figure04**).

Enfin, la structure 3D modélisée a été préparée et enregistrée au format PDB.

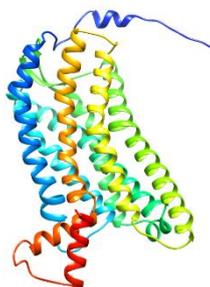


Figure 04 : structure 3D du récepteur B1 (<https://www.rcsb.org/>).

Préparation des ligands :

Les structures des ligands (SSR240612 et ses analogues) ont été téléchargées à partir de la base de données **PubChem** : (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) sous forme bidimensionnelle (2D) et format SDF.

Une recherche par similarité a permis de dégager dans un premier temps 89 molécules. Après élimination des redondances, on a fini par obtenir une sélection de 13 molécules pour nos expériences d'amarrage moléculaire.

Les structures téléchargées sous forme 2D ont été mises sous forme 3D et minimisées à l'aide du logiciel AVOGADRO (**Hanwell et al., 2012**).

L'amarrage moléculaire :

Le Docking a été réalisé en utilisant la structure identifiée de la protéine RB1 (**Pettersen et al., 2004**). Afin de mener des simulations d'amarrage, la structure de la protéine doit être préparée à l'aide de l'outil Dock prep, qui fait partie du programme "ChimeraUCSF". Ensuite, les treize molécules sont introduites pour préparer l'amarrage moléculaire. Ce procédé permet de déterminer les affinités de liaison des différents ligands avec la protéine principale.

Le laboratoire de graphe moléculaire du Scripps Research Institute aux États-Unis propose le logiciel « AutoDockVina » (version 1.1.2) pour analyser les interactions entre la protéine 7EIB et ses inhibiteurs par Docking moléculaire. Le logiciel identifiera l'interaction ligand la plus optimale et représentera les meilleurs conformères avec l'énergie de liaison la plus faible (kcal/mol) directement sur le site actif. (**Trott & Olson, 2009**).

Identification des interactions :

Les 13 ligands avec la protéine sont importés les uns après les autres dans le programme BIOVIA Discovery studio 2017 afin d'étudier la nature des différentes interactions entre eux (**Ung, M. U., 2013**). Les résultats ont été enregistrées sous forme de diagramme 2D, ils révèlent les liaisons formées entre les acides aminés des sites actifs de la cible 7EIB et les ligands.



RÉSULTATS ET DISCUSSION

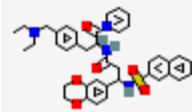
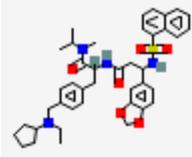
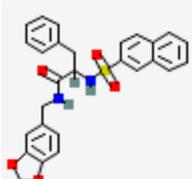
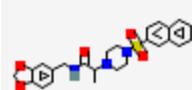


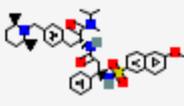
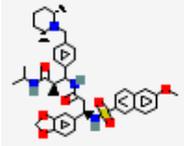
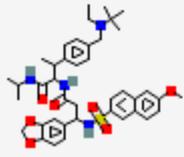
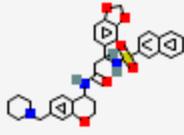
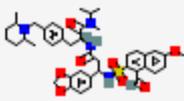
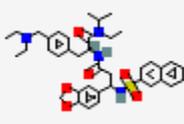
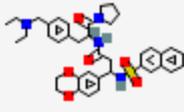
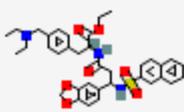
La structure tridimensionnelle cristallisée du récepteur B1 (PDB ID :7EIB) est disponible sur le site « RCSB PDB (Protein Data Bank) » site : <https://www.rcsb.org/>. La molécule SSR240612 et ses analogues ont été téléchargées à partir de site « PubChem » : <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.

Nous avons d'abord examiné l'inhibition de protéine 7EIB par les analogues de SSR240612 à l'aide de Docking moléculaire, l'une des méthodes de modélisation moléculaire les plus largement utilisées, il est réalisé à l'aide de logiciel Chimera. Le site actif de la protéine a été ciblé.

Le **Tableau 01** présente les résultats de Docking moléculaire obtenus pour tous les composés testés et classés selon l'énergie de liaison.

Tableau 01 : coordonnées et énergie de liaison de 13 ligands qui peut inhiber l'action du récepteur B1.

PUBCHEM ID	Masse Moléculaire (g/mol)	Structure	ΔG (Kcal/mol)
142664530	708.9		-12.1
56221387	495.6		-12.0
141605365	726.9		-11.9
17452814	488.6		-11.9
16316973	481.6		-11.8

69333838	712.9		-11.8
67217654	757		-11.8
90979388	744.9		-11.4
44216133	627.8		-11.3
16047261	785		-11.3
21070342	700.9		-11.0
69332757	698.9		-10.5
21070303	659.8		-8.8

Le ΔG est un marqueur de la stabilité de la liaison formée entre le récepteur et le ligand, il indique le degré d'affinité. En outre, plus l'énergie de liaison est réduite, plus l'efficacité de la liaison est élevée, résultant en une inhibition accrue.

Dans la présente étude, nous avons choisi d'évaluer plus en détail les 7 ligands ayant la meilleure affinité vis-à-vis de la protéine cible : 142664530 ; 56221387 ; 141605365 ; 17452814 ; 16316973 ; 69333838 ; 67217654.

Ils ont été soumis au programme BIOVIA Discovery Studio pour l'identification des résidus d'acides aminés impliqués dans les interactions entre la protéine principale et les ligands (médicaments). Généralement, Les interactions hydrophobes et les liaisons hydrogène sont les acteurs clés dans la prédiction et l'évaluation de la force de liaison entre les protéines et les ligands (Chen et al., 2016). À mesure que le nombre de liaisons hydrogène formées avec des résidus d'acides aminés augmente, l'énergie des liaisons augmente également, ce qui se traduit par un score énergétique plus faible et une liaison plus stable. (Misra. A, 2010).

Le **Tableau 02** présente les interactions de ces 7 ligands avec le site actif de protéine.

Tableau 02 : Interactions des 7 ligands les mieux ancrés contre le site actif de la protéine RB1.

Meilleurs composés amarrés	Les acides aminés de RB1 qui interviennent dans les interactions du composé	Types d'interaction	ΔG kcal/mol
142664530	LEU90	Van der Waals	-12.1
	ILE113	Van der Waals	
	TRP103	Van der Waals	
	ASN114	Van der Waals	
	ASN96	Van der Waals	
	PHE302	Van der Waals	
	TYR266	Van der Waals	
	ASN298	Van der Waals	
	LEU206	Van der Waals	
	ALA270	Van der Waals	
	GLU273	Van der Waals	
	LEU184	Van der Waals	
	ILE186	Van der Waals	
	PHE276	Van der Waals	
	ALA24	Van der Waals	
	PHE18	Van der Waals	
	THR23	Van der Waals	
	ASN21	Van der Waals	
	ILE190	Van der Waals	
	ILE117	Pi-Alkyl	
	LEU294	Pi-Alkyl	
PHE101	Alkyl		
VAL181	Alkyl		
ALA188	Alkyl		

	TRP93	Pi-Pi Stacked	
	GLN295	Conventional Hydrogen Bond	
	ASP291	Conventional Hydrogen Bond	
	ALA22	Carbon Hydrogen Bond	
	GLU287	Pi-Anion	
	ARG176	Pi-Cation	
	CYS189	Unfavorable Donor-Donor	
	GLN277	Unfavorable Acceptor-Acceptor	
	GLN277	Unfavorable Donor-Donor	
56221387	PHE276	Van der Waals	-12.0
	ILE290	Van der Waals	
	LEU294	Van der Waals	
	ASP291	Van der Waals	
	THR23	Van der Waals	
	ASN21	Van der Waals	
	ALA188	Van der Waals	
	PHE101	Van der Waals	
	TRP103	Van der Waals	
	ILE113	Van der Waals	
	PHE302	Van der Waals	
	ARG176	Van der Waals	
	ASN298	Van der Waals	
	ILE190	Carbon Hydrogen Bond	
	CYS189	Carbon Hydrogen Bond	
	GLU273	Pi-Anion Atractive Charge	
	GLU287	Pi-Anion Atractive Charge	
	GLN277	Conventional Hydrogen Bond	
	LEU191	Conventional Hydrogen Bond	
	ASN96	2 Conventional Hydrogen Bond	
	GLN295	Conventional Hydrogen Bond	
	TRP93	2 Pi-Pi Stacked	
	ILE117	Pi-Alkyl	
141605365	CYS189	Carbon Hydrogen Bond Pi-Sulfur	-11.9
	ALA 22	Carbon Hydrogen Bond	
	PHE302	Van der Waals	
	ILE113	Van der Waals	
	TRP103	Van der Waals	
	ASN114	Van der Waals	
	TYR266	Van der Waals	
	LEU206	Van der Waals	

	ALA270	Van der Waals	
	GLU273	Van der Waals	
	THR23	Van der Waals	
	ASN21	Van der Waals	
	LEU191	Van der Waals	
	ASN96	Van der Waals	
	ASN298	Conventional Hydrogen Bond Pi-Donor Hydrogen Bond	
	TRP93	Conventional Hydrogen Bond 2 Pi-Pi Stacked	
	GLN295	3 Conventional Hydrogen Bond	
	ASP291	Salt bridge	
	ARG176	Pi-Cation	
	GLU287	Salt bridge Pi-Anion	
	LEU294	Pi-Alkyl	
	ILE117	Pi-Alkyl	
	ALA24	Alkyl	
	PHE18	Alkyl	
	PHE276	Alkyl	
	ILE190	Alkyl	
	GLN277	Unfavorable Donor-Donor	
17452814	PHE302	Van der Waals	-11.9
	ILE113	Van der Waals	
	TRP103	Van der Waals	
	ASN114	Van der Waals	
	ILE190	Van der Waals	
	ASP291	Van der Waals	
	LEU184	Van der Waals	
	THR23	Van der Waals	
	ILE186	Van der Waals	
	VAL181	Van der Waals	
	CYS189	Van der Waals	
	ASN96	2 Conventional Hydrogen Bond	
	GLN295	Conventional Hydrogen Bond	
	TYR266	Conventional Hydrogen Bond	
	ARG176	Conventional Hydrogen Bond	
	ASN298	Pi-Donor Hydrogen Bond	
	TRP93	2 Pi-Pi Stacked	
	PHE101	Pi-Pi Stacked	
	ILE117	Pi-Alkyl	
	LEU294	Pi-Alkyl	
	ALA188	Pi-Alkyl	
16316973	PHE276	Van der Waals	-11.8
	ILE290	Van der Waals	

	LEU294	Van der Waals	
	ASN298	Van der Waals	
	VAL181	Van der Waals	
	PHE302	Van der Waals	
	LEU90	Van der Waals	
	ILE113	Van der Waals	
	TRP103	Van der Waals	
	ASN114	Van der Waals	
	ARG176	Van der Waals	
	ALA188	Van der Waals	
	ILE190	Van der Waals	
	THR23	Van der Waals	
	LEU184	Van der Waals	
	ASP291	Carbon Hydrogen Bond	
	CYS189	Carbon Hydrogen Bond	
	GLU273	Pi-Anion	
	GLU287	Pi-Anion	
	PHE101	Pi-Sigma	
	TRP93	2 Pi-Pi Stacked	
	ILE117	Pi-Alkyl	
	GLN277	Conventional Hydrogen Bond	
	GLN295	Conventional Hydrogen Bond	
	ASN96	Conventional Hydrogen Bond	
69333838	ARG282	Van der Waals	-11.8
	LEU17	Van der Waals	
	GLN16	Van der Waals	
	PHE276	Van der Waals	
	ILE190	Van der Waals	
	LEU294	Van der Waals	
	VAL181	Van der Waals	
	LEU184	Van der Waals	
	ILE186	Van der Waals	
	ASN96	Van der Waals	
	ASN114	Van der Waals	
	TRP103	Van der Waals	
	PHE302	Van der Waals	
	ASN298	Van der Waals	
	THR23	Van der Waals	
	ASN21	Van der Waals	
	ALA22	Van der Waals	
	ALA24	Van der Waals	
	GLN279	Van der Waals	
	ASN13	Carbon Hydrogen Bond	
	ASP291	Carbon Hydrogen Bond	
	GLN277	Pi-Donor Hydrogen Bond	
	GLU287	Pi-Anion	
	GLU273	Pi-Anion	

	ARG176	Pi-Cation	
	TRP93	Pi-Cation Alkyl	
	ILE290	Pi-Alkyl	
	ALA188	Alkyl	
	ILE113	Alkyl	
	ILE117	Alkyl	
	CYS189	Conventional Hydrogen Bond	
	GLN295	Conventional Hydrogen Bond	
	PHE18	Pi-Sigma	
	PHE101	Pi-Sigma Alkyl	
67217654	LEU190	Van der Waals	-11.8
	ASN21	Van der Waals	
	LEU192	Van der Waals	
	ILE190	Van der Waals	
	VAL181	Van der Waals	
	LEU184	Van der Waals	
	ALA188	Van der Waals	
	ILE186	Van der Waals	
	GLN295	Van der Waals	
	LEU294	Van der Waals	
	TYR266	Van der Waals	
	ASN298	Van der Waals	
	PHE302	Van der Waals	
	LEU90	Van der Waals	
	TRP93	Van der Waals	
	ILE113	Van der Waals	
	ASN114	Van der Waals	
	TRP103	Van der Waals	
	GLN277	Carbon Hydrogen Bond	
	GLY89	Carbon Hydrogen Bond	
	ASN96	Conventional Hydrogen Bond	
	ASP291	Conventional Hydrogen Bond	
	THR23	Conventional Hydrogen Bond	
	ARG176	Conventional Hydrogen Bond	
	HIS199	Alkyl	
	LEU193	Alkyl	
	CYS189	Pi-Alkyl	
	ILE117	Pi-Alkyl	
	GLU273	Pi-Anion	
	PHE101	Pi-Sigma	

En analysant ces résultats, ils apparaissent que le composé **142664530** a présenté le meilleur score de liaison **-12.1kcal/mol** mais les autres composés présentent des ΔG proches. La molécule a formé deux liaisons hydrogènes conventionnelles, deux liaison Pi-Alkyl, trois liaisons Alkyl, deux liaisons charges attractives (Pi-Anion, et Pi-Cation), une liaison hydrogène-carbone, et une liaison Pi-Pi Stacked, respectivement avec les acides aminés GLN295, ASP291, ILE117, LEU294, PHE101, VAL181, ALA188, GLU287, ARG176, ALA22, TRP93. Il y avait également dix-neuf liaisons de type Van der Waals et trois liaisons défavorable (Donneur-Donneur, Accepteur-Accepteur) avec les résidus ARG176, CYS189, GLN277, La formation de ces liaisons affecte la stabilité des ligands qui seront utilisés comme candidats médicaments, car ce type de liaison déstabilise d'autres types de liaisons indiquant des forces répulsives entre elles. (Dhorajiwala et al., 2019). (Figure05 et Tableau 02).

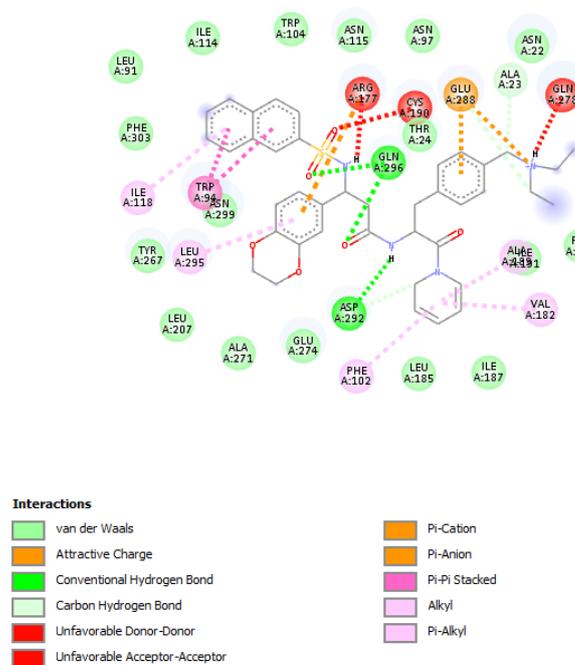


Figure 05 : Interaction 2D du composé 142664530 avec la protéine 7E1B.

Le composé **56221387** se lie à la protéine avec une affinité de **-12.0 Kcal/mol**, ce complexe ligand-protéine est stabilisé par des liaisons hydrogènes conventionnels avec les résidus : GLN277, LEU191, ASN96, GLN295. De plus, ce composé forme une liaison Pi-Alkyl avec ILE117, deux liaisons Pi-Pi Stacked avec TRP93, deux liaisons Pi-Anion avec GLU273 et GLU287, deux liaisons Carbones hydrogènes avec ILE190 et CYS189, ainsi qu'avec 13 liaisons Van Der Waals entourées de site actif. (Figure06 et Tableau 02).

La molécule **17452814** a présenté un score de liaison de **-11.9 Kcal/mol** elle constitue des liaisons hydrogènes conventionnelles, deux avec ASN96 et trois avec GLN295, TYR266, ARG176, une liaison Pi-Hydrogène Donneur avec ASN298, trois liaisons Pi-Alkyl avec ILE117, LEU294, ALA188, et des liaisons Pi-Pi Stacked, deux avec TRP93 et une avec PHE101 aussi avec onze liaisons Van Der Waals. (**Figure08 et Tableau 02**).

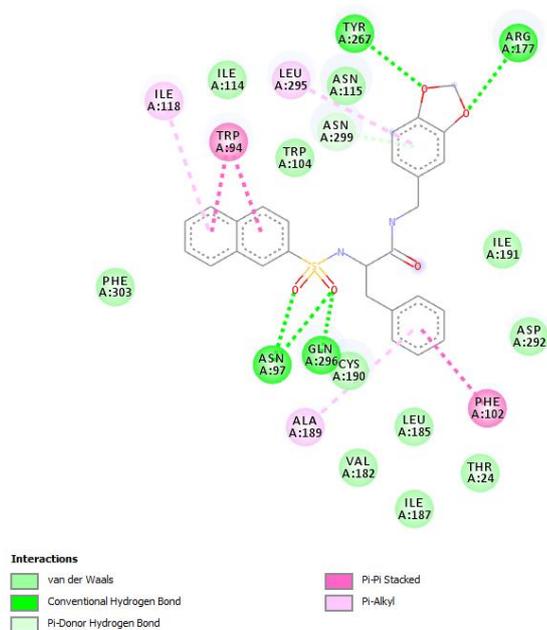


Figure 08 : Interaction 2D du composé 17452814 avec la protéine 7EIB.

La molécule **16316973** a un score de liaison de **-11.8kcal/mol**, elle forme deux liaisons carbone hydrogène avec les résidus ASP291, CYS189, deux liaisons Pi-Anion avec GLU273, GLU287, trois liaisons Hydrogènes conventionnelles avec GLN277, GLN295, ASN96, deux liaisons Pi-Pi Stacked avec TRP93, une liaison Pi-Alkyle avec ILE117, une liaison Pi-Sigma avec PHE101, sans oublier les quinze liaisons de Van Der Waals. (**Figure 09 et Tableau 02**).

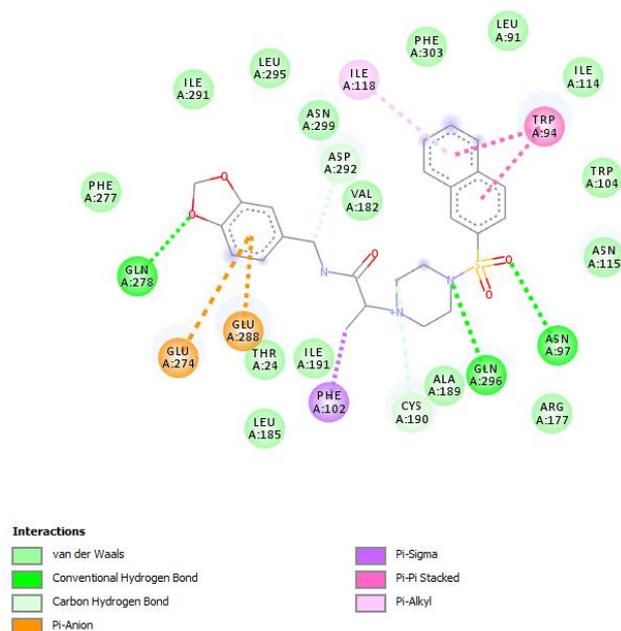


Figure 09 : Interaction 2D du composé 16316973 avec la protéine 7EIB.

Le composé **69333838** a un score de liaison avec la protéine 7EIB égale à **-11.8 kcal/mol**, il constitue 19 liaisons Van der Waals, deux liaisons Carbones Hydrogènes avec les résidus ASN13, ASP291, une liaison Pi-Hydrogène Donneur avec GLN277, cinq liaisons Alkyl et une Pi-Alkyle avec les résidus PHE101, TRP93, ALA188, ILE113, ILE117, ILE290 ; deux liaisons hydrogène conventionnelle avec CYS189 et GLN295, deux liaisons Pi-Sigma avec PHE18 et PHE101, et quatre liaisons attractive charge, deux Pi-cation et deux Pi-anion avec ARG176, TRP93, GLU287, GLU273. (**Figure 10 et Tableau 02**).

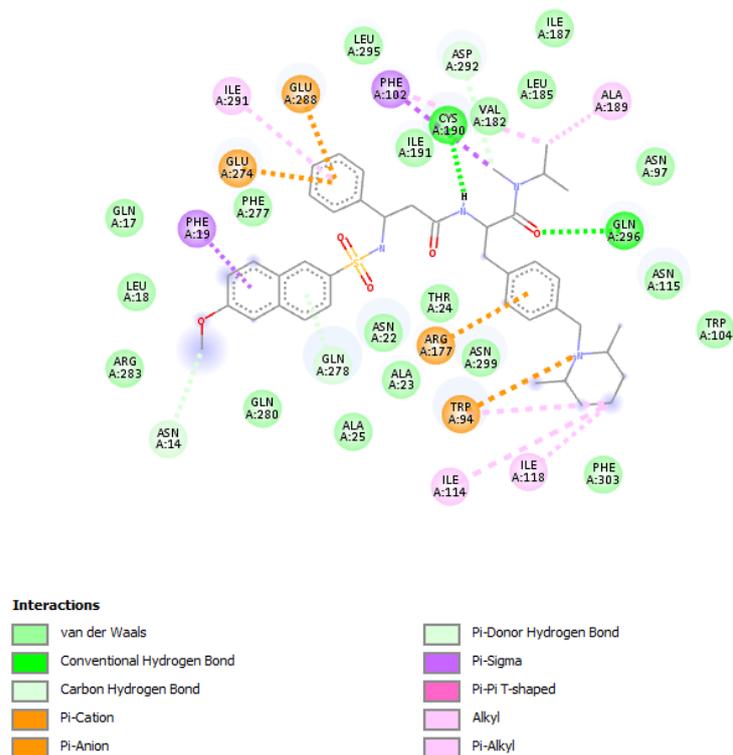


Figure 10 : Interaction 2D du composé 69333838 avec la protéine 7EIB.

La molécule **67217654** a présenté un score de liaison **-11.8 kcal/mol** avec la protéine, elle constitue deux liaisons Pi-alkyl avec CYS189 et ILE117, deux liaisons alkyle avec HIS199 et LEU193, quatre liaisons Hydrogène Conventionnelle avec ASN96, ASP291, THR23, ARG176, deux liaisons Carbone Hydrogène avec GLN277 et GLY89, une liaison Pi-Anion GLU273, et une liaison Pi-Sigma avec PHE101, aussi avec dix-huit liaisons de Van Der Waals. (Figure 11 et Tableau 02).

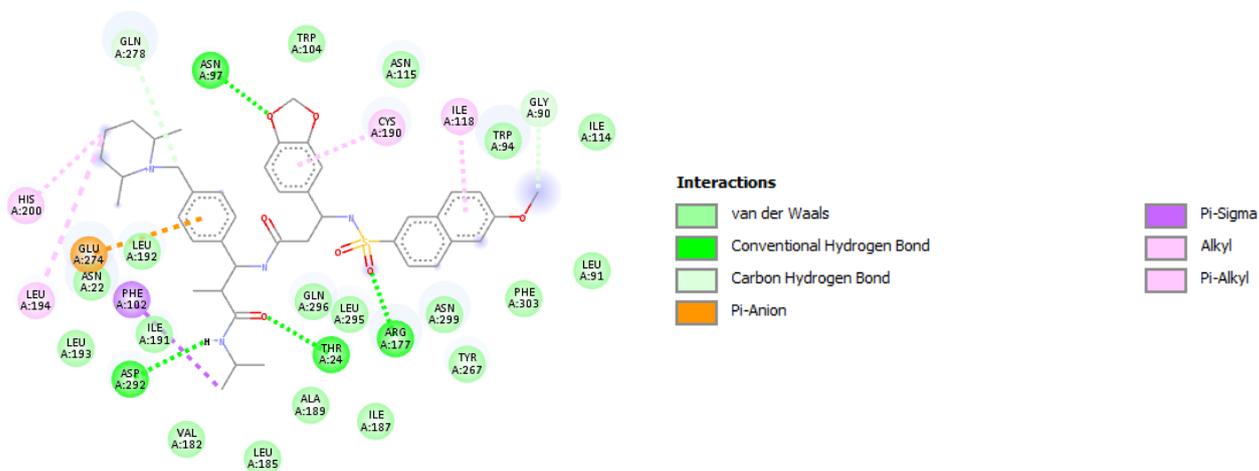


Figure 11 : Interaction 2D du composé 67217654 avec la protéine 7EIB.

Il existe de nombreux acides aminés répétés dans toutes les interactions entre la protéine RB1 et ses constituants, comme ARG176, ILE117, CYS189, THR23, GLN277, GLU273, ASP291, ASN114, GLN295, TRP93...etc ; Ces résidus peuvent être considérés comme des sites d'interaction importants de la structure protéique car les ligands interagissaient et formaient des liaisons uniquement avec ces résidus spécifiques.

Lupala et al (2016), dans une précédente étude sur les exigences stéréochimiques de la liaison des antagonistes des récepteurs de la bradykinine B1, ont fait une mutation dans le site actif sur les résidus Ile-97, Trp-981, Asn114, Gln-295, Asp-291 et Glu-273. Cess études de mutagenèse montrent qu'il y a un effet sur l'affinité de liaison à divers degrés (**Ha et al., 2005**), et ça soutient l'importance de ces acides aminés dans l'affinité du composé. (**Ha et al., 2005**). Trois de ces résidus sont semblables aux résidus que nous avons trouvés dans notre résultats Docking et qui sont Asp-291, Asn-114, Gln-295.

D'un autre côté et parmi leur expériences ils ont étudié les liaisons entre SSR240612 et RB1 dans le site actif ciblé (Lupala et al., 2016), La conformation liée proposée de SSR240612 au récepteur BK B1 est illustrée à la **Figure 12**. Les résultats ont montré plus de dix résidus en commun avec les résultats de recherche que nous avons obtenus, dont les plus important entre eux sont ASP-191, GLN-295, LEU-191, LEU-193 TRP-93 PHE-101 ASN-96 TYR-266 ASN-298 ARG-176.

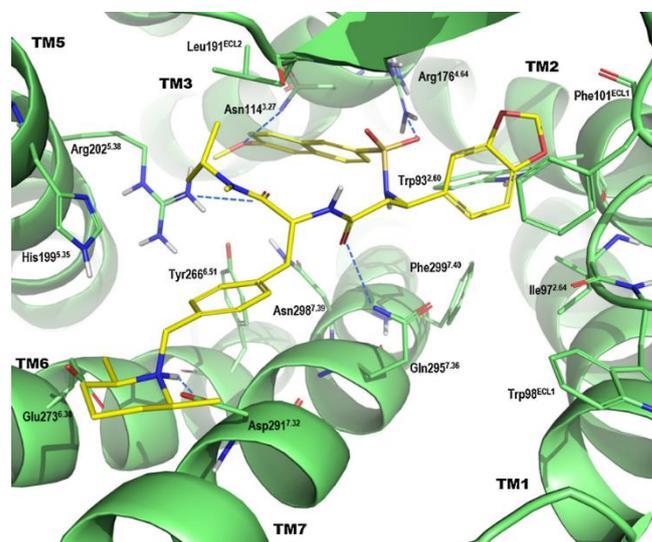


Figure 12 : Vue illustrée du mode de liaison proposé de SSR240612 lié au récepteur BK B1. (Lupala et al., 2016)

L'analyse visuelle 2D des résultats de Docking des composés précédents et les recherches faites par des scientifiques montre que nos ligands sont placés correctement dans la cavité catalytique de récepteur et qu'ils ont la capacité de former des liaisons hydrogènes et des interactions hydrophobes qui ont une grande importance dans la stabilité du complexe protéine-ligand avec une bonne affinité (Maurya et al.,2020).

En examinant les positions des acides aminés à la surface de la protéine, il devient évident qu'ils forment une cavité, confirmant qu'il s'agit d'un site actif (**Figure 13**).

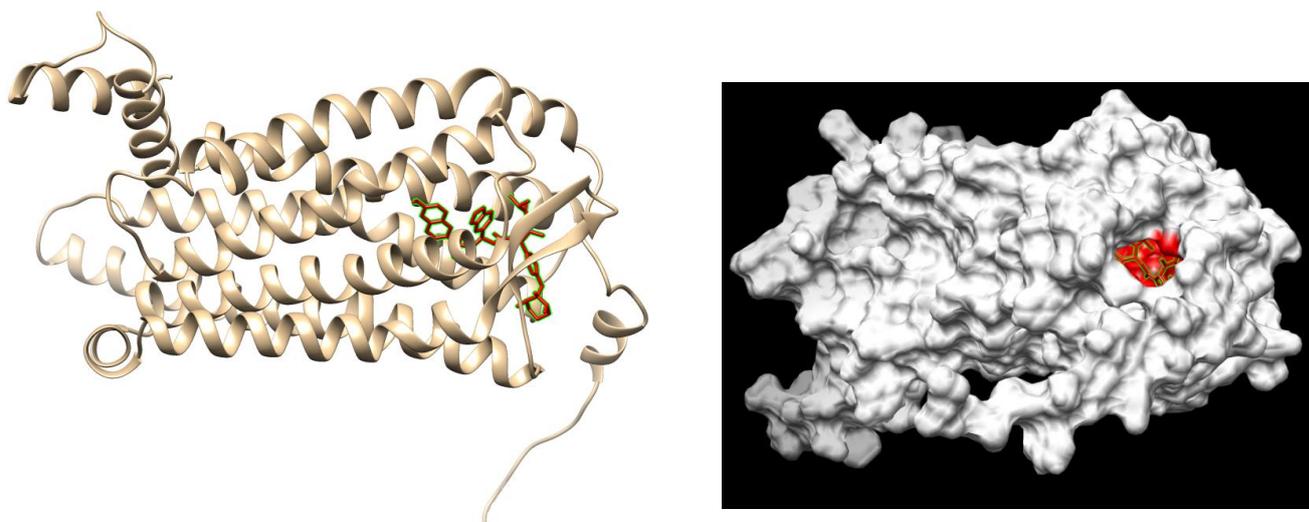


Figure 13 : Ligand ancré sur la protéine RB1 au niveau de site actif ciblé. (UCSF Chimera).



CONCLUSION



Notre recherche avait pour objectif de découvrir de molécules inhibitrices du récepteur B1 des kinines, visant à traiter le diabète et ces complications. Le criblage virtuel de 13 ligands a identifié des composants qui pourraient avoir un effet inhibiteur du RB1.

SSR240612 étant un antagoniste non peptidique des récepteurs B1, l'étude de Docking moléculaire des 13 analogues de cet antagoniste a montré une bonne affinité avec le récepteur B1 avec des fortes liaisons, sept composés ont présenté des capacités de liaison notables avec un ΔG allant de -12.1 à -11.8 Kcal/mol. On a constaté que les acides aminés concernés par les liaisons sont **ASP191, GLN295, LEU191, LEU193 TRP93, PHE101, ASN96, TYR266, ASN298, ARG176**. Ces résultats suggèrent que ce produit chimique pourrait avoir un potentiel pour le traitement du diabète. Une étude expérimentale complémentaire in vitro et / ou in vivo devra permettre de vérifier ces résultats théoriques obtenus in silico.



RÉFÉRENCES



- Bhoola, K. D., Figueroa, C. D., & Worthy, K. (1992). Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens, and kininases. *Pharmacological reviews*, 44(1), 1–80.
- Brazionis, L., Rowley, K., Itsiopoulos, C., Harper, C. A., & O’Dea, K. (2008). Homocysteine and Diabetic Retinopathy. *Diabetes Care*, 31(1), 50–56. <https://doi.org/10.2337/dc07-0632>
- Chen, D., Oezguen, N., Urvil, P., Ferguson, C., Dann, S. M., & Savidge, T. C. (2016). Regulation of protein-ligand binding affinity by hydrogen bond pairing. *Science Advances*, 2(3), e1501240. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501240>
- Dhorajiwala, T., Halder, S., & Samant, L. (2019). Comparative In Silico Molecular Docking Analysis of L-Threonine-3-Dehydrogenase, a Protein Target Against African Trypanosomiasis Using Selected Phytochemicals. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 6(3), 101–108. <https://doi.org/10.29252/JABR.06.03.04>
- Dias, J. P., Ismael, M. A., Pilon, M., de Champlain, J., Ferrari, B., Carayon, P., & Couture, R. (2007). The kinin B1 receptor antagonist SSR240612 reverses tactile and cold allodynia in an experimental rat model of insulin resistance. *British journal of pharmacology*, 152(2), 280–287. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707388>
- Dias, J. P., Talbot, S., Sénécal, J., Carayon, P., & Couture, R. (2010). Kinin B1 receptor enhances the oxidative stress in a rat model of insulin resistance: outcome in hypertension, allodynia and metabolic complications. *PloS one*, 5(9), e12622. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012622>
- Feldman E. L. (2003). Oxidative stress and diabetic neuropathy: a new understanding of an old problem. *The Journal of clinical investigation*, 111(4), 431–433. <https://doi.org/10.1172/JCI17862>
- Gabra, B. H., Couture, R., & Sirois, P. (2003). Dualité fonctionnelle des récepteurs des kinines en physiopathologie [Functional duality of kinin receptors in pathophysiology]. *Medecine sciences : M/S*, 19(11), 1101–1110. <https://doi.org/10.1051/medsci/200319111101>
- Gougat, J., Ferrari, B., Sarran, L., Planchenault, C., Poncelet, M., Maruani, J., Alonso, R., Cudennec, A., Croci, T., Guagnini, F., Urban-Szabo, K., Martinolle, J.-P., Soubrié, P., Finance, O., & Le Fur, G. (2004). SSR240612 [(2 R)-2-(((3 R)-3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-3-[[[(6-methoxy-2-naphthyl)sulfonyl]amino}propanoyl]amino]-3-(4-{[2 R ,6 S]-2,6-dimethylpiperidinyl)methyl}phenyl)- N -isopropyl- N -methylpropanamide Hydrochloride], a New Nonpeptide Antagonist of the Bradykinin B 1 Receptor :

- Biochemical and Pharmacological Characterization. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 309(2), 661 - 669. <https://doi.org/10.1124/jpet.103.059527>
- Ha, S. N., Hey, P. J., Ransom, R. W., Harrell, C. M., Murphy, K. L., Chang, R., Chen, T.-B., Su, D.-S., Markowitz, M. K., Bock, M. G., Freidinger, R. M., & Hess, F. J. (2005). Binding modes of dihydroquinoxalinones in a homology model of bradykinin receptor 1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 331(1), 159- 166. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.03.142>
- Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. (2012). Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, 4(1), 17. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>
- Kuzuya T, Nakagawa S, Satoh J, Kanazawa Y, Iwamoto Y, Kobayashi M, Nanjo K, Sasaki A, Seino Y, Ito C, Shima K, Nonaka K, Kadowaki T and m. Committee of the Japan Diabetes Society on the diagnostic criteria of diabetes. (2002). Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 55(1), 65-85.
- Leahy, J. L. (2005). Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *Archives of Medical Research*, 36(3), 197- 209. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.01.003>
- Leeb-Lundberg, L. M. F., Marceau, F., Müller-Esterl, W., Pettibone, D. J., & Zuraw, B. L. (2005). International Union of Pharmacology. XLV. Classification of the Kinin Receptor Family: From Molecular Mechanisms to Pathophysiological Consequences. *Pharmacological Reviews*, 57(1), 27- 77. <https://doi.org/10.1124/pr.57.1.2>
- Lupala, C. S., Gomez-Gutierrez, P., & Perez, J. J. (2016). New insights into the stereochemical requirements of the bradykinin B1 receptor antagonists binding. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 68, 184- 196. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2016.06.010>
- Marceau F. (1995). Kinin B1 receptors: a review. *Immunopharmacology*, 30(1), 1–26. [https://doi.org/10.1016/0162-3109\(95\)00011-h](https://doi.org/10.1016/0162-3109(95)00011-h)
- Marceau, F., & Bachvarov, D. R. (1998). Kinin receptors. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 16(4), 385–401. <https://doi.org/10.1007/BF02737658>
- Marceau, F., Hess, J. F., & Bachvarov, D. R. (1998). The B1 receptors for kinins. *Pharmacological reviews*, 50(3), 357–386.

- Maurya, S. K., Maurya, A. K., Mishra, N., & Siddique, H. R. (2020). Virtual screening, ADME/T, and binding free energy analysis of anti-viral, anti-protease, and anti-infectious compounds against NSP10/NSP16 methyltransferase and main protease of SARS CoV-2. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 40(6), 605-612. <https://doi.org/10.1080/10799893.2020.1772298>
- Misra, A. (Ed.). (2010). *Challenges in delivery of therapeutic genomics and proteomics*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2010-0-65663-X>
- Moreau, M. E., Garbacki, N., Molinaro, G., Brown, N. J., Marceau, F., & Adam, A. (2005). The Kallikrein-Kinin System : Current and Future Pharmacological Targets. *Journal of Pharmacological Sciences*, 99(1), 6- 38. <https://doi.org/10.1254/jphs.SRJ05001X>
- Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera?A visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605-1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
- Talbot, S., Chahmi, E., Dias, J. P., & Couture, R. (2010). Key role for spinal dorsal horn microglial kinin B1 receptor in early diabetic pain neuropathy. *Journal of neuroinflammation*, 7(1), 36. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-7-36>
- Trief P. M. (2005). Diabetes and your marriage. Making things work. *Diabetes self management*, 22(5), 52–56.
- Trott, O., & Olson, A. J. (2009). AutoDock Vina : Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, NA-NA. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Ung, M. U. (2013). Incorporation of Protein Flexibility in Structure-Based Drug Discovery of HIV-1 Protease and Bacterial Hsp70 Chaperone (Doctoral dissertation).